

doi:10.3969/j.issn.1005-3697.2021.09.030

◆ 校庆约稿 ◆



青玉凤

专家简介

青玉凤(1979 -),女,博士,教授,博士研究生导师,川北医学院附属医院风湿免疫科主任。2003年毕业于川北医学院,2013年毕业于成都中医药大学获博士学位。四川省卫健委第十四批学术技术带头人,曾获得东亚风湿病青年研究者奖、四川省医学科技奖二等奖及南充市政府科技进步一等奖等。主要研究方向为非编码 RNA 对痛风的免疫调节机制研究。以项目负责人获得国家科技部重点专项、国家自然科学基金等科研项目 10 余项,发表学术论文 100 余篇,其中 SCI 收录 30 篇,申报国家发明专利 4 项。

hsa_circRNA_104633 和 hsa_circRNA_406281 在原发性痛风中的变化及临床意义

戴菲^{1,2},何怡曦^{1,2},唐乙萍^{1,2},董曾荣^{1,2},周闻君^{1,2},张全波^{1,3},青玉凤^{1,2}

(川北医学院附属医院,1. 高尿酸血症与痛风研究中心;2. 风湿免疫科;3. 老年科,四川 南充 637000)

【摘要】目的:探讨 hsa_circRNA_104633 和 hsa_circRNA_406281 在原发性痛风患者外周血单个核细胞(PBMCs)中的变化及临床意义。**方法:**收集 45 例急性期痛风患者(AG 组)、45 例间歇期痛风患者(IG 组)及 60 例健康体检者(HC 组)的外周静脉血标本及临床资料。采用实时荧光定量多聚合酶链反应检测 hsa_circRNA_104633 和 hsa_circRNA_406281 在所有研究对象 PBMCs 中的相对表达量,分析其与痛风患者的临床指标的相关性,并构建受试者工作特征曲线(ROC)评估两个 circRNA 在痛风中的诊断价值。**结果:**hsa_circRNA_104633 在 AG 组及 IG 组的表达均高于 HC 组($P < 0.05$),而 AG 组与 IG 组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);hsa_circRNA_406281 在 AG 组的表达高于 IG 组及 HC 组($P < 0.05$),但 IG 与 HC 组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。相关性分析显示,hsa_circRNA_104633 与尿酸(sUA)水平成正相关($r = 0.305, P = 0.003$),hsa_circRNA_406281 与 C 反应蛋白(CRP)、sUA 水平呈负相关(CRP: $r = -0.513, P < 0.001$;sUA: $r = -0.213, P = 0.043$);ROC 曲线分析显示,hsa_circRNA_104633 用于诊断痛风的曲线下面积为 0.822。**结论:**hsa_circRNA_104633 和 hsa_circRNA_406281 可能参与了痛风患者尿酸代谢调节,hsa_circRNA_104633 有望成为痛风诊疗的生物标志物。

【关键词】原发性痛风;hsa_circRNA_104633;hsa_circRNA_406281;生物标志物

【中图分类号】R575.2 **【文献标志码】**A

Changes and clinical significance of hsa_circRNA_104633 and hsa_circRNA_406281 in primary gout

DAI Fei^{1,2}, HE Yi-xi^{1,2}, TANG Yi-ping^{1,2}, DONG Zeng-rong^{1,2}, ZHOU Wen-jun^{1,2}, ZHANG Quan-bo^{1,3}, QING Yufeng^{1,2}

(1. Research Center of Hyperuricemia and Gout; 2. Department of Rheumatology and Immunology; 3. Department of Geriatrics, Affiliated Hospital of North Sichuan Medical College, Nanchong 637000, Sichuan, China)

【Abstract】 Objective: To explore the changes and clinical significance of hsa_circRNA_104633 and hsa_circRNA_406281 in peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) of patients with primary gout. **Methods:** Peripheral venous blood samples and clinical data of 45 patients with acute gout (AG group), 45 patients with intercriticalgout (IG group) and 60 healthy subjects (HC group) were collected. Real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction was used to detect the relative expression levels of hsa_circRNA_104633 and hsa_circRNA_406281 in PBMCs. **Results:** The expression of hsa_circRNA_104633 in AG and IG groups was significantly higher than that in HC group ($P < 0.05$), but there was no significant difference between AG and IG groups ($P > 0.05$). The expression of hsa_circRNA_406281 in AG group was significantly higher than that in IG and HC groups ($P < 0.05$), but there was no significant difference between IG and HC groups ($P > 0.05$). Correlation analysis showed that hsa_circRNA_104633 was positively correlated with serum uric acid (sUA) level ($r = 0.305, P = 0.003$), and hsa_circRNA_406281 was negatively correlated with CRP and sUA level (CRP: $r = -0.513, P < 0.001$; sUA: $r = -0.213, P = 0.043$). ROC curve analysis showed that the area under the curve of hsa_circRNA_104633 for diagnosing gout was 0.822. **Conclusion:** hsa_circRNA_104633 and hsa_circRNA_406281 may be involved in the regulation of uric acid metabolism in gout patients, and hsa_circRNA_104633 may be a potential biomarker for gout diagnosis and treatment.

