DOI:10.16016/j.1000-5404.202007019

3 种环状 RNA 在系统性红斑狼疮中的表达及临床意义

郭俊恺[1],赵兴旺[1],倪 兵[2],游 弋[1] 400038 重庆,陆军军医大学第一附属医院皮肤科[1];400038 重庆,陆军军医大学病理生理学教研室[2];

[**摘要**] **目的** 探讨三种环状 RNA(circRNA)在系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus,SLE)患者中的表达及临床意义,为揭示 SLE 的临床诊断、治疗提供新的思路和方向。**方法** 筛选 35 例 SLE 患者(实验组)及 25 例健康对照者(对照组),提取外周血单个核细胞(PBMCs),采用反转录定量 PCR(RT-qPCR)检测 circADCY9,circGARS,circMCTP2 的表达水平,分析 3 种 circRNA 表达水平与临床活动度指标之间的相关性,采用受试者工作特征曲线(ROC)评价 3 种 circRNA 的诊断价值,通过核酸外切酶 RNaseR 处理检测 3 种 circRNA 分子的稳定性及耐受程度,选取 circADCY9 分子 PCR 验证其稳定性。**结果** ①RT-qPCR 分析结果显示 circADCY9 和 circGARS 在 SLE 患者 PBMCs 中表达上调,circMCTP2 表达下调(P 值均<0.000 1);②SLE 患者 circADCY9,circGARS 表达水平与 SLE 疾病活动指数(SLEDAI)评分呈正相关,与补体 C3 呈负相关,circMCTP2 表达水平与 SLEDAI 评分呈负相关,与补体 C3 呈正相关;③SLE 患者组和健康对照组 circADCY9、circGARS、circMCTP2 分子 ROC 曲线下面积(AUC)分别为 0.850 0、0.826 7、0.895 6;④RNaseR 处理前后 3 种 circRNA 表达情况较为稳定,PCR 显示:circRNA 相较于 mRNA 对 RNaseR 的耐受性更好。**结论** SLE 患者 PBMCs 中 circADCY9,circGARS,circMCTP2 表达明显异常,且稳定性好,与 SLE 疾病活动度具有相关性。

[**关键词**] 系统性红斑狼疮;外周血单个核细胞;环状 RNA
[**中图法分类号**] R363.21;R394.3;R593.241 [**文献标志码**] A

Expression and clinical significance of 3 kinds of circular RNA in systemic lupus erythematosus

GUO Junkai[1], ZHAO Xingwang[1], NI Bing[2], YOU Yi[1] [1]Department of Dermatology, First Affiliated Hospital; [2]Department of Pathophysiology, Army Medical University (Third Military Medical University), Chongqing, 400038, China

[**Abstract**] **Objective** To explore the expression and significance of 3 circular RNAs (circRNA), that is, circADCY9, circGARS and circMCTP2, in the patients with systemic lupus erythematosus (SLE), so as to provide new ideas and directions for its clinical diagnosis and treatment. **Methods** Peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) were extracted from the SLE patients (n=35) and healthy volunteers (n=25, control group). The expression levels of above 3 circRNAs were detected by real-time quantitative PCR (RT-qPCR), and their correlations with SLE Disease Activity Index (SLEDAI) were analyzed. The diagnostic value of the 3 circRNAs was evaluated by receiver operating characteristic (ROC) curve. Their stability and tolerance were detected using ribonuclease R (RNaseR) treatment, and the stability of circADCY9 was further verified by PCR analysis. **Results** ① The levels of circADCY9 and circGARS were up-regulated, while that of circMCTP2 was down-regulated (All P values were <0.000 1) in the SLE patients than the healthy volunteers.

[**基金项目**] 国家自然科学基金面上项目(81673058);重庆市基础科学与前沿技术研究(CSTC2017jcyjAX0251)
[**通信作者**] 游弋,E-mail:youyi_cq@163.com

② In SLE patients, the expression levels of circADCY9 and circGARS were positively correlated with the score of SLEDAI, and negatively with the level of complement C3. By contrast, the circMCTP2 level was negatively correlated with SLEDAI score and positively with complement C3 level. ③ The area under the curve (AUC) for circADCY9, circGARS and circMCTP2 were 0.850 0, 0.826 7 and 0.895 6, respectively. ④ The expression levels of the 3 circRNAs remained steady before and after RNaseR treatment, and the result of PCR showed that the tolerance of circADCY9 to RNaseR was better than that of ADCY9 mRNA. **Conclusion** The expression of circADCY9, circGARS and circMCTP2 is significantly abnormal in the PBMCs of SLE patients, and shows good stability, which is correlated with the activity of SLE.

