

环状 RNA 在肿瘤中的研究进展

郝文静, 路 丹

(哈尔滨医科大学附属第二医院, 黑龙江 哈尔滨 150081)

摘 要:环状 RNA(circular RNAs, circRNAs)是长链非编码 RNAs,与线性 RNAs 不同,它是共价闭合环路,没有 5'、3'极性和腺苷的尾巴。它们具有种类丰富、进化保守、在细胞质中相对稳定的特性。circRNAs 的这些特性带来许多潜在的功能,如作为微小 RNA(microRNA, miRNA)的海绵,结合 RNA 相关蛋白质形成 RNA-蛋白质复合物,然后调节基因的转录。重要的是, circRNAs 突变或异常表达与各种肿瘤的发生、发展密切相关,可以作为肿瘤的分子标志物或潜在治疗靶点,为肿瘤的早期诊断、疗效评价、预后预测和肿瘤基因治疗提供一个新的靶点。

主题词:环状 RNA;微小 RNA;肿瘤发生

中图分类号:R730.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1671-170X(2019)03-0243-04

doi:10.11735/j.issn.1671-170X.2019.03.B014

Research Progress of Circular RNA in Tumor

HAO Wen-jing, LU Dan

(The Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150081, China)

Abstract: Circular RNAs (circRNAs), unlike linear RNAs, are long, non-coding RNAs characterized by covalently closed continuous loop without 5' to 3' polarity and polyadenylated tail. The circRNAs are enormously abundant, evolutionally conserved and relatively stable in cytoplasm. These features confer numerous potential functions to circRNAs, such as acting as microRNA (miRNA) sponges, binding to RNA associated proteins to form RNA-protein complexes and then regulating gene transcription. Importantly, mutation or abnormal expression of circRNAs are closely related to the occurrence and development of various tumors. It may provide a molecular marker or potential target for early diagnosis, efficacy evaluation, prognosis and gene therapy of cancers.

Subject words: circular RNA; microrna; oncogenesis

环状 RNA(circular RNAs, circRNAs)在 1976 年首次被 Sanger 等发现,作为类病毒单链共价闭合环状 RNA 分子可使某些高等植物致病,它是长链非编码 RNAs,与线性 RNAs 不同,它是共价闭合环路,无 5'、3'极性和腺苷的尾巴,所以不能被核糖核酸酶分解。虽然在 19 世纪 70 年代后的数十年有少量 circRNAs 被发现,但一直被认为是错误拼接产物,未引起重视,随着高通量测序和生物信息学的发展,发现其在哺乳动物细胞中广泛存在,并且与哺乳动物的生命过程密切相关,具有很多潜在的功能,例如,作为微 RNAs(microRNAs, miRNAs)海绵^[1]、调节亲本基因的表达^[2]、调节可变剪接^[3]和与 RNA 结合蛋白相互作用、翻译蛋白质等^[4]。此外,它还具有种类丰

富、在细胞质中相对稳定、组织特异性等特点^[5]。近期研究发现,环状 RNA 表达与患者临床特征相关,在恶性表型的许多方面起着至关重要的作用,包括细胞周期、细胞凋亡、血管形成、侵袭;并且作为 miRNAs 海绵参与转移,提示 circRNAs 可能参与肿瘤发生、发展的过程。研究发现 circRNAs 可以被分泌到细胞外环境中,并且可以通过非侵入性方法(例如粪便、血液和其他体液取样)来鉴定和测量,可以作为肿瘤潜在的分子标志物,为肿瘤的早期诊断、疗效评价、预后预测和肿瘤基因治疗提供一个新的靶点^[6]。在探索 circRNAs 的过程中,研究者陆续发现环状 RNA-7(circular RNA sponge for miR-7, ciRS-7)、睾丸特异性的雄性性别决定基因转录物(testis-specific sense transcript of the male sex-determining gene, circ-SRY)、环状 RNA-ITCH(circular RNA ITCH, circ-ITCH)可以作为 miRNA 海绵,并且与肿瘤有关。

通信作者:路丹,副主任医师,博士;哈尔滨医科大学附属第二医院肿瘤内科,黑龙江省哈尔滨市南岗区保健路(150081);E-mail: ludan1972@medmail.com.cn

收稿日期:2017-09-08; **修回日期:**2017-10-16

1 环状 RNA-7 在肿瘤中的作用

新的环状转录物 ciRS-7 是首先作为 miRNA 海绵的环状 RNA, 其具有超过 70 个 miR-7 的结合位点, 它可以通过有选择地结合 miR-7, 并且在阿格蛋白 (argonaute, AGO) 的帮助下, 抑制 miR-7 生物功能, 从而提高表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR) 表达^[7], EGFR 过表达与疾病发展、化疗抵抗、预后不良有关, 并且与一系列实体瘤有关^[8,9]。研究表明, ciRS-7 通过其海绵作用, 可以作为肿瘤的潜在标志物和治疗靶点, 促进肿瘤的发生与发展。

