

HMMR-AS1 在子宫内膜癌化疗耐药中的作用

王娟¹, 刘鑫¹, 席稳燕²

(1. 西安大兴医院妇产科, 西安 710016; 2 西安交通大学第二附属医院妇科, 西安 710004)

摘要: **目的** 探讨透明质酸介导的运动受体 (hyaluronan mediated motility receptor, HMMR) -AS1 在子宫内膜癌化疗耐药中的作用。**方法** 通过实时荧光定量 PCR 法测定 80 例子宫内膜癌肿瘤组织及其对照组织中 HMMR-AS1 及 HMMR 的相对表达量; 通过 CCK-8 法测定异常表达的 HMMR-AS1 对子宫内膜癌细胞增殖及化疗耐药的影响; 通过 western blot 实验测定异常表达的 HMMR-AS1 下游 HMMR 蛋白质的变化。**结果** HMMR-AS1 在子宫内膜癌中高表达 ($P < 0.01$), HMMR 在子宫内膜癌中亦表达上调 ($P < 0.01$), 且与 HMMR-AS1 呈正相关 ($r^2 = 0.7635, P < 0.01$); 过表达 HMMR-AS1 促进子宫内膜癌细胞增殖 ($P < 0.01$), 降低子宫内膜癌对化疗药物顺铂 ($P < 0.01$) 及 5-FU ($P < 0.01$) 的敏感性, 促进 HMMR 蛋白质表达增加 ($P < 0.01$)。**结论** HMMR-AS1 在子宫内膜癌中高表达, 并促进子宫内膜癌细胞对化疗耐药。

关键词: 子宫内膜癌; 化疗; 耐药; 透明质酸介导的运动受体 -AS1;

中图分类号: R737.33; R730.43 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-7414 (2020) 05-045-06

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2020.05.012

Effect of HMMR-AS1 on the Chemotherapy-Resistance of Endometrial Cancer

WANG Juan¹, LIU Xin¹, XI Wen-yan²

(1. Department of Obstetrics and Gynecology, Daxing Hospital, Xi'an 710016, China; 2. Department of Gynecology, the Second Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, China)

Abstract: Objective To explore the effect of HMMR-AS1 on the chemotherapy-resistance of endometrial cancer. **Methods** The relative expression levels of HMMR-AS1 and HMMR in tumor tissues and control tissues of 80 cases of endometrial carcinoma were measured by real-time fluorescence quantitative PCR. The effect of HMMR-AS1 with abnormal expression on endometrial cancer cell proliferation and chemotherapy resistance was determined by CCK-8 assay. The changes of HMMR-AS1 downstream HMMR protein with abnormal expression were determined by western blot. **Results** HMMR-AS1 was highly expressed in endometrial cancer ($P < 0.01$), and it was also up-regulated in endometrial cancer ($P < 0.01$), and was positively correlated with HMMR-AS1 ($r^2 = 0.7635, P < 0.01$). Overexpression of HMMR-AS1 promoted the proliferation of endometrial cancer cells ($P < 0.01$), decreased the sensitivity of endometrial cancer to chemotherapy drugs cisplatin ($P < 0.01$) and 5-FU ($P < 0.01$), and increased the expression of HMMR protein ($P < 0.01$). **Conclusion** HMMR-AS1 was upregulated in endometrial cancer and regulate the chemotherapy-resistance of endometrial cancer.

Keywords: endometrial cancer; chemotherapy; resistance; HMMR-AS1

子宫内膜癌 (endometrial cancer, EC) 是我国妇女常见的恶性肿瘤^[1-3]。子宫内膜癌的发病率及其病死率均居高不下, 且因为人口老龄化等因素, 子宫内膜癌的发病率仍有进一步上升的危险^[4]。子宫内膜癌目前的治疗手段主要为手术切除癌组织, 辅以化疗和放疗^[5]。手术切除术的缺点主要为复发率及远处转移率较高, 辅助化疗和放疗虽能降低复发和远端转移的风险, 但仍有相当部分患者因化疗耐药而出现复发和转移的情况^[6-7], 因此, 对子宫内膜癌化疗耐药的机制进行研究对子宫内膜癌患者具有较大的现实意义。长链非编码 RNA (long non coding RNAs, lncRNAs) 作为新兴的研究热点,