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(81974250);南充市科技项目(20SXCTD0002)

作者简介: 戴菲(1990 -),女,硕士研究生。E-mail:1592443380@qq.com

通讯作者: 青玉凤。E-mail:qingyufengqq@163.com

104633 and hsa_circRNA_406281 in PBMCs of all subjects, and the correlation between them and the clinical indicators of gout patients were analyzed. Receiver operating characteristic curve (ROC) was constructed to evaluate the diagnostic value of two circRNAs in gout. **Results:** The expression of hsa_circRNA_104633 in the AG and IG groups was significantly higher than that in the HC group ($P < 0.05$), and there was no statistically significant difference between the AG and IG group ($P > 0.05$). The expression of hsa_circRNA_406281 in the AG group was significantly higher than that of IG and HC group ($P < 0.05$), there was no significant difference between IG and HC group ($P > 0.05$). hsa_circRNA_104633 was positively correlated with serum uric acid uSA level ($r = 0.305, P = 0.003$). hsa_circRNA_406281 was negatively correlated with C-reactive protein (CRP) and uSA levels ($r = -0.513, P < 0.001, r = -0.213, P = 0.043$). ROC curve analysis showed that the area under the curve of hsa_circRNA_104633 for diagnosing gout was 0.822. **Conclusion:** hsa_circRNA_104633 and hsa_circRNA_406281 may be involved in the regulation of gout uric acid metabolism, and hsa_circRNA_104633 is expected to become a biomarker for the diagnosis and treatment of gout.

【Key words】 Primary gout; hsa_circRNA_104633; hsa_circRNA_406281; Biomarker

痛风是机体嘌呤代谢障碍引起组织损伤的一组临床综合征, 主要表现为高尿酸血症、关节炎、痛风石、关节畸形、泌尿系结石及肾脏实质性病变等^[1]。流行病学研究^[2]显示, 痛风患病率逐年上升, 因评估方法不同, 全球各地患病率 1% ~ 6.8%。目前痛风的具体发病机制尚不清楚。研究^[1-4]发现, 遗传、免疫、环境因素以及饮食习惯等不同程度参与了痛风的发生发展。血清尿酸 (serum uric acid, sUA) 水平升高被认为是痛风发生的重要危险因素, 研究^[5]提示只有约 10% 的高尿酸血症患者最终发展为痛风。同时, 痛风患者容易并发糖尿病、高血压、高血脂、心脑血管等疾病, 对人体健康造成严重威胁。因此, 阐明痛风的确切发病机理及找寻原发性痛风的早期诊断生物标记物, 为早期诊断及治疗痛风提供有力的证据尤为重要。

环状 RNA (circular RNA, circRNA) 是区别于传统线性 RNA 的一类新型非编码 RNA, 具有闭合环状结构, 广泛且多样地存在于真核细胞中^[6]。在肿瘤、心血管疾病、自身免疫性疾病等发生发展中起着重要作用^[7-9], 但在痛风中鲜有相关报道。为此, 我们前期收集痛风患者及健康对照者的外周血单个核细胞 (peripheral blood mononuclear cells, PBMCs) 行 circRNA 微阵列表达谱检测, 发现痛风中有多个异常表达的 circRNA^[10]。本研究选取其中在急性痛风患者中显著高表达的 hsa_circRNA_104633 和显著低表达的 hsa_circRNA_406281 两个基因, 扩大样本量进行实时荧光定量多聚合酶链反应 (quantitative real-time reverse-transcription polymerase chain reaction, RT-qPCR) 实验, 检测其在大样本不同分期痛风患者中的表达情况, 初步探讨 hsa_circRNA_104633 和 hsa_circRNA_406281 在原发性痛风中的差异表达及临床意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选择 2018 年 4 月至 2021 年 3 月川北医学院附

