

恶性黑色素瘤组织中 circRNA_0020710 和 circRNA_0079593 的水平表达及其临床价值

张晓宇, 张亚茹, 张莹, 蒋志芳, 刘惠敏 (保定市第二中心医院检验科, 河北涿州 072750)

摘要: **目的** 探讨环状核糖核酸 (circular RNA, circRNA) _0020710 及环状核糖核酸 (circular RNA, circRNA) _0079593 在恶性黑色素瘤组织中的表达及其临床价值。**方法** 选取2019年1月~2022年3月保定市第二中心医院收治的61例恶性黑色素瘤患者, 采用实时荧光定量PCR法检测恶性黑色素瘤组织及正常组织 circRNA_0020710 及 circRNA_0079593 表达水平, 并分析 circRNA_0020710 及 circRNA_0079593 表达水平与恶性黑色素瘤患者临床特征的关系。应用受试者工作特征 (ROC) 曲线分析 circRNA_0020710 及 circRNA_0079593 对恶性黑色素瘤诊断及预测淋巴结转移的价值。**结果** 与正常组织相比, 恶性黑色素瘤组织 circRNA_0020710 (4.95 ± 2.37 vs 1.84 ± 0.92) 及 circRNA_0079593 (2.70 ± 1.15 vs 0.91 ± 0.34) 表达水平均明显升高, 差异具有统计学意义 ($t=18.946, 15.248$, 均 $P<0.001$)。恶性黑色素瘤患者 circRNA_0020710 及 circRNA_0079593 表达水平升高与组织分级Ⅲ~Ⅳ级、肿瘤部位、低分化及淋巴结转移有关 ($t=9.620 \sim 20.713$, 均 $P<0.001$)。ROC 曲线显示, circRNA_0020710 及 circRNA_0079593 诊断恶性黑色素瘤及预测淋巴结转移的曲线下面积分别为 0.847 (95%CI: $0.787 \sim 0.905$), 0.806 (95%CI: $0.748 \sim 0.864$), 0.887 (95%CI: $0.829 \sim 0.948$) 和 0.842 (95%CI: $0.793 \sim 0.907$), 其敏感度和特异度均较好。**结论** circRNA_0020710 及 circRNA_0079593 水平在恶性黑色素瘤组织中明显升高, 与患者临床特征有关, 可作为该病诊断及病情判断的分子标志物。

关键词: 恶性黑色素瘤; 环状核糖核酸_0020710; 环状核糖核酸_0079593

中图分类号: R739.5; R730.43 文献标识码: A 文章编号: 1671-7414 (2023) 05-090-04

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2023.05.017

Expression and Clinical Value of circRNA_0020710 and circRNA_0079593 in Malignant Melanoma Tissues

ZHANG Xiaoyu, ZHANG Yaru, ZHANG Ying, JIANG Zhifang, LIU Huimin

(Department of Clinical Laboratory, the Second Central Hospital of Baoding, Hebei Zhuozhou 072750, China)

Abstract: **Objective** To investigate the expression and clinical value of circular RNA (circRNA) _0020710 and circular RNA (circRNA) _0079593 in malignant melanoma tissues. **Methods** 61 patients with malignant melanoma admitted to the Second Central Hospital of Baoding from January 2019 to March 2022 were selected. The levels of circRNA_0020710 and circRNA_0079593 in malignant melanoma tissues and normal tissues were detected by real-time PCR. Analyze the relationship between the expression of circRNA_0020710 and circRNA_0079593 levels and the clinical characteristics of malignant melanoma patients. The ROC curve was used to analyze the value of circRNA_0020710 and circRNA_0079593 in the diagnosis and prediction of lymph node metastasis of malignant melanoma. **Results** The levels of circRNA_0020710 (4.95 ± 2.37 vs 1.84 ± 0.92) and circRNA_0079593 (2.70 ± 1.15 vs 0.91 ± 0.34) in malignant melanoma tissues were significantly higher than those in normal tissues ($t=18.946, 15.248$, all $P<0.001$). The increased expression levels of circRNA_0020710 and circRNA_0079593 in malignant melanoma patients were associated with tissue grade Ⅲ~Ⅳ, tumor location, low differentiation and lymph node metastasis ($t=9.620 \sim 20.713$, all $P<0.001$). ROC curve showed that the areas under the curve of circRNA_0020710 and circRNA_0079593 for diagnosing malignant melanoma and predicting lymph node metastasis were 0.847 (95%CI: $0.787 \sim 0.905$), 0.806 (95%CI: $0.748 \sim 0.864$), 0.887 (95%CI: $0.829 \sim 0.948$) and 0.842 (95%CI: $0.793 \sim 0.907$), respectively, with good sensitivity and specificity. **Conclusion** The levels of circRNA_0020710 and circRNA_0079593 were significantly increased in malignant melanoma tissues, which were related to the clinical characteristics of patients. It can be used as molecular markers for the diagnosis and diagnosis of the disease.