被发现在肿瘤耐药中发挥重要调节作用, 如 SHEN 等^[8]研究发现, 浆细胞瘤多样异位基因 1 (plasmacytoma variant translocation gene 1, PVT1) 在表观遗传学上沉默 miR-195, 并调节肿瘤细胞上皮细胞-间质转化 (EMT) 导致宫颈癌细胞化疗耐药; 王栋等^[9]研究发现, 肺癌转移相关转录本 1 (metastasis-associated lung adenocarcinoma transcript 1, MALAT1) 在结直肠癌中高表达, 且其高表达能够介导结直肠癌患者化疗耐药。HMMR-AS1 最早被发现于乳腺癌中高表达, 且其高表达与 HMMR 呈正相关^[10]。目前尚未发现其在子宫内膜癌中所起作用的报道。

作者简介: 王娟 (1985-), 女, 本科, 主治医师, 研究方向: 妇产科, E-mail: xiwangjuan@163.com。

通讯作者: 刘鑫 (1983-), 女, 本科, 主治医师, E-mail: 397083371@qq.com。

1 材料与方法

1.1 研究对象 本研究收集了西安大兴医院2012年1月~2016年12月手术切除的80例子宫内膜癌肿瘤组织及其配对正常组织。本研究经西安大兴医院伦理委员会批准,以上所有子宫内膜癌患者手术前均未接受任何放疗和化疗治疗及激素治疗,且所有患者均无其他肿瘤,相互之间不存在亲缘关系。所有组织均为手术切除后30min内浸泡于RNAlater液中,24h后置于液氮中保存。

1.2 仪器与试剂 PCR仪器使用ABI公司7500型PCR仪(美国),PCR master Mix使用ABI公司配套试剂(美国),引物由上海生工合成(中国上海),Ishikawa细胞系购买于上海斯信生物公司(中国),慢病毒载体由Genecopioia公司合成(美国),CCK8试剂、5-FU,顺铂由肖鹏生物公司购买(中国)。

1.3 方法

1.3.1 RNA提取及实时荧光定量PCR:使用trizol法提取组织中的总RNA,使用TAKARA反转录试剂将提取的RNA反转录成cDNA模板备用。使用ABI公司7500型PCR仪进行实时荧光定量PCR实验。反应体系严格按照ABI公司提供的说明书配置。各基因PCR引物为:DNAJC3-AS1上游引物为:5'-AGCGATTGTGGAAGACCCTG-3';下游引物为:5'-ATTTCCCTGGTAAGCGCAA-3';DNAJC3上游引物为:5'-GCCACACACCTTTCCTCCTC-3',下游引物为:5'-GCAGATCCACCAGGACTAGC-3';使用ACTB作为内参,上游引物为:5'-GGCGGCACCACCATGTACCCT-3',下游引物为:5'-AGGGGCCGACTCGTCATACT-3'。反应程序为:94℃预变性10min;94℃10s,65℃1min;共计40个循环。实验结果采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法进行分析,实验结果使用该基因在肿瘤组织中表达量的中位数作为临界值,大于等于中位数的为高表达,反之为低表达。

1.3.2 细胞培养:本实验所用子宫内癌细胞系(Ishikawa)购于上海斯信生物公司,本实验细胞培养使用含10ml/dl胎牛血清的DMEM培养基,细胞培养条件为37℃,5ml/dl CO₂,饱和湿度。待细胞汇合度达80%左右时使用胰蛋白酶消化传代细胞。

1.3.3 细胞转染:本研究采用慢病毒稳定转染包装系统进行过表达和干扰实验,所用载体分别为PEZ-LV201和psi-LVRH1GH。实验过程中,通过荧光检测及实时荧光定量PCR进行确认,两项均显示转染成功后使用该细胞进行后续实验。以上两种载体均为嘌呤霉素抗性载体。本研究拟通过过表达及干扰HMMR-AS1在子宫内膜癌细胞中表

达后检测细胞耐药等能力的改变情况,检测其对常见化疗药物敏感性的变化趋势。转染所用试剂为Lipofectamine 2000(Invitrogen,美国),操作步骤严格按照Invitrogen公司说明书进行,转染后继续常规培养48h后,收集对数生长期细胞用于后续实验检测。

1.3.4 CCK-8实验:取转染后处于对数生长期子宫内癌细胞用于此实验。实验中,取胰蛋白酶消化重悬后的子宫内膜癌细胞计数,接种于96孔培养板中,每孔接种200个细胞,每组设置5个平行孔;接种5个96孔板用于不同时间点(0,24,48,72和96h)加入CCK-8试剂后在450nm波长下检测其吸光度值,吸光度值愈高则表示孔内细胞越多。