属医院风湿免疫科就诊的 90 例男性痛风患者作为研究对象, 其中急性期痛风 (active gout, AG) 和间歇期痛风 (inactive gout, IG) 患者各 45 例, 平均年龄分别为 (42.00 ± 13.50) 岁和 (43.00 ± 20.00) 岁, 所有痛风患者均符合 2015 年 ACR/EULAR 制定的痛风诊断标准^[11], 且排除肾脏原发疾病、肿瘤、药物等所致继发性痛风者。此外, AG 患者出现关节肿胀、发热、疼痛等症状不超过 1 周; IG 患者至少有两周没有关节症状, 并且炎症指标, 如红细胞沉降率 (erythrocyte sedimentation rate, ESR)、C 反应蛋白 (C-reactive protein, CRP)、白细胞计数 (white blood cell count, WBC) 等在正常范围内。另选择同期到川北医学院附属医院体检中心进行体检的健康男性 60 例作为对照组 (healthy controls, HC), 平均年龄为 (43.50 ± 17.75) 岁, 其实验室指标均在正常范围, 且无痛风病史及其他自身免疫性疾病、代谢性疾病等病史。三组研究对象年龄差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。该研究获得了川北医学院附属医院伦理委员会批准, 且所有参与者均知情同意。

1.2 方法

1.2.1 实验室常规指标的收集 采集所有研究对象清晨空腹外周静脉血 4 mL, 于 LH750 血细胞分析仪及 Dx C800 全自动生化仪 (美国 Beckman 公司) 检测 sUA、空腹血糖 (fasting blood glucose, GLU)、炎症及脂质代谢指标水平。其中炎症指标包括 ESR, CRP, WBC, 中性粒细胞粒计数 (neutrophil granule count, GR), 淋巴细胞计数 (lymphocyte count, LY), 单核细胞计数 (monocyte count, Mo); 脂质代谢指标包括血浆总胆固醇 (plasma total cholesterol, TC), 甘油三酯 (triglycerides, TG), 高密度脂蛋白 (high-density lipoprotein, HDL), 低密度脂蛋白 (low-density lipoprotein, LDL), 极低密度脂蛋白 (very low-density lipoprotein, VLDL)。上述所有指标为受试者就诊时的常规检查, 且均在川北医学院附属医院临床检验科进行。

1.2.2 hsa_circRNA_104633 和 hsa_circRNA_

406281 检测 采用 qRT-PCR 法:收集所有研究对象肝素钠抗凝的外周静脉血 2~3 mL,淋巴细胞分离液分离出 PMBCs,根据 Trizol 试剂盒(美国 Invitrogen 公司)说明书提取总 RNA。采用紫外分光光度仪测定总 RNA 浓度及纯度,选取吸光度值(A)260/280 为 1.8~2.0 的标本,并以 1%DEPC 水调整总 RNA 浓度至 300 ng/mL。根据逆转录试剂盒(日本 TaKaRa 公司)说明书,取 2 μ L 总 RNA 逆转录成 cDNA。然后在 LightCycle[®] 96PCR 仪(瑞士 Roche 公司)上进行 PCR 反应,反应总体积为 10 μ L。包括 5 μ L Power SYBR Green PCR Master Mix,3.6 μ L ddH₂O,上下游引物各 0.2 μ L,1 μ L cDNA。以两步法扩增,第一步:95 $^{\circ}$ C 30 s 1 个循环 \rightarrow [95 $^{\circ}$ C 5 s \rightarrow 60 $^{\circ}$ C 34 s]40 个循环。第二步:95 $^{\circ}$ C 15 s \rightarrow 60 $^{\circ}$ C 60 s \rightarrow 95 $^{\circ}$ C 15 s 1 个循环。本研究以 β -actin 作为内参基因,所有 PCR 引物均由上海生工生物工程有限公司合成, β -actin 上游引物序列:5'-GAGCTACGAGCTGCCTGACG-3',下游引物序列:5'-GTAGTTTCGTGGATGCCACAG-3',扩增片段大小 120bp;hsa_circRNA_104633 上游引物序列:5'-AGTAACTGCTCCCCCTGAGGA-3',下游引物序列:5'-GGGACTGCTGGCTCTGAAGT-3',扩增片段大小 180bp;hsa_circRNA_406281 上游引物序列:5'-ACTGATGATGGAGGCTTCAGTGA-3',下游引物序列:5'-TCTGCTTGGACACTGAAGGTTGA-3',扩增片段大小 170bp。每份标本均设 2 个复孔,反应结束后作溶解曲线。以 $2^{-\Delta C(t)}$ 作为 circRNA 的