Keywords: malignant melanoma; circular RNA_0020710; circular RNA_0079593

恶性黑色素瘤是一种恶性程度较高、预后较差的皮肤科肿瘤^[1]。由于缺乏对致癌基因的了解和鉴定, 使得恶性黑色素瘤的早期诊断及治疗存在局限性。近年来研究发现, 环状核糖核酸 (circular

RNA, circRNA) 在恶性黑色素瘤组织和正常组织中具有显著性差异表达, 参与恶性黑色素瘤的发生发展, 可能为该病的诊断及靶向治疗带来帮助^[2-3]。以往的研究指出, circRNA_0020710 及 circRNA_0079593 在恶性黑色素瘤中存在异常表达, 参与疾病的发生发展过程, 在恶性黑色素瘤的早期发现及指导治疗等方面均具有重要意义^[4-5]。由此我们推测, circRNA_0020710 及 circRNA_0079593 在恶性黑色素瘤中发挥关键作用, 可能是恶性黑色素瘤的潜在分子标志物。然而, 关于 circRNA_0020710 及 circRNA_0079593 是否可作为预测恶性黑色素瘤发生及疾病进展的生物标志物尚未清楚。因此, 本研究通过检测恶性黑色素瘤组织 circRNA_0020710 及 circRNA_0079593 的表达, 分析其诊断恶性黑色素瘤及预测淋巴结转移的价值, 旨在为该病的诊疗提供帮助。

1 材料与方法

1.1 研究对象 61 例皮肤恶性黑色素瘤患者选自 2019 年 1 月 ~ 2022 年 3 月保定市第二中心医院, 男性 37 例, 女性 24 例, 年龄 35 ~ 72 (55.62 ± 10.18) 岁。纳入标准: ①符合中国恶性黑色素瘤规范化病理诊断专家共识 (2017 年版)^[6]; ②>18 岁, 行手术切除术, 有完整临床资料和结果。排除标准: ①已接受过其他方法治疗; ②并发免疫性疾病、感染性疾病及其他恶性肿瘤者。22 例患者发生淋巴结转移, 39 例患者无淋巴结转移; 组织学分级, 41 例 I ~ II 级, 20 例 III ~ IV 级; 肿瘤部位: 36 例四肢和躯干 (肢端), 25 例消化道、鼻和泌尿系黏膜 (非肢端); 分化程度: 34 例中高分化, 27 例低分化。

1.2 仪器和试剂 ABI 7500 型荧光定量 PCR 仪 (美国 ABI 公司); 逆转录试剂盒, PCR 试剂盒和 Trizol 试剂盒 (Qiagen 公司); 高速冷冻离心机 (Eppendorf 公司)。