1.3.5 化疗敏感性实验:取转染后处于对数生长期的子宫内膜癌细胞用于此项实验。本实验采用加入化疗药物后检测各组子宫内膜癌细胞生长抑制情况差异来分析HMMR-AS1不同表达水平下对化疗药物敏感性的差异。实验中,取胰蛋白酶消化重悬后的子宫内膜癌细胞计数,接种于96孔培养板中,每孔接种 2×10^4 个细胞,每组设置5个平行孔;按对数浓度梯度设置化疗药物(5-FU,顺铂)的浓度地图加药,常规培养24h后PBS清洗96孔培养板,加入含20g/dl CCK-8试剂的培养基,2h后在450nm波长下检测其吸光度值,吸光度值愈高则表示孔内细胞越多。

1.3.6 Western blot实验:取转染后处于对数生长期细胞用于此实验。本实验所用一抗(ab124729)及二抗(ab205718)均购买自Abcam公司,实验过程中,一抗稀释倍数为2000倍,二抗稀释倍数为1000倍。实验过程为典型的Western blot实验过程,具体步骤参见文献[11]。

1.4 统计学分析 采用配对t检验分析癌组织和对应癌旁正常组织中lncRNA表达水平的差异,采用卡方检验和独立样本t检验分析不同宫颈癌患者临床特征及疾病进展中lncRNA表达水平的差异,采用K-M法绘制生存曲线,用log-rank检验不同组患者生存时间之间的差异。采用重复测量的方差分析方法分析细胞增殖能力的差异(CCK-8实验及化疗药物敏感性实验)。统计过程使用实验SPSS18.0软件运行,所有检验均为双侧检验, $\alpha=0.05$, $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 HMMR-AS1在子宫内膜癌中高表达 见图1。经实时荧光定量PCR实验检测所有80对宫颈癌-癌旁正常组织,癌组织中的表达量显著高于对应癌旁正常组织,平均达7.24倍($P<0.01$)。

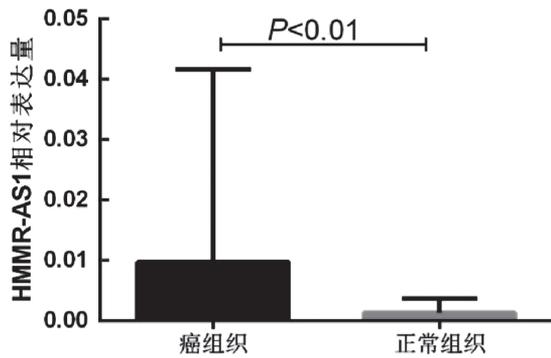


图1 HMMR-AS1在子宫内膜癌中高表达

2.2 HMMR在子宫内膜癌中高表达 经实时荧光定量PCR实验检测80对宫颈癌-癌旁正常组织,癌组织中的表达量显著高于对应癌旁正常组织,平均达2.50倍,见图2A($P < 0.01$)。经分析发现HMMR-AS1表达量与HMMR表达呈正相关,见图2B($r^2 = 0.7635$, $P < 0.01$)。

2.3 转染实验 见图3。通过荧光显微镜初步确认转染成功后,收集转染细胞提取总RNA,反转录后使用实时荧光定量PCR实验确认转染是否成功。图A为荧光照片,B,C为qPCR实验结果,其中过表达平均为对照组的8.63倍,干扰后表达为对照组的0.07倍。