相对表达水平来分析不同样本间 circRNA 的差异表达。

1.3 统计学分析

采用 IBM SPSS Statistics 23.0 及 GraphPad Prism 8.0 软件对数据进行分析与处理。近似正态分布的计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,非正态分布资料以中位数(四分位间距)[M(IQR)]表示,组间比较采用 *t* 检验或 Mann-Whitney U 检验;Spearman 相关检验评估两个 circRNA 分子与痛风临床变量之间的相关性,受试者工作特征曲线(ROC 曲线)评价分子标志物的诊断效能,曲线下面积(AUC)越接近 1.0,表示诊断价值越高。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 三组研究对象临床特点及主要实验室指标比较

三组对象年龄比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。痛风组(AG+IG)的炎症指标如 CRP、ESR、WBC、GR 以及代谢指标如 sUA、GLU、部分血脂相关指标等高于 HC 组($P < 0.05$)。AG 组 CRP、ESR、WBC、GR、Mo 高于 IG 组($P < 0.05$),两组代谢指标比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。此外,在 IG 组中,虽然所有炎症指标均在正常范围,但在正常范围内的 WBC、GR、Mo 数值均较正常 HC 组高($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 三组研究对象的临床特点及实验室指标比较[$\bar{x} \pm s, M(IQR)$]

指标	AG 组 + IG 组 ($n=90$)	AG 组 ($n=45$)	IG 组 ($n=45$)	HC 组 ($n=60$)
年龄(岁)	42.50(17.00)	42.00(13.50)	43.00(20.00)	43.50(17.75)
CRP(mg/L)	18.48 \pm 36.23	34.29 \pm 46.22 [#]	2.66 \pm 2.52	-
ESR(mm/h)	16.19 \pm 19.79	24.59 \pm 25.11 [#]	7.98 \pm 5.21	-
WBC($\times 10^9/L$)	8.05 \pm 2.79 [*]	9.19 \pm 3.14 ^{**}	6.91 \pm 1.8 [*]	5.54 \pm 1.24
GR($\times 10^9/L$)	5.39 \pm 2.43 [*]	6.44 \pm 2.75 ^{**}	4.33 \pm 1.45 [*]	3.38 \pm 0.88
LY($\times 10^9/L$)	1.98 \pm 0.71	1.98 \pm 0.83	1.97 \pm 0.58	1.77 \pm 0.59
Mo($\times 10^9/L$)	0.49 \pm 0.23 [*]	0.59 \pm 0.27 ^{**}	0.40 \pm 0.14 [*]	0.33 \pm 0.08
sUA(μ mol/L)	481.00 \pm 133.48 [*]	506.92 \pm 115.65 [*]	455.09 \pm 145.9 [*]	363.39 \pm 51.66
GLU(mmol/L)	5.69 \pm 1.02 [*]	5.75 \pm 1.13 [*]	5.62 \pm 0.9 [*]	4.91 \pm 0.41
TG(mmol/L)	2.25 \pm 1.59 [*]	2.08 \pm 1.28 [*]	2.43 \pm 1.86 [*]	1.18 \pm 0.33
TC(mmol/L)	4.83 \pm 0.94 [*]	4.76 \pm 0.99 [*]	4.90 \pm 0.89 [*]	4.50 \pm 0.64
HDL(mmol/L)	1.13 \pm 0.26	1.13 \pm 0.29 [*]	1.13 \pm 0.22	1.19 \pm 0.2
LDL(mmol/L)	2.73 \pm 0.71 [*]	2.69 \pm 0.73 [*]	2.78 \pm 0.7	2.61 \pm 0.58
VLDL(mmol/L)	0.97 \pm 0.46 [*]	0.94 \pm 0.46 [*]	1.00 \pm 0.47 [*]	0.64 \pm 0.15

* $P < 0.05$,与 HC 组相比;# $P < 0.05$,与 IG 组相比。

2.2 三组研究对象 hsa_circRNA_104633 和 hsa_circRNA_406281 的表达水平比较

hsa_circRNA_104633 在 AG 及 IG 组中的表达

均高于 HC 组($P < 0.005$),但 AG 与 IG 组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);hsa_circRNA_406281 在 AG 组中的表达高于 IG 及 HC 组($P < 0.05$),但