[**Key words**] systemic lupus erythematosus; peripheral blood mononuclear cells; circular RNA

Supported by the General Program of National Natural Science Foundation of China (81673058) and the Project of Basic Science and Frontier Technology of Chongqing (CSTC2017jcyjAX0251). Corresponding author: YOU Yi, E-mail: youyi_cq@163.com

系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)是一种自身免疫性疾病,患者体内有多种自身抗体沉淀形成免疫复合物,可造成慢性炎症和多器官功能损伤,此病多见于育龄期女性[1-2]。一项全球性研究显示SLE患病率为每年9~241/10万,目前SLE的发病机制仍不清楚,研究报道SLE发病与遗传和环境因素共同作用有关[3]。环状RNA(circular RNA,circRNA)是一种具有闭合环状结构的内源性非编码RNA,在基因的表达调控方面发挥着重要作用[4]。与线性RNA相比,circRNA不仅具有更丰富的表达量,而且具有更高的稳定性[5-6]。circRNA在多种肿瘤、神经系统疾病、自身免疫性疾病中表达失调,广泛的参与各类疾病的发生、发展[7-9]。目前,已有研究表明circRNA参与SLE炎性调节过程中的基因表达[10-12]。分析circRNA与SLE早期诊断和预后的关系及其在SLE发病过程中的作用,具有重要的价值和意义[13-14]。

为探寻SLE相关circRNA分子靶标并评估其在SLE发生发展生物标志物的可能性,我们前期通过分析外周血单核细胞PBMCs(peripheral blood mononuclear cells)样本RNA-seq测序数据[15],挑选出了3个显著性差异基因[$P<0.01$, fold change(差异值)>2] circADCY9, circGARS, circMCTP2为研究目标。本研究拟设计引物通过RT-qPCR验证其表达情况,对circRNA的稳定性及耐受程度进行检测,通过结合SLE临床指标关联分析评估其潜在的诊断价值及意义。

1 材料与方法

1.1 研究对象

SLE组病例来自2018年3月至2019年10月在重庆西南医院就诊的患者,其中男3例,女32例;年龄7~56(37.4±12.9)岁。临床诊断符合1997年美国风湿协会修订的诊断标准[16],除外感染、肿瘤及其他结缔组织病。健康对照者(HC组)来自重庆西南医院健康体检者,其中男2例,女23例;年龄23~56(39.8±9.4)岁。两组性别年龄无显著差异。收集SLE患者临床相关指标并进行SLE疾病活动指数(systemic lupus erythematosus disease activity index, SLEDAI)评分[17]。SLEDAI评分0~18(8.5±4.9)分,其中基本无活动:10例(28.6%),轻度活动:11例(31.4%),中度活动9例(25.7%),重度活动5例(14.3%)。研究经中国人民解放军陆军军医大学第一附属医院伦理委员会批准,获得每位参与者书面知情同意。患者的临床资料见表1。

表1 本研究中SLE患者的临床资料 ($n=35$)

临床资料	例数(%)
皮肤表现	11(31.4)
脱发	10(28.6)
关节炎	10(28.6)
蛋白尿	16(45.7)
血尿	4(11.4)
胸膜炎	8(22.8)
血小板减少	6(17.1)
白细胞减少	7(20.0)
低补体	26(74.2)
Anti-dsDNA	8(22.8)
Anti-sm	11(31.4)
Anti-SSA	15(42.8)
Anti-SSB	3(8.5)
Anti-RO52	15(42.8)
Anti-ANA	33(94.2)
Anti-RNP	10(28.6)

1.2 主要试剂和仪器

人单个核细胞分离液Ficoll购自天津市灏洋生物制品科技有限责任公司;总RNA提取试剂Trizol购自

天根生化科技(北京)有限公司;PrimeScript RT 逆转录试剂盒购自成都微克生物技术有限公司;qPCR SYBR Green 购自武汉生命之美科技有限公司;基因引物均由生工生物工程(上海)股份有限公司合成;Nanodrop ND-1000 紫外分光光度计为美国 Nanodrop 公司产品;伯乐 CFX Connect PCR 仪器为美国 Bio-Rad 公司产品。

1.3 PBMCs 及总 RNA 提取

采集受试者清晨空腹静脉血 3~5 mL 至 EDTA 抗凝管,2 h 内送入实验室,Ficoll 分离液分离 PBMCs,Trizol 试剂盒提取总 RNA,通过分光光度计测量提取的 RNA 质量,-80 ℃保存。