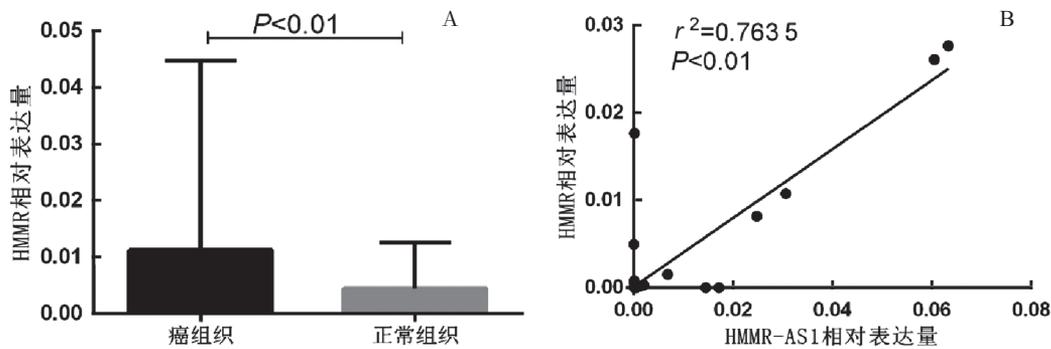


图2 HMMR在子宫内膜癌中高表达

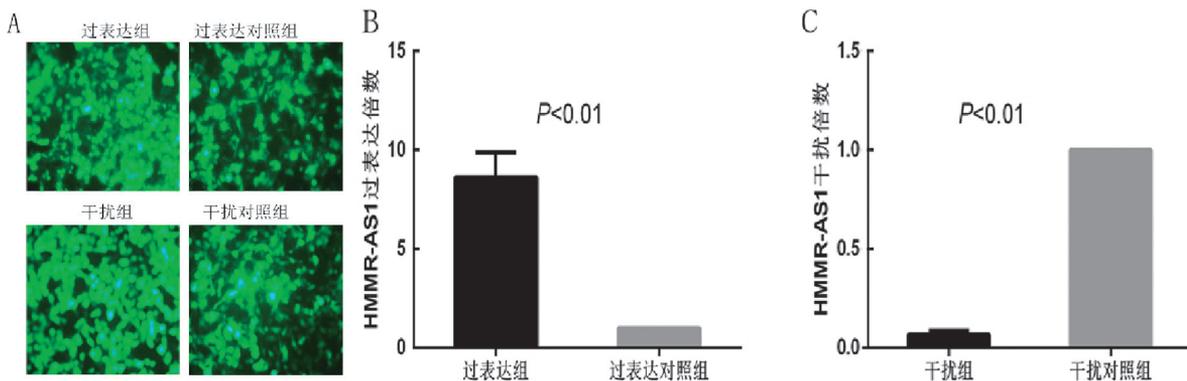


图3 转染实验的验证

2.4 过表达HMMR-AS1促进细胞增殖 通过CCK-8实验检测过表达组与对照组细胞、干扰组及对照组细胞增殖情况,结果显示,第2~4天,过表达组子宫内膜癌细胞在450nm下的吸光度值显著高于对照组,见图4A。经t检验,二者差异具有统计学意义($P < 0.01$)。通过干扰HMMR-AS1表达后检测其对子宫内膜癌细胞系增殖能力的影响,发现24h后即可观察到两组细胞增殖能力的差异,即24h后对照组细胞明显强于干扰组,见图4B($P < 0.01$)。表明过表达HMMR-AS1能够促进子宫内膜癌细胞增殖,干扰HMMR-AS1能够抑制子宫内膜癌细胞系增殖。

2.5 过表达HMMR-AS1降低化疗药物敏感性 通过检测子宫内膜癌细胞系对顺铂及5-FU两种药物的IC50,发现子宫内膜癌细胞系对顺铂的IC50为45.23ng/ml,对5-FU的IC50为15.94ng/ml。通过改进CCK-8实验检测过表达组与对照组细胞在HMMR-AS1异常表达情况对化疗药物(顺铂、5-FU)敏感性的影响,结果显示,第2~4天,过表达组子宫内膜癌细胞在450nm波长下的吸光度值显著高于对照组(见图5A,5B),经t检验,二者差异具有统计学意义(均 $P < 0.05$)。干扰HMMR-AS1后则能观察到相反的效应:即HMMR-AS1干扰组对顺铂及5-FU的敏感性均增加,见图5C,5D(均

$P < 0.05$), 表明过表达 HMMR-AS1 能降低子宫内膜

癌细胞对顺铂及 5-FU 的敏感性。

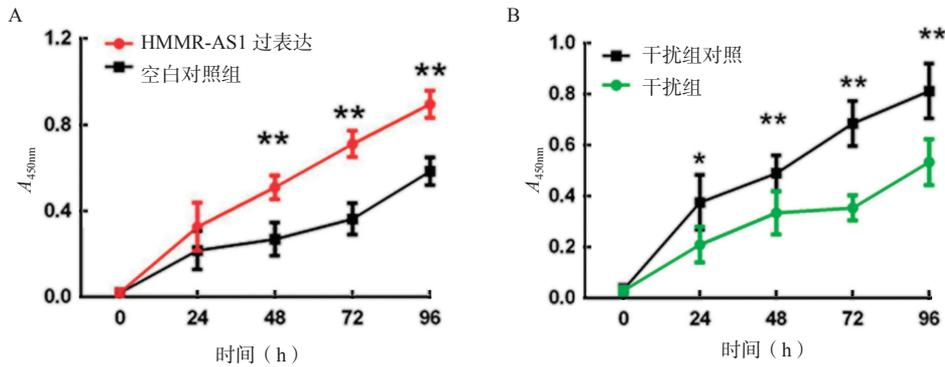


图4 过表达 HMMR-AS1 促进细胞增殖 (* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$)