IG 与 HC 比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见图 1。

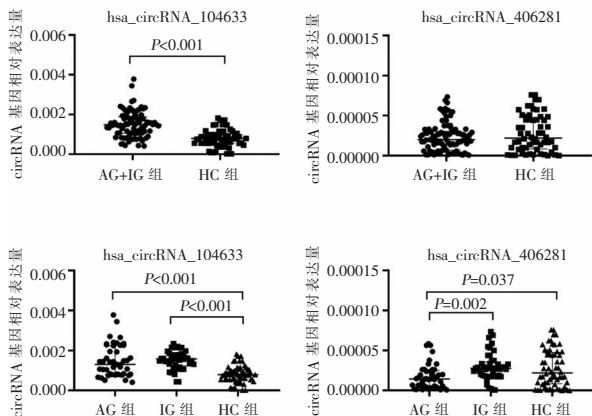


图 1 hsa_circRNA_104633 和 hsa_circRNA_406281 的表达水平

2.3 痛风患者 hsa_circRNA_104633 和 hsa_circRNA_406281 基因表达水平与实验室指标的关系

相关系分析显示, hsa_circRNA_104633 与 sUA 成正相关 ($r = 0.305, P = 0.003$), hsa_circRNA_406281 与 CRP、sUA 呈负相关 (CRP: $r = -0.513, P < 0.001$; sUA: $r = -0.213, P = 0.043$)。见表 2。

表 2 痛风患者 hsa_circRNA_104633 和 hsa_circRNA_406281 的表达水平与实验室指标的相关性

实验室指标	circRNA-104633	circRNA-406281	实验室指标	circRNA-104633	circRNA-406281
CRP			GLU		
<i>r</i> 值	0.031	-0.513	<i>r</i> 值	-0.059	0.051
<i>P</i> 值	0.768	0.001	<i>P</i> 值	0.592	0.639
ESR			TG		
<i>r</i> 值	-0.052	-0.160	<i>r</i> 值	0.148	-0.045
<i>P</i> 值	0.626	0.134	<i>P</i> 值	0.166	0.678
WBC			TC		
<i>r</i> 值	0.067	-0.097	<i>r</i> 值	0.015	0.122
<i>P</i> 值	0.529	0.365	<i>P</i> 值	0.892	0.253
GR			HDL		
<i>r</i> 值	0.047	-0.151	<i>r</i> 值	-0.127	0.134
<i>P</i> 值	0.663	0.157	<i>P</i> 值	0.234	0.210
LY			LDL		
<i>r</i> 值	0.070	0.070	<i>r</i> 值	0.075	0.048
<i>P</i> 值	0.512	0.513	<i>P</i> 值	0.484	0.655
Mo			VLDL		
<i>r</i> 值	-0.074	-0.057	<i>r</i> 值	0.073	0.058
<i>P</i> 值	0.488	0.595	<i>P</i> 值	0.497	0.590
sUA					
<i>r</i> 值	0.305	-0.213			
<i>P</i> 值	0.003	0.043			

2.4 hsa_circRNA_104633 和 hsa_circRNA_406281

对痛风的诊断价值

ROC 曲线显示, hsa_circRNA_104633 诊断痛风的 AUC 为 0.822 (95% CI: 0.756 ~ 0.888; $P < 0.001$; 敏感性 = 76.70%; 特异性 = 78.30%), 与 hsa_circRNA_406281 比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。考虑 hsa_circRNA_406281 在 AG 组的表达高于 IG 与 HC 组, 推测其可能参与了急性痛风的炎症反应, 成为痛风潜在的炎症标志物, 故对其进行 ROC 曲线分析发现其 AUC 值为 0.667 (95% CI: 0.576 ~ 0.759; $P = 0.001$; 敏感性为 51.90%; 特异性为 84.10%)。见图 2。