1.4 RT-qPCR 检测

引物设计按照常规 PCR 引物设计原理,利用 primer premier 5.0 软件跨剪接位点上下游进行设计,将设计好的引物序列导入 NCBI 数据库(http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi)中,采用 Primer-Blast 工具进行引物特异性比对分析,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。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 ℃ 5 min 预变性;95 ℃ 10 s 变性,60 ℃ 34 s 退火延伸,读板,扩增循环 40 次。所有样品做 3 个复孔。RT-qPCR 使用伯乐 CFX Connect 荧光定量 PCR 仪进行。分析待测标本的扩增熔解曲线,均为单峰,无非特异性扩增。结果以 CT 值显示,采用相对定量法对 RT-qPCR 结果进行分析,计算 $2^{-\Delta Ct}$。引物序列见表 2。

1.5 统计学处理

统计分析和图形采用 GraphPad Prism 8.0 软件进行,两组样本进行 t 检验,两个变量之间相关性采用 Pearson 相关分析。受试者工作特征(receiver operator characteristic,ROC)曲线分析评价 circRNA 诊断和鉴别诊断的敏感性和特异性。

表 2 荧光定量 PCR 引物序列

名称	引物序列(5′-3′)
ADCY9	正义:CTCCTGCTCTTGTTGGTCTGGTTC
	反义:CTCTGGATCTTGGTGCGGTGAAG
GARS	正义:GGCAGCACATGGAGAATGAGATGG
	反义:ACAGGAACGATCAGCACATCCAAC
MCTP2	正义:GCCACAGCGATCTCGGACAAC
	反义:GATGCACCAGAAGAGCCAGAGAAG
circADCY9	正义:TGAGACCAACATACACGTCAT
	反义:GGAGCTGAAGGTGGGACTAG
circGARS	正义:TGCCATTTGTGATGAGTGCT
	反义:CAACAATCTCAATCCAACCCCT
circMCTP2	正义:TGGAGAAAGGATTAAGAAGTATT
	反义:GTCCTGGATGCTGCTGAC
β-actin	正义:5′-GGTGAGCTGCGAGAATAGCC-3′
	反义:5′-CTCCGACCAGTGTTTGCCTT-3′

2 结果

2.1 RT-qPCR 检测实验组和健康对照组 circADCY9,circGARS,circMCTP2 表达情况

结果显示 circADCY9,circGARS 在 35 例 SLE 患者相较 25 例健康人 PBMCs 中表达上调,circMCTP2 表达下调(P 均<0.000 1,图 1)。差异有统计学意义。

2.2 PBMCs 中 circADCY9、circGARS、circMCTP2 表达水平与 SLE 患者临床参数之间相关性分析

SLE 患者 circADCY9、circGARS 表达水平与 SLEDAI 评分呈正相关(两者 P 值均<0.000 1,r 分别为 0.841 7 和 0.801 0),circMCTP2 表达水平与 SLEDAI 评分呈负相关(P<0.000 1,r=-0.810 2)。SLE 患者 circADCY9、circGARS 表达水平与补体 C3 呈负相关(两者 P 值分别为<0.001 5 和<0.000 5,两者 r 值分别为-0.509 4 和-0.551 1),circMCTP2 表达水平与补体 C3 呈正相关(P<0.012 1,r=0.414 0,图 2、3)。而与其他临床指标(dsDNA,Anti-sm、C4、抗核抗体等)不相关。