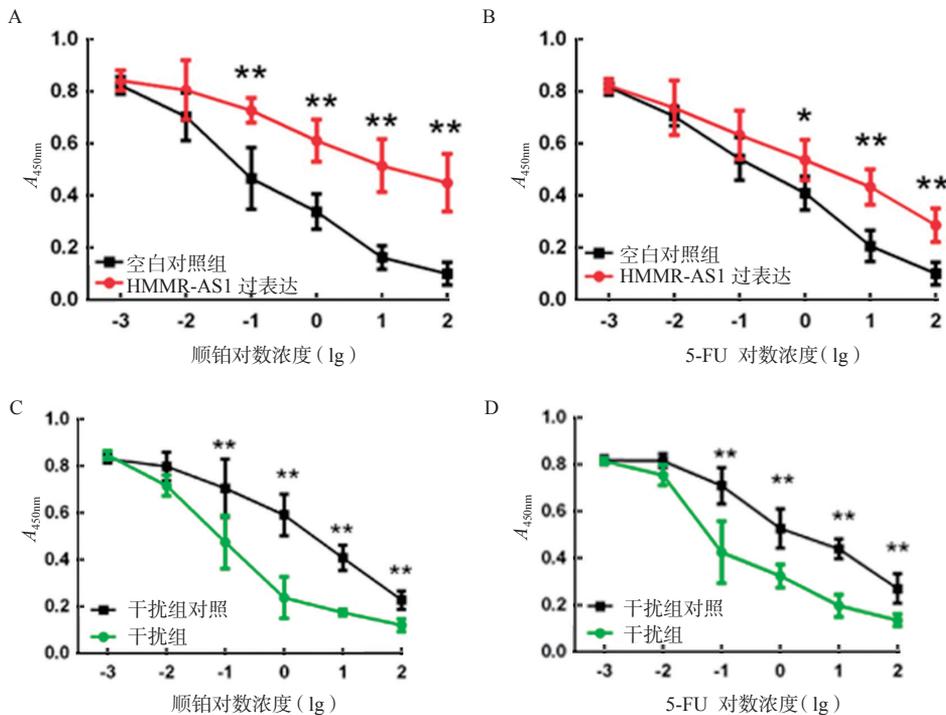


图5 过表达 HMMR-AS1 降低化疗药物敏感性 (* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$)

2.6 过表达 HMMR-AS1 促进 HMMR 蛋白质表达增加 见图 6。通过 western blot 实验检测过表达 HMMR-AS1 的子宫内膜癌细胞及对照组细胞的蛋白质, 发现过表达组 HMMR 蛋白显著高于对照组。

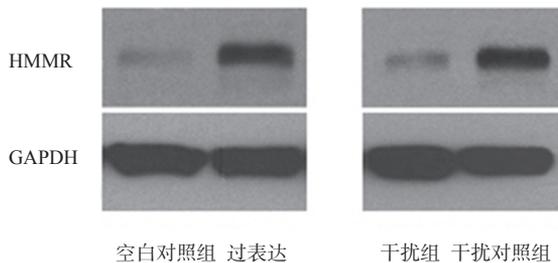


图6 过表达 HMMR-AS1 促进 HMMR 蛋白质表达增加
3 讨论

子宫内膜癌是发生在子宫内膜上的一种上皮恶

性妇科肿瘤^[12-14], 主要发生于围绝经期和绝经后的女性, 给全世界女性带来了严重的健康问题^[15]。目前子宫内膜癌的主要治疗手段为手术切除, 并使用放疗和化疗辅助治疗, 但目前手术后患者仍有较高风险出现复发和转移, 其中一个重要原因即为患者对化疗药物产生耐受, 此外, 放疗患者易出现部分肿瘤干细胞不能被射线杀灭的情况, 进而导致子宫内膜癌出现较高复发率和转移率, 导致子宫内膜癌预后不良。近年来研究显示, lncRNA 在肿瘤化疗耐药中发挥重要调控作用^[16-17]。