1.3 方法 采集恶性黑色素瘤组织和正常组织 (取距病灶 >2cm 的正常皮肤组织), 使用 Trizol 试剂

提取组织总 RNA (将组织样本置于液氮内研磨, 每 50 ~ 100mg 样本加 Trizol 1ml), 置于 -80 °C 保存待检。circRNA_0020710 及 circRNA_0079593 检测: circRNA_0020710 引物 (上游: 5'-AGCACTGC TTGATGCTCGAACTA-3', 下游: 5'-TATCGCCTAC GAGTACTACTG-3'), circRNA_0079593 引物 (上游: 5'-AGACTAGCTATCTGATGAGAATA-3', 下游: 5'-TACACGGTACAGCTCAATGTG-3')。以甘油醛 3-磷酸脱氢酶为内参基因 (上游: 5'-TCAGCTG ATGCTAGGAGCGTAT-3', 下游: 5'-ACGACTGG CACTGTTACGCT-3'), 用实时荧光定量聚合酶链反应 (RT-PCR) 技术检测 circRNA。反应条件为: 95 °C 预变性 5min (1 个循环); 95 °C 变性 30s, 60 °C 退火 30s, 72 °C 延伸 60s, 40 个循环。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算 circRNA 表达水平。

1.4 统计学分析 采用 SPSS20.0 统计软件分析, 计量资料以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间比较采用 *t* 检验。应用受试者工作特征 (ROC) 曲线分析 circRNA_0020710 及 circRNA_0079593 诊断恶性黑色素瘤及预测淋巴结转移的价值。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 恶性黑色素瘤组织中 circRNA_0020710 及 circRNA_0079593 表达 恶性黑色素瘤组织中 circRNA_0020710 及 circRNA_0079593 表达水平均明显高于正常组织 (4.95 ± 2.37 vs 1.84 ± 0.92, 2.70 ± 1.15 vs 0.91 ± 0.34), 差异具有统计学意义 ($t = 18.946$, 15.248, 均 $P < 0.001$)。

2.2 circRNA_0020710 及 circRNA_0079593 表达与恶性黑色素瘤患者的临床特征 见表 1。恶性黑色素瘤患者 circRNA_0020710 及 circRNA_0079593 表达水平升高与组织分级 III ~ IV 级、肿瘤部位、低分化及淋巴结转移有关, 差异具有统计学意义 (均 $P < 0.001$)。

表 1 circRNA_0020710 及 circRNA_0079593 表达水平与恶性黑色素瘤患者临床特征的关系 ($\bar{x} \pm s$)

类别	<i>n</i>	circRNA_0020710	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值	circRNA_0079593	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
年龄 (岁)	< 55	28	4.74 ± 2.28	1.214	2.60 ± 1.10	1.164	0.173
	≥ 55	33	5.21 ± 2.46		2.86 ± 1.24		
性别	男	37	5.07 ± 2.41	1.136	2.65 ± 1.08	0.984	0.251
	女	24	4.82 ± 2.30		2.78 ± 1.20		
组织分级	I ~ II 级	41	3.87 ± 1.96	16.712	2.15 ± 0.98	13.328	<0.001
	III ~ IV 级	20	6.35 ± 3.46		3.60 ± 1.76		
肿瘤部位	肢端	36	4.61 ± 2.08	9.620	2.36 ± 1.04	11.106	<0.001
	非肢端	25	5.62 ± 2.74		3.48 ± 1.71		
分化程度	中高分化	34	4.09 ± 1.94	15.708	2.40 ± 1.03	10.415	<0.001
	低分化	27	6.14 ± 3.18		3.42 ± 1.68		
溃疡	有	29	5.30 ± 2.51	1.630	2.92 ± 1.28	1.418	0.106
	无	32	4.67 ± 2.24		2.56 ± 1.05		
淋巴结转移	有	22	6.80 ± 3.70	20.713	4.02 ± 1.81	18.635	<0.001
	无	39	3.26 ± 1.55		1.64 ± 0.72		

2.3 circRNA_0020710 及 circRNA_0079593 对恶性黑色素瘤的诊断价值 见表2和图1。circRNA_0020710 及 circRNA_0079593 诊断恶性黑色素瘤的