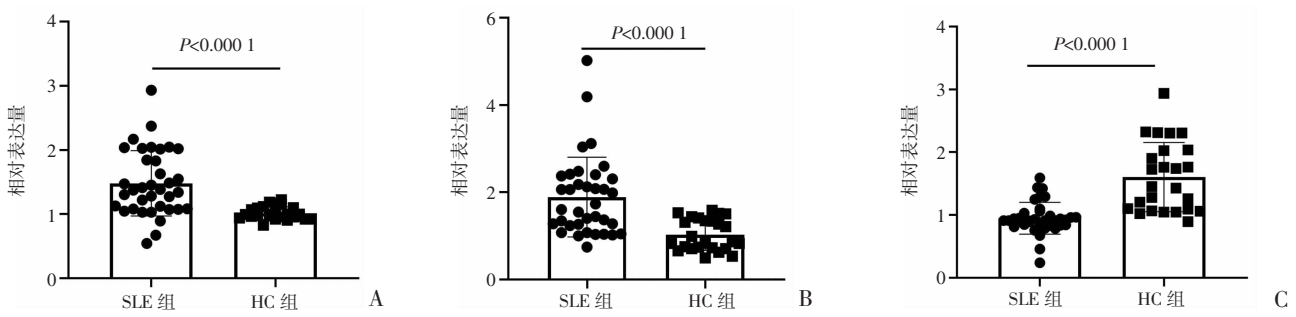


图 1 circADCY9(A)、circGARS(B)、circMCTP2(C)在实验组和对照组中的表达情况比较

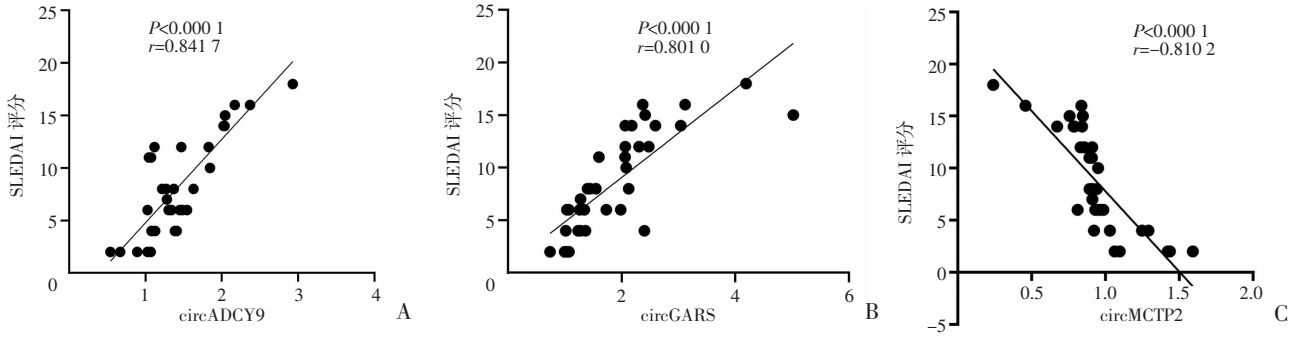


图 2 SLE 患者 circADCY9(A)、circGARS(B)、circMCTP2(C)表达水平与 SLEDAI 评分相关分析结果

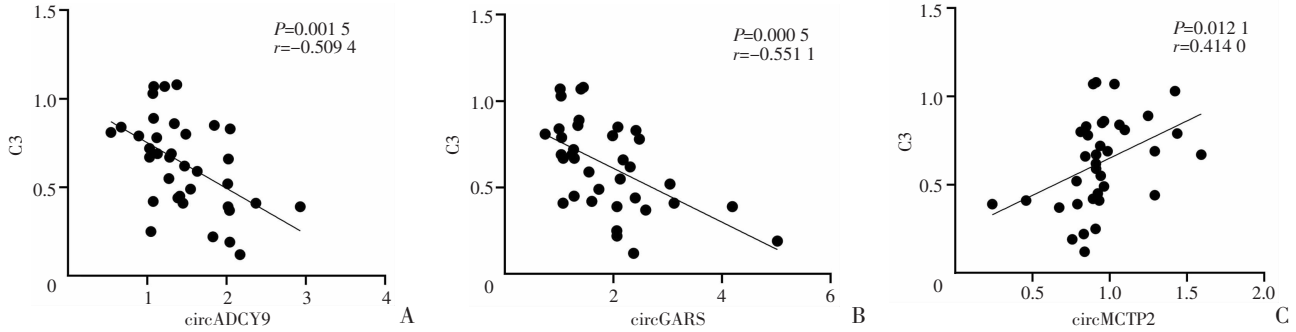


图 3 SLE 患者 PBMCs 中 circADCY9(A)、circGARS(B)、circMCTP2(C)表达水平与补体 C3 水平相关分析结果

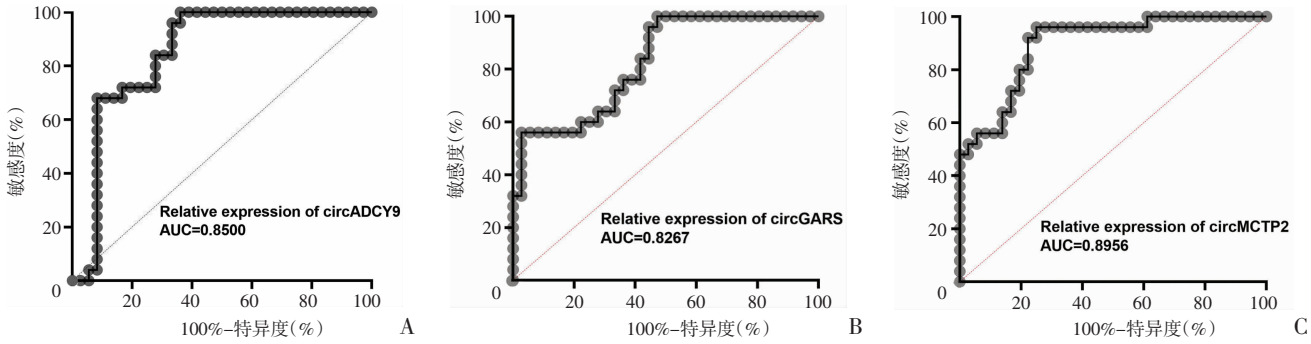


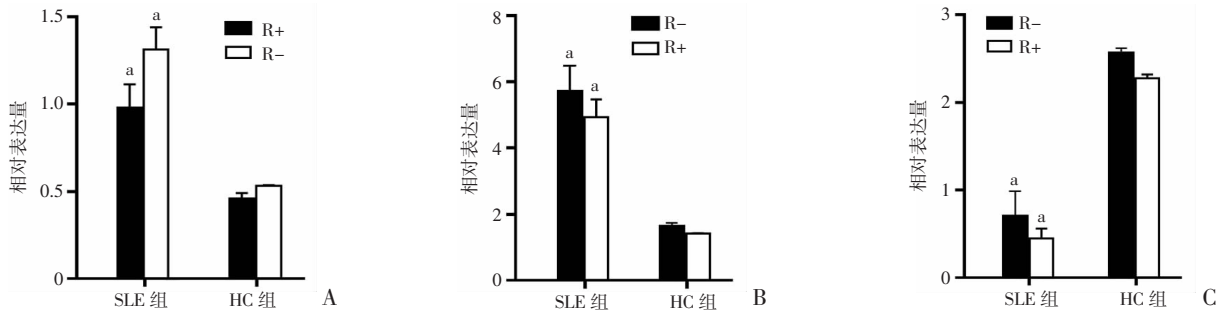
图 4 实验组和对照组 PBMCs 中 circADCY9(A)、circGARS(B)、circMCTP2(C)的 ROC 曲线分析

2.3 PBMCs 中 3 种 circRNA 对 SLE 患者诊断的价值