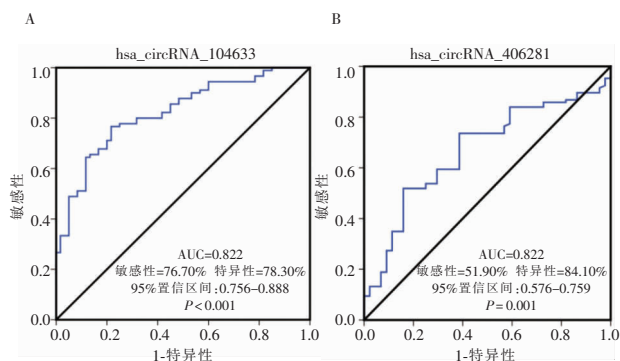


图 2 hsa_circRNA_104633 和 hsa_circRNA_406281 诊断痛风 ROC 曲线

A. hsa_circRNA_104633 诊断痛风 ROC 曲线, B. hsa_circRNA_406281 诊断急性痛风 ROC 曲线。

3 讨论

CircRNA 可以充当 miRNA 海绵, 影响蛋白质翻译, 或与 RNA 结合蛋白相互作用, 调节蛋白质的募集与组装^[6]。因此, circRNA 的多功能性使其成为研究和预测疾病的理想之选。近年来, 越来越多的研究表明, circRNA 的失调与多种风湿病的发生发展密切相关, 如系统性红斑狼疮^[12]、类风湿关节炎^[13]、骨关节炎等^[14], 但在痛风中鲜有相关报道。本课题组前期通过 circRNA 微阵列芯片筛选出与健康体检者明显差异表达的两个 circRNA 分子 hsa_circRNA_104633 和 hsa_circRNA_406281, 通过查阅文献, 目前已有研究发现 hsa_circRNA_104633 可以被高迁移率族蛋白 2 调节, 从而影响肺腺癌生长^[15]。此外, 关于 hsa_circRNA_104633 和 hsa_circRNA_406281 在胃癌、神经母细胞瘤、食管癌、肝脏寄生虫等^[16-19]相关疾病的微阵列芯片检测中均有相关报道其差异表达, 推测其可能参与了多种疾病的发生发展。本研究扩大样本并通过 PCR 检测了它们在痛风人群及 HC 中的相对表达量, 发现 hsa_circRNA_104633 在痛风患者 PBMCs 的表达显著增高, 而 hsa_circRNA_406281 则显著降低, 提示两个

circRNA 可能在痛风的发病机制中发挥作用。

痛风是一种炎症性疾病,其急性炎症反复发作且可自发缓解的机制是当今痛风炎症机制研究中的热点问题^[20]。本研究发现即使间歇期痛风患者炎症指标处于正常范围,但其炎症指标水平仍高于 HC 组,间接说明了即使在在痛风稳定期,痛风患者体内仍然存在低水平的炎性活动。此外,痛风也是一种代谢性疾病,流行病学调查显示,痛风与高尿酸血症,高脂血症,高血糖等密切相关^[3],sUA 水平升高被认为是痛风发生的重要危险因素^[1,5],高尿酸血症是高血压病、冠心病、糖尿病等代谢性疾病的独立危险因素之一。研究发现^[1,21-23]尿酸代谢紊乱与脂代谢或者糖代谢可能互为因果,一方面脂肪代谢产生的酮体可阻碍 sUA 排泄,间接使 sUA 水平增高,而 sUA 水平升高可降低脂蛋白酶活性,影响脂质代谢。另一方面,sUA 持续升高可损害胰腺 B 细胞功能,出现胰岛素抵抗,而持续的高血糖状态可使机体出现氧化应激,损伤血管内皮,促使血管平滑肌细胞增殖,可引起肾小球动脉硬化,肾血流量减少,上述过程可导致 sUA 排泄障碍,使 sUA 水平增高。而 circRNA 作为非编码 RNA 的一种,在调节免疫炎症反应及代谢性疾病中发挥着重要作用:如近期发现,肝脏成纤维细胞中脂质暴露引发的内质网应激导致线粒体中 circRNA SCAR 表达量下降,原本与其结合的 ATP 合成酶 $\beta 5$ 转而与亲环素 D 蛋白结合,导致线粒体通透性转换孔通道开放,使线粒体中的活性氧自由基释放到胞质中,加重非酒精性脂肪性肝炎^[24];另有研究表明 circHIPK3 可竞争性结合 miR-192-5p 从而上调转录因子 FOXO1 导致高血糖和胰岛素抵抗^[25];Circ_0001103 可调控 miR-375 以及去乙酰化酶 1 来改善炎症因子 IL-1 β 诱导的软骨细胞损伤^[26]。本研究从炎症、尿酸代谢、脂代谢、糖代谢方面选择上述实验室指标与两个 circRNA 分子在痛风患者中的相对表达量进行了相关性分析。结果发现 hsa_circRNA_104633 与 sUA 成正相关,hsa_circRNA_406281 与 CRP、sUA 呈负相关,提示 hsa_circRNA_104633 和 hsa_circRNA_406281 可能参与痛风患者的尿酸代谢调节,且 hsa_circRNA_406281 还可能参与了痛风炎症调节,其具体机制有待进一步研究。

随着人们生活水平的提高,痛风已是我们生活中的常见病、多发病。大部分 AG 患者伴有高尿酸血症,但仍有部分痛风患者 sUA 水平在正常范围,一项关于 221 名 AG 患者的回顾性队列研究中发现约 40% 的痛风患者急性期无 sUA 水平的升高^[27]。目前在偏振光显微镜下发现 MSU 晶体仍是诊断痛