有研究报道, HMMR-AS1 在乳腺癌中高表达; 在上皮性卵巢癌中高表达, 且可作为独立的预后因子^[18]; 在恶性胶质瘤中高表达, 且能够调节靶基因 HMMR 的表达^[19]; 此外, 王冉冉等^[20]研究发

现 HMMR-AS1 在上皮性卵巢癌中通过介导 EMT 的发生降低卵巢癌细胞对化疗药物敏感性, 并促进卵巢癌细胞侵袭和转移。本研究发现, HMMR-AS1 在子宫内膜癌肿瘤组织中检测发现 HMMR-AS1 在子宫内膜癌中高表达, 且其高表达与其靶基因 HMMR 呈正相关。通过化疗敏感性实验发现过表达 HMMR-AS1 能够促进子宫内膜癌细胞系增殖, 并降低其对化疗药物顺铂及氟尿嘧啶的敏感性, 进而导致其对顺铂和氟尿嘧啶产生耐药。这与王冉冉等^[20]在上皮性卵巢癌中的研究相符, 均表现为促癌作用, 并能够介导以上两种肿瘤细胞对化疗药物产生耐药性。通过检测过表达 HMMR-AS1 后细胞 HMMR 蛋白质水平的变化发现 HMMR 蛋白质水平升高, 这与 HMMR 在恶性胶质瘤中能够促进化疗耐药的研究相符。

以上研究结果表明, HMMR-AS1 在子宫内膜癌中通过促进 HMMR 的表达降低子宫内膜癌细胞对顺铂及氟尿嘧啶的敏感性, 进而产生耐药。但 HMMR-AS1 与 HMMR 之间相互作用, 并介导子宫内膜癌细胞耐药的分子机制尚未能明确, 笔者所在课题组后期将进一步研究并揭示其分子机制, 为子宫内膜癌化疗耐药提供新的科学依据。

参考文献:

- [1] 陈慧, 周思园, 孙振球. 常见妇科三大恶性肿瘤的流行及疾病负担研究现状 [J]. 中国现代医学杂志, 2015, 25(6):108-112.
CHEN Hui, ZHOU Siyuan, SUN Zhenqiu. The prevalence and disease burden of three common gynecological malignancies[J]. China Journal of Modern Medicine, 2015, 25(6):108-112.
- [2] 郑荣寿, 孙可欣, 张思维, 等. 2015 年中国恶性肿瘤流行情况分析 [J]. 中华肿瘤杂志, 2019, 41(1):19-28.
ZHENG Rongshou, SUN Kexin, ZHANG Siwei, et al. Report of cancer epidemiology in China, 2015[J]. Chin J Oncol, 2019, 41(1):19-28.
- [3] 陈万青, 李贺, 孙可欣, 等. 2014 年中国恶性肿瘤发病和死亡分析 [J]. 中华肿瘤杂志, 2018, 40(1):5-13.
CHEN Wanqing, LI He, SUN Kexin, et al. Report of cancer incidence and mortality in China, 2014[J]. Chin J Oncol, 2018, 40(1):5-13.
- [4] 陈万青, 郑荣寿, 张思维, 等. 2013 年中国老年人群恶性肿瘤发病和死亡分析 [J]. 中华肿瘤杂志, 2017, 39(1):60-66.
CHEN Wanqing, ZHENG Rongshou, ZHANG Siwei, et al. Analysis of cancer incidence and mortality in elderly population in China, 2013[J]. Chin J Oncol, 2017, 39(1):60-66.
- [5] 余昌, 岳成山, 王会霞, 等. III 期子宫内膜癌患者调强放疗联合化疗治疗的疗效及不良反应分析 [J]. 实用癌症杂志, 2019, 34(1):145-147.
YU Chang, YUE Chengshan, WANG Huixia, et al. Clinical efficacy and adverse reactions of patients with stage III endometrial cancer with TP chemotherapy combined with intensity modulated radiation therapy[J]. The Practical Journal of Cancer, 2019, 34(1):145-147.
- [6] 邢永新. 化疗干预子宫内膜癌患者血清肿瘤标志物及癌组织中 hmg2 的表达及意义 [J]. 中国老年学杂志, 2019, 39(2):289-291.
XING Yongxin. Chemotherapy intervention of serum tumor markers and expression of HMGA2 in endometrial cancer patients and its significance[J]. Chinese Journal of Gerontology, 2019, 39(2):289-291.
- [7] 张守桃, 施桂玲, 金明杨, 等. 子宫内膜癌治疗的研究进展 [J]. 右江医学, 2018, 46(6):737-740.
ZHANG Shoutao, SHI Guiling, JIN Mingyang, et al. Research progress of treatment of endometrial cancer[J]. Chinese Youjiang Medical Journal, 2018, 46(6):737-740.
- [8] SHEN Chingju, CHENG Yamin, WANG Chuilin. Lncrna PVT1 epigenetically silences miR-195 and modulates emt and chemoresistance in cervical cancer cells [J]. J Drug Target, 2017, 25(7):637-644.
- [9] 王栋, 金岚, 王今, 等. MALAT1 在结直肠癌组织细胞中的表达及对化疗敏感性的影响 [J]. 中国医药导报, 2016, 13(32):12-16.
WANG Dong, JIN Lan, WANG Jin, et al. Expression of MALAT1 in colorectal cancer tissue cells and its influence for the chemotherapy sensitivity[J]. Chin Med Herald, 2016, 13(32):12-16.
- [10] LIU Wei, MA Jun, CHENG Yong, et al. HMMR antisense RNA 1, a novel long noncoding RNA, regulates the progression of basal-like breast cancer cells [J]. Breast Cancer Targets and Therapy, 2016, 8(1):223-229.
- [11] CHEN Lamei, MA Dongmei, LI Yuanyuan, et al. Effect of long non-coding RNA PVT1 on cell proliferation and migration in melanoma [J]. Int J Mol Med, 2018, 41(3):1275-1282.
- [12] 饶建, 林秀欣, 李春鸣. 晚期子宫内膜癌术后同期放疗与序贯放疗的疗效对比 [J]. 现代诊断与治疗, 2018, 29(13):2029-2032.
RAO Jian, LIN Xiuxin, LI Chunming. Evaluation of concurrent chemoradiotherapy and sequential chemoradio-therapy for advanced endometrial carcinoma[J]. Mod Diagn Treat, 2018, 29(13):2029-2032.
- [13] SUNG H, SIEGEL R L, TORRE L A, et al. Global patterns in excess body weight and the associated cancer burden [J]. CA Cancer J Clin, 2018, 69(2):88-112.
- [14] WHO. World health statistics 2017: monitoring health for the SDGs, sustainable development goals [M]. France: World Health Organization, 2017.
- [15] 孟一凡, 齐元富. 阿帕替尼治疗晚期子宫内膜癌患者报告 1 例 [J]. 世界最新医学信息文摘, 2019, 19(16):251.
MENG Yifan, QI Yuanfu. A case of advanced endometrial carcinoma treated with apatinib is reported[J]. World Latest Medicine Information, 2019, 19(16):251.
- [16] YU Jing, JIANG Lijuan, GAO Yutao, et al. LncRNA

- CCAT1 negatively regulates miR-181a-5p to promote endometrial carcinoma cell proliferation and migration [J]. *Exp Ther Med*, 2019,17(5):4259-4266.
- [17] KONG Y, REN Z. Overexpression of lncRNA fer114 in endometrial carcinoma is associated with favorable survival outcome [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018,22(23):8113-8118.
- [18] CHU Z P, DAI J, JIA L G, et al. Increased expression of long noncoding RNA HMMR-AS1 in epithelial ovarian cancer: An independent prognostic factor [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018,22(23):8145-8150.
- [19] LI Junyang, Ji Xiangjun, WANG Handong. Targeting long noncoding RNA HMMR-AS1 suppresses and radiosensitizes glioblastoma [J]. *Neoplasia*, 2018,20(5):456-466.
- [20] 王冉冉, 董珊珊, 龙瀛, 等. HMMR-AS1 介导 EMT 在上皮性卵巢癌顺铂获得性耐药中的作用 [J]. *肿瘤药学*, 2018,8(4):498-504.
- WANG Ranran, DONG Shanshan, LONG Ying, et al. HMMR-AS1 mediated EMT in acquired cisplatin resistance of epithelial ovarian cancer [J]. *Anti-tumor Pharmacy*, 2018,8(4):498-504.