对 SLE 患者和健康对照者的 PBMCs 中 circADCY9、circGARS、circMCTP2 表达水平进行 ROC 曲线分析。CircADCY9 的 ROC 曲线下 AUC 为 0.850 0(95%*CI*:0.749 4−0.950 6;*P*<0.0001)。CircGARS 的 ROC 曲线下 AUC 为 0.826 7(95%*CI*:0.725 0−0.928 3;*P*<0.000 1)。CircMCTP2 的 ROC 曲线下 AUC 为 0.895 6(95%*CI*:0.817 8−0.973 3;*P*<0.000 1)。见图 4。

2.4 RNaseR 处理前后 circADCY9,circGARS,circMCTP2 表达差异情况比较

选取 6 例 SLE 患者和 3 例健康对照者 PBMCs 总 RNA 使用 RNaseR 处理前后 circADCY9,circGARS,circMCTP2 表达差异情况比较。结果显示 circADCY9,circGARS 在 RNaseR 处理前后表达上调且总体趋势一致,circMCTP2 表达下调且总体趋势一致(图 5)。PCR 产物电泳检测显示 β-actin、circADCY9、circGARS、circMCTP2 条带清晰可见(图 6)。RNaseR 处理前后 circADCY9 及 mRNA 电泳检测结果提示,circADCY9 在使用 RNaseR 处理前后表达影响不大,而 β-actin 及线性 ADCY9 条带明显变浅(图 7)。