风的金标准,但是,作为一项有创操作,临床应用很少,特别是对于没有高尿酸血症的痛风患者,MSU 的检出率非常低,因此寻找有效的痛风诊断标志物及治疗靶标至关重要。CircRNA 具有独特的结构,高稳定性和特定的表达方式,近年来,越来越多的证据表明 circRNA 可以作为多种疾病的新型诊断标志物,如组织样品中 circ-PSD3 可能是甲状腺乳头状癌的潜在诊断生物标志物^[28];circFKBP8 和 circ-MBNL1 在外周血中异常表达可能是诊断重度抑郁症的生物标志物^[29];全血中 hsa_circ_0082688 和 hsa_circ_0082689 可作为系统性红斑狼疮的诊断生物标记^[12]。然而,目前没有关于使用 circRNA 作为痛风的生物标志物的报道。体液是诊断多种人类疾病的常用材料,尤其是外周血在诊疗疾病方面具有独特的优势。由于保守的共价闭合的环状结构,circRNA 对 RNA 酶具有较高的抵抗性,使其在体液或外周血中得以富集^[6]。在本研究中,痛风组 PBMCs 中 hsa_circRNA_104633 的表达水平显著高于 HC 组。通过 ROC 曲线进一步分析了它们的诊断价值显示 hsa_circRNA_104633 的曲线下面积大于 0.8,可以很好的将痛风患者和健康人群区分开。这表明 hsa_circRNA_104633 可能具有作为痛风生物标志物的潜力。但是,需要更大的样本量及不同人群的比较进一步证实我们的结果。

综上,本研究发现 hsa_circRNA_104633 和 hsa_circRNA_406281 在痛风患者 PBMCs 中异常表达,提示其可能参与痛风发病,进一步分析发现 hsa_circRNA_104633 的表达量与痛风患者血尿酸浓度呈正相关,而 hsa_circRNA_406281 则与血尿酸浓度呈负相关,提示这两个 circRNAs 可能参与痛风患者尿酸代谢的调节;同时发现 hsa_circRNA_406281 的表达量与 CRP 呈负相关,提示 hsa_circRNA_406281 可能还与痛风炎症调节密切相关。此外,hsa_circRNA_104633 能很好的将痛风患者与 HC 区分开,在痛风临床诊断和治疗中可能具有潜在的用途。但是本研究也存在一些局限性,未来的研究将通过扩大样本量、设置疾病组对照、进行功能实验等来进一步明确它们在痛风中的分子机制和特定功能。

参考文献

- [1] Dalbeth N, Merriman TR, Stamp LK. Gout [J]. Lancet, 2016, 388 (10055): 2039 - 2052.
- [2] Dehlin M, Jacobsson L, Roddy E. Global epidemiology of gout: prevalence, incidence, treatment patterns and risk factors [J]. Nat Rev Rheumatol, 2020, 16 (7): 380 - 390.
- [3] Dalbeth N, Choi HK, Joosten LA, et al. Gout [J]. Nat Rev Dis Primers, 2019, 5 (1): 69.