表2 circRNA_0020710 及 circRNA_0079593 对恶性黑色素瘤的诊断价值

项目	最佳截断值	AUC (95%CI)	敏感度 (%)	特异度 (%)	阳性预测值 (%)	阴性预测值 (%)
circRNA_0020710	3.15	0.847 (0.787 ~ 0.905)	84.6	82.4	85.0	82.5
circRNA_0079593	1.78	0.806 (0.748 ~ 0.864)	81.0	77.5	81.3	77.2

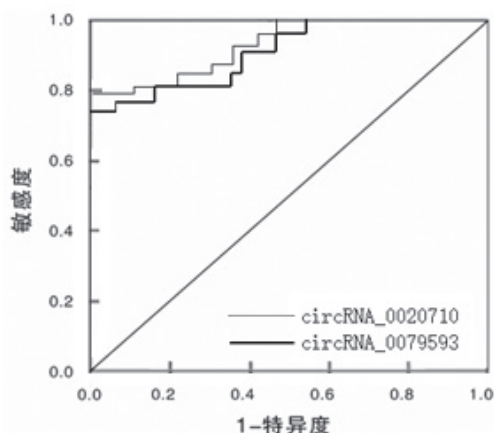


图1 circRNA_0020710 及 circRNA_0079593 诊断恶性黑色素瘤的 ROC 曲线

2.4 circRNA_0020710 及 circRNA_0079593 预测淋巴结转移的价值 见表3和图2。circRNA_0020710

表3 circRNA_0020710 及 circRNA_0079593 预测淋巴结转移的价值 (%)

项目	最佳截断值	AUC (95%CI)	敏感度 (%)	特异度 (%)	阳性预测值 (%)	阴性预测值 (%)
circRNA_0020710	4.83	0.887 (0.829 ~ 0.948)	87.4	85.7	82.8	90.0
circRNA_0079593	2.75	0.842 (0.793 ~ 0.907)	84.0	80.8	84.2	81.6

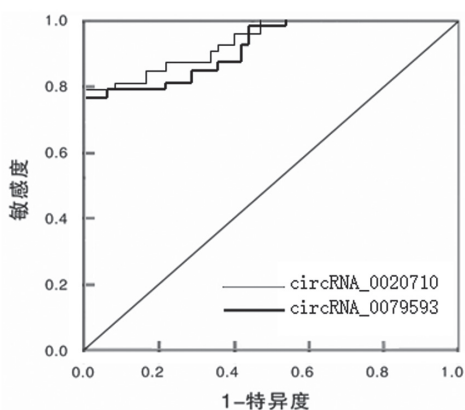


图2 circRNA_0020710 及 circRNA_0079593 预测淋巴结转移的 ROC 曲线

本研究显示,与正常组织比较,恶性黑色素瘤组织 circRNA_0020710 及 circRNA_0079593 表达水平均明显升高,提示 circRNA_0020710 及 circRNA_0079593 在恶性黑色素瘤中呈高表达,其可能是促进恶性黑色素瘤发生的主要基因之一。KHORSANDI 等^[10]研究表明,一些 circRNA_0025039 在恶性黑

最佳截断值为 3.15 和 1.78,其诊断恶性黑色素瘤的曲线下面积均大于 0.800,敏感度分别为 84.6% 和 81.0%,特异度分别为 82.4% 和 77.5%。

及 circRNA_0079593 预测淋巴结转移的最佳截断值为 4.83 和 2.75,其预测淋巴结转移的曲线下面积均大于 0.835,其敏感度分别为 87.4% 和 84.0%,特异度分别为 85.7% 和 80.8%。

3 讨论

恶性黑色素瘤是一种侵袭能力强、恶性程度高,极易发生淋巴结及致死率高的皮肤癌,严重威胁人类健康^[7]。最近有报道称,一些 circRNA 在恶性黑色素瘤中有差异表达,细胞或组织特异性表达使其成为合适的候选诊断或治疗生物标志物^[8]。CONG 等^[8]研究指出, circRNA_0020710 作为一种致癌基因,在恶性黑色素瘤中调控异常,并参与了癌变过程,对恶性黑色素瘤的发生发展影响较大。另有研究认为, circRNA_0079593 参与恶性黑色素瘤细胞的增殖、迁移和侵袭,可能在恶性黑色素瘤的癌变过程及治疗方面发挥重大的作用,临床应用前景较好^[9]。