a：$P<0.01$，与 HC 组比较

图 5　RNaseR 处理前后实验组和对照组 PBMCs 中 circADCY9(A)、circGARS(B)、circMCTP2(C)的表达情况

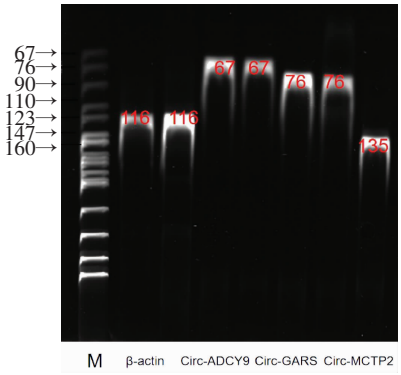


图 6　PCR 检测 PBMCs 中 circADCY9、circGARS、circMCTP2 表达

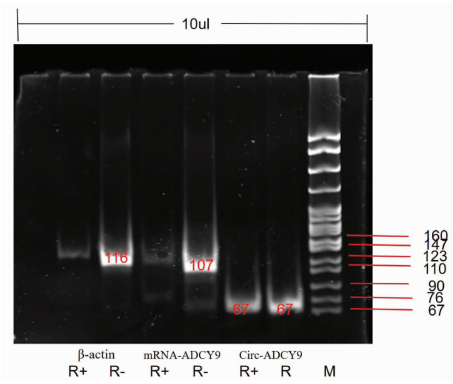


图 7　PCR 检测 PBMCs 中使用 RnaseR 处理前后 circADCY9、线性 ADCY9 表达

3　讨论

SLE 是一种慢性全身性自身免疫性疾病，其特征是自身抗体产生，补体激活和免疫复合物沉积[18]。临床上比较常用的诊断标记物如抗核抗体(ANAs)，抗双链 DNA(dsDNA)抗体以及抗史密斯(Anti-Sm)抗体等对于 SLE 的早期筛查和诊断具有重要的意义，但是这些传统的实验室指标缺乏高特异性或者是高敏感性[19]。circRNA 作为一种大量存在于哺乳动物的内源性的非编码 RNA，表达丰富且具有较高的稳定性[20]。它最主要的功能是参与转录后调控，类似于一个内源性 RNA 或 miRNA 的海绵，可以竞争性的抑制 RNA/miRNA 的转录调控[21-22]。circRNA 还可以通过抑制转录起始位点调节可变剪切或转录，调节其亲本基因的表达[23]。此外，部分 circRNA 分子吸附蛋白质因子与 RNA 结合蛋白相互作用，circRNA 还可被翻译成蛋白质[24-25]。

circRNA 与 SLE 密切相关，研究发现：hsa_circ_0045272 可以充当 miR-6127 的海绵并对 T 细胞的凋亡和 IL-2 分泌进行调节[14]；Hsa_circ_0012919 在 SLE 患者中的下调增加甲基转移酶 1 的表达并降低了 CD70、CD11a 的表达，逆转了 SLE $CD4^+$ T 细胞中 CD70 和 CD11a 的 DNA 甲基化不足[26]；SLE 患者 PBMCs 中存在蛋白激酶磷酸化的增强和 circRNA 降低，circRNA 可形成不完全的 RNA 双链，并充当与天然免疫相关的双链 RNA 激活蛋白激酶的抑制剂[27]；hsa_circ_0049224 和 has_circ_0049220 可用于评估低甲基化的生物标志并参与 SLE 的活动[28]；circIBTK 在 SLE 中下调，并与 SLEDAI 评分、抗 dsDNA 和补体 C3 水平相关，circIBTK 可能通过与 SLE 中的 MIR-29b 结合来调节 DNA 去甲基化和 AKT 信号通路[29]；hsa_circ_0021372 和 hsa_circ_0075699 水平与补体 C3 和 C4 表达水平有关，hsa_circ_0057762 水平与 SLEDAI-2K 评分呈正相关[30]。以上研究提示，circRNA 在 SLE 发生发展中发挥重要的作用，研究 circRNA 与 SLE 发病的关系，对探索 SLE 的生物诊断标记物及其发病机制，具有重要的意义。

本研究中 circADCY9、circGARS 在 SLE 患者中表达增高，且其表达水平与 SLE 患者 SLEDAI 评分呈正相关，与补体 C3 水平呈负相关，说明 circADCY9、circGARS 的表达水平与 SLE 的严重程度呈正比，患者疾病越严重，circADCY9、circGARS 的表达水平越高。

circMCTP2 在 SLE 患者中低表达,其表达水平与 SLE 患者 SLEDAI 评分呈负相关,与补体 C3 呈正相关,说明 circMCTP2 的表达水平与 SLE 的严重程度呈反比,患者疾病越严重,circMCTP2 的表达水平越低。系统性红斑狼疮活动指数(SLEDAI)具有较好的有效性和对变化的敏感性,能对 SLE 患者的病情严重程度进行评估[31]。补体 C3 的降低表明自身抗体增加,免疫激活,与 SLE 疾病的活动性呈负相关,在 SLE 的诊断中具有筛查价值[32-33]。通过评估 circRNA 与 SLEDAI 和 C3 的关系能够一定程度上反应 circRNA 与 SLE 严重程度和活动性关系。ROC 曲线分析提示:三者曲线下面积(AUC)在 0.8~0.9 之间,诊断效能较好。进一步对 RNaseR 处理前后 3 种 circRNA 表达情况进行比较以及 PCR 产物跑胶验证结果提示:circRNA 表达情况较为稳定,circRNA 相较于 mRNA 对 RNaseR 的耐受性更好。既往的研究也证实:与线性 RNA 相比,circRNA 分子呈封闭环状的结构,能在很大程度上能抵抗核酸外切酶的活性[34]。综上,SLE 患者 PBMCs 中 circADCY9、circGARS、circMCTP2 表达明显异常,这 3 种 circRNA 表达稳定,其表达水平与 SLE 的严重程度具有相关性。