- [4] Clebak KT, Morrison A, Croad JR. Gout: Rapid Evidence Review [J]. *Am Fam Physician*, 2020, 102(9): 533 - 538.
- [5] Zhang WZ. Why Does Hyperuricemia Not Necessarily Induce Gout [J]. *Biomolecules*, 2021, 11(2): 280.
- [6] Zhou WY, Cai ZR, Liu J, et al. Circular RNA: metabolism, functions and interactions with proteins [J]. *Mol Cancer*, 2020, 19(1): 172.
- [7] Wang J, Zhang Y, Liu L, et al. Circular RNAs: new biomarkers of chemoresistance in cancer [J]. *Cancer Biol Med*, 2021, Doi: 10.20892/J. ISSN. 2095 - 3941. 2020. 0312.
- [8] Ward Z, Pearson J, Schmeier S, et al. Insights into circular RNAs: their biogenesis, detection, and emerging role in cardiovascular disease [J]. *RNA Biol*, 2021, 6: 1 - 18.
- [9] Lodde V, Murgia G, Simula ER, et al. Long Noncoding RNAs and Circular RNAs in Autoimmune Diseases [J]. *Biomolecules*, 2020, 10(7): 1044.
- [10] 戴菲, 郑建雄, 唐乙萍, 等. 痛风患者外周血单个核细胞环状 RNA 的表达谱分析 [J]. *中华风湿病学杂志*, 2021, 25(1): 26 - 31, c1 - 3, c1 - 4.
- [11] Neogi T, Jansen TL, Dalbeth N, et al. 2015 Gout classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative [J]. *Ann Rheum Dis*, 2015, 74(10): 1789 - 1798.
- [12] Luo Q, Li X, Fu B, et al. Expression profile and diagnostic value of circRNAs in peripheral blood from patients with systemic lupus erythematosus [J]. *Mol Med Rep*, 2021, 23(1): 1.
- [13] Cai Y, Liang R, Xiao S, et al. viaCirc_0088194 Promotes the Invasion and Migration of Rheumatoid Arthritis Fibroblast-Like Synovocytes the miR-766-3p/MMP2 Axis [J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 628654.
- [14] Liu D, Liang YH, Yang YT, et al. Circular RNA in osteoarthritis: an updated insight into the pathophysiology and therapeutics [J]. *Am J Transl Res*, 2021, 13(1): 11 - 23.
- [15] Xu L, Ma Y, Zhang H, et al. HMGA2 regulates circular RNA ASPH to promote tumor growth in lung adenocarcinoma [J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(7): 593.
- [16] Shao Y, Li J, Lu R, et al. Global circular RNA expression profile of human gastric cancer and its clinical significance [J]. *Cancer Med*, 2017, 6(6): 1173 - 1180.
- [17] Zhang L, Zhou H, Li J, et al. Comprehensive Characterization of Circular RNAs in Neuroblastoma Cell Lines [J]. *Technol Cancer Res Treat*, 2020, 19(12): 1533033820957622.
- [18] Shen Y, Shao Y, Niu C, et al. Systematic Identification of circRNA-miRNA-mRNA Regulatory Network in Esophageal Squamous Cell Carcinoma [J]. *Front Genet*, 2021, 12: 580390.
- [19] Kalifu B, Maitiseyiti A, Ge X, et al. Expression profile of circular RNAs in cystic echinococcosis pericystic tissue [J]. *J Clin Lab Anal*, 2021, 35(3): e23687.
- [20] Yang QB, He YL, Zhang QB, et al. Downregulation of Transcription Factor T-Bet as a Protective Strategy in Monosodium Urate-Induced Gouty Inflammation [J]. *Front Immunol*, 2019, 10: 1199.
- [21] Richette P, Perez-Ruiz F, Doherty M, et al. Improving cardiovascular and renal outcomes in gout: what should we target [J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2014, 10(Suppl): 654 - 661.
- [22] Cho JJ, Oh DH, Yoo J, et al. Allopurinol ameliorates high fructose diet induced hepatic steatosis in diabetic rats through modulation of lipid metabolism, inflammation, and ER stress pathway [J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 9894.
- [23] Katsiki N, Dimitriadis GD, Mikhailidis DP. Serum Uric Acid and Diabetes: From Pathophysiology to Cardiovascular Disease [J]. *Curr Pharm Des*, 2021, 27(16): 1941 - 1951.
- [24] Zhao Q, Liu J, Deng H, Ma R, et al. Targeting Mitochondria-Localized circRNA SCAR Alleviates NASH via Reducing mROS Output [J]. *Cell*, 2020, 183(1): 76 - 93.
- [25] Cai H, Jiang Z, Yang X, et al. Circular RNA HIPK3 contributes to hyperglycemia and insulin homeostasis by sponging miR-192-5p and upregulating transcription factor forkhead box O1 [J]. *Endocr J*, 2020, 67(4): 397 - 408.
- [26] Zhang M, Mou L, Liu S, et al. Circ_0001103 alleviates IL-1 β -induced chondrocyte cell injuries by upregulating SIRT1 via targeting miR-375 [J]. *Clin Immunol*, 2021, 227: 108718.
- [27] Lee JS, Kwon OC, Oh JS, et al. Clinical features and recurrent attack in gout patients according to serum urate levels during an acute attack [J]. *Korean J Intern Med*, 2020, 35(1): 240 - 248.
- [28] Li Z, Huang X, Liu A, et al. Circ_PSD3 promotes the progression of papillary thyroid carcinoma via the miR-637/HEMGN axis [J]. *Life Sci*, 2021, 264: 118622.
- [29] Shi Y, Song R, Wang Z, et al. Potential clinical value of circular RNAs as peripheral biomarkers for the diagnosis and treatment of major depressive disorder [J]. *EBioMedicine*, 2021, 66: 103337.