色素瘤组织中显著上调,在恶性黑色素瘤的增殖、侵袭、转移和迁移中发挥关键作用,参与恶性黑色素瘤癌变的进展。本研究组织分级Ⅲ~Ⅳ级、肿瘤部位非肢端、低分化和淋巴结转移的患者, circRNA_0020710 及 circRNA_0079593 表达水平均显著增加,提示 circRNA_0020710 及 circRNA_0079593 表达水平升高与疾病进展有关,其高表达可能促进恶性黑色素瘤的进展过程。MONTICO 等^[11]研究发现,恶性黑色素瘤组织和细胞中 circRNA_0084043 显著上调, circRNA_0084043 的高表达促进细胞增殖、迁移和生长,在恶性黑色素瘤的发生发展中起重要作用。

本研究 circRNA_0020710 及 circRNA_0079593 单项指标对恶性黑色素瘤诊断及其预测淋巴结转移均具有一定价值,其敏感度和特异度均较好,说明 circRNA_0020710 及 circRNA_0079593 可作为恶性黑色素瘤的诊断及预测淋巴结转移的分子标志物,对疾病的诊断及预测淋巴结转移有很好的帮助。HAO 等^[12]研究发现,与正常对照组相比, (下转第 179 页)

- Immunol Res, 2020, 8(8): 1099-1111.
- [19] 杨明新, 姚梦, 魏名一, 等. 支气管哮喘患儿血清半乳糖凝集素 3、类胰蛋白酶、25-羟维生素 D3 与肺功能和生活质量的相关性分析 [J]. 现代生物医学进展, 2022, 22(6): 1112-1115, 1120.
- YANG Mingxin, YAO Meng, WEI Mingyi, et al. Correlation analysis of serum galectin 3, tryptase, 25-hydroxyvitamin D3 and lung function and quality of life in children with bronchial asthma [J]. Progress in Modern Biomedicine, 2022, 22(6): 1112-1115, 1120.
- [20] 李颖, 任炳臣, 韩晓庆, 等. 支气管哮喘患者血清 microRNA-145 水平表达与肺功能、气道重塑及 Th1/Th2 平衡的关系分析 [J]. 现代检验医学杂志, 2021, 36(5): 133-137, 179.
- LI Ying, REN Bingchen, HAN Xiaoqing, et al. Relationship between serum microRNA-145 expression with lung function, airway remodeling and Th1/Th2 Balance in patients with bronchial asthma [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2021, 36(5): 133-137, 179.
- [21] 李晓刚, 邓巧妮, 王军焕, 等. 儿童哮喘患者外周血 ILC2 细胞和 Th2 型细胞相关因子水平变化及与临床相关性研究 [J]. 现代检验医学杂志, 2020, 35(6): 72-77.
- LI Xiaogang, DENG Qiaoni, WANG Junhuan, et al. Changes of ILC2 cells and Th2 cell related factors in peripheral blood of children with asthma and their clinical relevance [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2020, 35(6): 72-77.
- 收稿日期: 2023-01-12
修回日期: 2023-04-28

(上接第 92 页) circRNA_0079593 在恶性黑色素瘤组织和细胞系中显著高表达, 其过表达显著提高了恶性黑色素瘤细胞的增殖率和侵袭能力, 可能是恶性黑色素瘤新的生物标志物。另有研究认为, circRNA_0079593 作为恶性黑色素瘤发生的关键调控因子, 参与疾病的发生发展、侵袭和转移, 可作为恶性黑色素瘤潜在的诊断、治疗和预测生物标志物^[13]。