本研究尚存在一些不足及影响因素:①不同 SLE 患者异质性较大;②本文收集的 SLE 病例并非均是初诊未治疗的,药物可能对其表达有影响;③SLE 发病机制较复杂受限因素较多;④SLE 患者的研究样本量较少;⑤没有检测治疗前后以及初诊和复诊患者之间 circRNA 的表达差异,无法明确其在预后监测中的疗效。在后续的研究中将进一步扩大样本量检测 SLE 患者 PBMCs 中 circRNA 的表达,使研究结果更具有可靠性。

参考文献:

[1] MILLS J A. Systemic lupus erythematosus[J]. N Engl J Med, 1994, 330(26): 1871-1879. DOI: 10.1056/NEJM199406303302608.

[2] LEVER E, ALVES M R, ISENBERG D A. Towards precision medicine in systemic lupus erythematosus [J]. Pharmgenomics Pers Med, 2020, 13: 39-49. DOI: 10.2147/pgpm.s205079.

[3] GERGIANAKI I, BORTOLUZZI A, BERTSIAS G. Update on the epidemiology, risk factors, and disease outcomes of systemic lupus erythematosus[J]. Best Pract Res Clin Rheumatol, 2018, 32(2): 188-205. DOI: 10.1016/j.berh.2018.09.004.

[4] LEDFORD H. Circular RNAs throw genetics for a loop[J]. Nature, 2013, 494(7438): 415. DOI: 10.1038/494415a.

[5] JECK W R, SORRENTINO J A, WANG K, *et al*. Circular RNAs are abundant, conserved, and associated with ALU repeats[J]. RNA, 2013, 19(2): 141-157. DOI: 10.1261/rna.035667.112.

[6] 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. DOI: 10.1371/journal.pone.0141214.

[7] ZHAO Y, ALEXANDROV P N, JABER V, *et al*. Deficiency in the ubiquitin conjugating enzyme UBE2A in Alzheimer's disease (AD) is linked to deficits in a natural circular miRNA-7 sponge (circRNA; ciRS-7)[J]. Genes (Basel), 2016, 7(12)DOI: 10.3390/genes7120116. DOI: 10.3390/genes7120116.

[8] LI Y W, ZHENG F X, XIAO X Y, *et al*. CircHIPK3 sponges miR-558 to suppressheparanase expression in bladder cancer cells[J]. EMBO Rep, 2017, 18(9): 1646-1659. DOI: 10.15252/embr.201643581.

[9] LUO Q, ZENG LL, ZENG L B, *et al*. Expression and clinical significance of circular RNAs hsa_circ_0000175 and hsa_circ_0008410 in peripheral blood mononuclear cells from patients with rheumatoid arthritis[J]. Int J Mol Med, 2020, 45(4): 1203-1212. DOI: 10.3892/ijmm.2020.4498.

[10] MEMCZAK S, JENS M, ELEFSINIOTI A, *et al*. Circular RNAs are a large class of animal RNAs with regulatory potency[J]. Nature, 2013, 495(7441): 333-338. DOI: 10.1038/nature11928.

[11] LI L J, HUANG Q, PAN H F, *et al*. Circular RNAs and systemic lupus erythematosus[J]. Exp Cell Res, 2016, 346(2): 248-254. DOI: 10.1016/j.yexcr.2016.07.021.

[12] CORTES R, FORNER M J. Circular RNAS: novel biomarkers of disease activity in systemic lupus erythematosus?[J]. Clin Sci (Lond), 2019, 133(9): 1049-1052. DOI: 10.1042/CS20180826.

[13] CHEN LL, YANG L. Regulation of circRNA biogenesis[J]. RNA Biol, 2015, 12(4): 381-388. DOI: 10.1080/15476286.2015.1020271.

[14] LI L J, ZHU Z W, ZHAO W, *et al*. Circular RNA expression profile and potential function of hsa_circ_0045272 in systemic lupus erythematosus[J]. Immunology, 2018, 155(1): 137-149. DOI: 10.1111/imm.12940.

[15] 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): 520-528. DOI: 10.1177/0961203319830493.

[16] HOCHBERG M C. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus[J]. Arthritis Rheum, 1997, 40(9):

1725. DOI: 10.1002/art.1780400928.

[17] BOMBARDIER C, GLADMAN D D, UROWITZ M B, *et al*. Derivation of the SLEDAI. A disease activity index for lupus patients. The Committee on Prognosis Studies in SLE [J]. Arthritis Rheum, 1992, 35(6): 630-640. DOI: 10.1002/art.1780350606.