收稿日期: 2019-08-13

修回日期: 2020-07-15

(上接第40页)测结果的分析同样显示, RA-CP 对 RA 具有很好的诊断价值, 与抗 CCP 抗体和 RF 相比, RA-CP 可以检出超 50% 的抗 CCP 抗体阴性 RA, 极大地提高了血清阴性 RA 的检出率; 而且通过联合检测分析, RA-CP 与抗 CCP 抗体的组合检测可显著提高 RA 诊断的敏感度且保持高的特异度, 联合诊断效能高于目前临床采用的抗 CCP 抗体与 RF 的组合。

综上所述, RA-CP 作为一种新的检测靶标, 不仅与 RA 自身免疫的发病机制有着密切的相关性, 而且可以作为 RA 临床诊断的新指标并有望成为更有效的辅助诊断指标。

参考文献:

- [1] SCOTT D L, WOLFE F, HUIZINGA T W J. Rheumatoid arthritis [J]. *2010*, 376(9746):1094-1108.
- [2] SCHELLEKENS G A, DE JONG B A, VAN DEN HOOGEN F H, et al. Citrulline is an essential constituent of antigenic determinants recognized by rheumatoid arthritis-specific autoantibodies [J]. *The Journal of Clinical Investigation*, 1998, 101(1): 273-281.
- [3] GIRBAL-NEUHAUSER E, DURIEUX J J, ARNAUD M, et al. The epitopes targeted by the rheumatoid arthritis-associated antifilaggrin autoantibodies are posttranslationally generated on various sites of (pro) filaggrin by deimination of arginine residues [J]. *Journal of Immunology*, 1999, 162(1): 585-594.
- [4] VOSSENAAR E R, DESPRES N, LAPOINTE E, et al. Rheumatoid arthritis specific anti-Sa antibodies target citrullinated vimentin [J]. *Arthritis Research and Therapy*, 2004, 6(2): R142-R150.
- [5] DESPRES N, BOIRE G, LOPEZ-LONGO F J, et al. The Sa system: a novel antigen-antibody system specific for rheumatoid arthritis [J]. *Journal of Rheumatology*, 1994, 21(6): 1027-1033.
- [6] REPARON-SCHUIJT C C, VAN ESCH W J, VAN KOOTEN C, et al. Secretion of anti-citrulline-containing peptide antibody by B lymphocytes in rheumatoid arthritis [J]. *Arthritis and Rheumatism*, 2001, 44(1): 41-47.
- [7] MASSON-BESSIÈRE C, MIREILLE S, GIRBAL-NEUHAUSER E, et al. The major synovial targets of the rheumatoid Arthritis-Specific antifilaggrin autoantibodies are deiminated forms of the α - and β -Chains of fibrin [J]. *Journal of Immunology*, 2001, 166(6): 4177-4184.
- [8] 田昕, 许忠, 栗占国. 瓜氨酸化作用与类风湿关节炎 [J]. *中华风湿病学杂志*, 2008, 12(8): 576-579.
- TIAN Xin, XU Zhong, LI Zhanguo. Citrullination and rheumatoid arthritis [J]. *Chinese Journal of Rheumatology*, 2008, 12(8): 576-579.
- [9] 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]. *Arthritis and Rheumatism*, 2010, 62(9): 2569-2581.
- [10] ZHU Jiaming, NIE Liuyan, LU Xiaoyong, et al. Meta-analysis: compared with anti-CCP and rheumatoid factor, could anti-MCV be the next biomarker in the rheumatoid arthritis classification criteria [J]. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 2019, 57(11): 1668-1679.
- [11] SUN Pingping, WANG Wanhai, CHEN Ling, et al. Diagnostic value of autoantibodies combined detection for rheumatoid arthritis [J]. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 2017, 31(5): e22086.
- [12] SULAIMAN F N, WONG K K, WAN AHMAD W A, et al. Anti-cyclic citrullinated peptide antibody is highly associated with rheumatoid factor and radiological defects in rheumatoid arthritis patients [J]. *Medicine*, 2019, 98(12): e14945.
- [13] VOS I, VAN MOL C, TROUW L A, et al. Anti-citrullinated protein antibodies in the diagnosis of rheumatoid arthritis (RA): diagnostic performance of automated anti-CCP-2 and anti-CCP-3 antibodies assays [J]. *Clinical rheumatology*, 2017, 36(7): 1487-1492.
- [14] PRUIJN G J, WIJK A, VAN VENROOIJ W J. The use of citrullinated peptides and proteins for the diagnosis of rheumatoid arthritis [J]. *Arthritis Research & Therapy*, 2010, 12(1): 203.

收稿日期: 2020-05-13

修回日期: 2020-06-25