综上所述, 恶性黑色素瘤组织中 circRNA_0020710 及 circRNA_0079593 水平明显升高, 与组织分级 III ~ IV 级、肿瘤部位、低分化及淋巴结转移有关, 其对恶性黑色素瘤诊断及预测淋巴结转移均具有很好的价值, 可作为该病诊断及病情判断的分子标志物。但本研究病例来源较单一, 样本量较少, 未来仍需更多的临床研究进一步证实。

参考文献:

- [1] BROWN R V S, HILLESHEIM D, TOMASI Y T, et al. Mortality from malignant skin melanoma in elderly Brazilians: 2001 to 2016 [J]. An Bras Dermatol, 2021, 96(1): 34-39.
- [2] KHORSANDI K, ESFAHANI H, ABRAHAMSE H. Characteristics of circRNA and its approach as diagnostic tool in melanoma [J]. Expert Rev Mol Diagn, 2021, 21(10): 1079-1094.
- [3] MECOZZI N, VERA O, KARRETH F A. Squaring the circle: circRNAs in melanoma [J]. Oncogene, 2021, 40(37): 5559-5566.
- [4] WEI Chuanyuan, ZHU Mengxuan, LU Nanhang, et al. Circular RNA circ_0020710 drives tumor progression and immune evasion by regulating the miR-370-3p/CXCL12 axis in melanoma [J]. Molecular Cancer, 2020, 19(1): 84.
- [5] ZHAO Feifei, JIA Zhifeng, FENG Yingfa, et al. Circular RNA circ_0079593 enhances malignant melanoma progression by the regulation of the miR-573/ABHD2 axis [J]. Journal of Dermatological Science, 2021, 102(1): 7-15.
- [6] 《中国黑色素瘤规范化病理诊断专家共识 2017 年版》编写组. 中国黑色素瘤规范化病理诊断专家共识 (2017 年版) [J]. 中华病理学杂志, 2018, 47(1): 7-13.
- Writing Group of Expert Consensus on Standardized Pathological Diagnosis of Melanoma China (2017 Edition). Expert consensus on standardized pathological diagnosis of melanoma China (2017 Edition) [J]. Chinese Journal of Pathology, 2018, 47(1): 7-13.
- [7] 边鹊桥, 王军. 肢端黑子国内首报 [J]. 临床皮肤科杂志, 2018, 47(7): 430-432.
- BIAN Queqiao, WANG Jun. Acral lentigo: the first case reported in China [J]. Journal of Clinical Dermatology, 2018, 47(7): 430-432.
- [8] CONG Lele, YANG Hongfeng, SUN Hongyan, et al. Role of circular RNAs in the pathogenesis of malignant melanoma [J]. Critical Reviews in Eukaryotic Gene Expression, 2022, 32(3): 21-30.
- [9] LU Jiajing, LI Ying. Circ_0079593 facilitates proliferation, metastasis, glucose metabolism and inhibits apoptosis in melanoma by regulating the miR-516b/GRM3 axis [J]. Molecular and Cellular Biochemistry, 2020, 475(1/2): 227-237.
- [10] KHORSANDI K, ESFAHANI H, ABRAHAMSE H. Characteristics of circRNA and its approach as diagnostic tool in melanoma [J]. Expert Rev Mol Diagn, 2021, 21(10): 1079-1094.
- [11] MONTICO B, GIURATO G, PECORARO G, et al. The pleiotropic roles of circular and long noncoding RNAs in cutaneous melanoma [J]. Molecular Oncology, 2022, 16(3): 565-593.
- [12] HAO Y L, WANG X Q. Circ-0079593 promotes proliferation and migration of melanoma cells by sponging microRNA-433 and elevating EGFR expression [J]. European Review for Medical and Pharmacological Sciences, 2021, 25(2): 779-786.
- [13] TANG Keyun, ZHANG Hanlin, LI Yaqi, et al. Circular RNA as a potential biomarker for melanoma: A systematic review [J]. Front Cell Dev Biol, 2021, 9: 638548.
- 收稿日期: 2022-04-12
修回日期: 2023-06-19