[18] CHOI M Y, FLOOD K, BERNATSKY S, *et al*. A review on SLE and malignancy[J]. Best Pract Res Clin Rheumatol, 2017,31(3): 373-396. DOI: 10.1016/j.berh.2017.09.013.

[19] ZHAO M, ZHOU Y, ZHU B C, *et al*. IFI44L promoter methylation as a blood biomarker for systemic lupus erythematosus[J]. Ann Rheum Dis, 2016, 75(11): 1998-2006. DOI: 10.1136/annrheumdis-2015-208410.

[20] ZHANG Y, ZHANG X O, CHEN T, *et al*. Circular intronic long noncoding RNAs[J]. Mol Cell, 2013,51(6): 792-806. DOI: 10.1016/j.molcel.2013.08.017.

[21] HANSEN T B, JENSEN T I, CLAUSEN B H, *et al*. Natural RNA circles function as efficient microRNA sponges[J]. Nature, 2013, 495(7441): 384-388. DOI: 10.1038/nature11993.

[22] TAULLI R, LORETELLI C, PANDOLFI PP. From pseudo-ceRNAs to circ-ceRNAs: a tale of cross-talk and competition [J]. Nat Struct Mol Biol, 2013, 20(5): 541-543. DOI: 10.1038/nsmb.2580.

[23] QU S B, YANG X S, LI X L, *et al*. Circular RNA: a new star of noncoding RNAs[J]. Cancer Lett, 2015, 365(2): 141-148. DOI: 10.1016/j.canlet.2015.06.003.

[24] WILUSZ J E, SHARP P A. Molecular biology. A circuitous route to noncoding RNA[J]. Science, 2013, 340(6131): 440-441. DOI: 10.1126/science.1238522.

[25] GUO J U, AGARWAL V, GUO H L, *et al*. Expanded identification and characterization of mammalian circular RNAs [J]. Genome Biol, 2014, 15(7): 409. DOI: 10.1186/s13059-014-0409-z.

[26] ZHANG C Z, WANG X, CHEN Y, *et al*. The down-regulation of hsa_circ_0012919, the sponge for miR-125a-3p, contributes to DNA methylation of CD11a and CD70 in CD4+ T cells of systemic lupus erythematous [J]. Clin Sci (Lond), 2018, 132(21): 2285-2298. DOI: 10.1042/CS20180403.

[27] LIU C X, LI X, NAN F, *et al*. Structure and degradation of circular RNAs regulate PKR activation in innate immunity [J]. Cell, 2019, 177(4): 865-880. e21. DOI: 10.1016/j.cell.2019.03.046.

[28] ZHANG C Z, HUANG J, CHEN Y, *et al*. Low expression and clinical value of hsa_circ_0049224 and has_circ_0049220 in systemic lupus erythematous patients[J]. Med Sci Monit, 2018, 24: 1930-1935. DOI: 10.12659/msm.906507.

[29] WANG X, ZHANG C Z, WU Z W, *et al*. CircIBTK inhibits DNA demethylation and activation of AKT signaling pathway via miR-29b in peripheral blood mononuclear cells in systemic lupus erythematosus[J]. Arthritis Res Ther, 2018, 20(1): 1-10. DOI: 10.1186/s13075-018-1618-8.

[30] LI S P, ZHANG J M, TAN X H, *et al*. Microarray expression profile of circular RNAs and mRNAs in children with systemic lupus erythematosus[J]. Clin Rheumatol, 2019, 38(5): 1339-1350. DOI: 10.1007/s10067-018-4392-8.

[31] GRIFFITHS B, MOSCA M, GORDON C. Assessment of patients with systemic lupus erythematosus and the use of lupus disease activity indices[J]. Best Pract Res Clin Rheumatol, 2005, 19(5): 685-708. DOI: 10.1016/j.berh.2005.03.010.

[32] LI W H, LI H, SONG W Q, *et al*. Differential diagnosis of systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis with complements C3 and C4 and C-reactive protein[J]. Exp Ther Med, 2013, 6(5): 1271-1276. DOI: 10.3892/etm.2013.1304.

[33] QU C H, ZHANG J, ZHANG X M, *et al*. Value of combined detection of anti-nuclear antibody, anti-double-stranded DNA antibody and C3, C4 complements in the clinical diagnosis of systemic lupus erythematosus[J]. Exp Ther Med, 2019, 17(2): 1390-1394. DOI: 10.3892/etm.2018.7072.

[34] MENG S J, ZHOU H C, FENG Z Y, *et al*. CircRNA: functions and properties of a novel potential biomarker for cancer [J]. Mol Cancer, 2017, 16(1): 94. DOI: 10.1186/s12943-017-0663-2.

(收稿:2020-07-02;修回:2020-09-11)

(编辑 邓强庭)