1.1 ciRS-7 作为肿瘤潜在标志物和治疗靶点

研究表明, 在结直肠癌中 ciRS-7 的表达显著性上调, 其过度表达与患者的预后不良相关, ciRS-7 为总体生存率的独立危险因素, 过表达可以抑制 miR-7 并且随后激活 EGFR 和 Raf1 癌基因。所以, ciRS-7 可作为结直肠癌潜在的治疗靶点, 通过抑制 ciRS-7 来降低 EGFR 和 Raf1 基因的表达, 同时也是结直肠癌潜在的预后标志物^[10]。在肝癌中, ciRS-7 也可以作为 miR-7 海绵来抑制其活性, ciRS-7 是肝脏微血管浸润独立因素之一, 高表达与肝脏微血管浸润和甲胎蛋白水平有关, 与肝癌细胞的退化有相关性, 可能是肝脏微血管浸润潜在标志物和治疗靶点^[11]。

1.2 ciRS-7 促进肿瘤的发生与发展

在胃癌中, Zhao 等^[12]发现 miR-7 可以有效地与胰岛素样生长因子 1 受体 (insulin-like growth factor-1 receptor, IGF1R) 致癌基因结合, 通过抑制 IGF1R 的表达来抑制胃癌发生、转移和侵袭过程, 而 ciRS-7 则通过抑制 miR-7 的表达来促进胃癌的发生、转移和侵袭过程。在宫颈癌中, ciRS-7 可以竞争性抑制 miR-7 的活性, 促进致癌基因的表达 (如表皮生长因子受体和抑制细胞凋亡蛋白), 而抑制抑癌基因的表达, 如 kruppel 样因子 4 (kruppel-like factor 4, KLF4), 从而促进宫颈癌的发生与发展^[13]。

2 circ-ITCH 在肿瘤中的作用

circ-ITCH 与 ITCH 的 3'UTR 共享一些 miRNAs 结合位点, 包括 miR-7、miR-17、miR-214、miR-128 和

miR-216b。研究表明, 在食管癌中, circ-ITCH 作为致癌基因 miR-7、miR-17 和 miR-214 的海绵, 抑制其活性, 从而增加 ITCH 的表达, ITCH 能够促使磷酸化的 Dvl-2 蛋白泛素化而抑制 Wnt/ β -Catenin 信号通路, 并能够阻止癌基因 c-myc 的表达, 进而阻止食管鳞状细胞癌的形成^[14]。这些结果在结直肠癌中也已得到证实。在肺癌中, circ-ITCH 依然可以作为 miR-7 的海绵来促进 ITCH 的表达, 以抑制 Wnt/ β -Catenin 通路的活性, 抑制肺癌进展, 但也有研究表明 Circ-ITCH 在肺癌组织中显著性下调^[15]。

3 circ-SRY 在肿瘤中的作用

circ-SRY 是在小鼠睾丸中特异性表达环状 RNA, 具有 16 个 miRNA-138 的结合位点^[16,17]。研究表明, circ-SRY 在肿瘤的发生、发展过程中具有双重作用。例如, 在胆管癌中, circ-SRY 可通过抑制 miR-138 的表达, 进而减少 Ras 同族体基因家族成员 C (Ras homolog gene family, member C, RhoC) 的 mRNA 和蛋白的表达, 导致 RhoC/p-ERK/MMP-2/MMP-9 通路上调, 促进胆管癌细胞的增殖、转移和侵袭^[18]。由于 miR-138 可以直接靶向抑制扭曲碱性螺旋结构转录因子 2 基因 (twist basic helix-loop-helix transcription factor 2 gene, TWIST2), 促进结直肠癌的转移和侵袭^[19], 并且可以通过靶向组蛋白家族 2 变种 H2AX (histone family 2A variant, member X), 参与小细胞肺癌细胞 DNA 损伤反应, 它的上调可以增加肺癌的放射敏感度, 而作为 miR-138 海绵的 circ-SRY, 则可通过抑制 miR-138 表达, 抑制或促进肿瘤的发生发展^[20,21]。

4 其他 circRNAs 在肿瘤中的作用

在肝癌组织中, Li 等^[22]发现高表达的 hsa_circ_0005075 与肝癌的进展有关, 基因互作分析表明其能与 miR-93-3p、miR-23b-5p、miR-23a-5p、miR-581 及相应的 mRNA 相互作用, 并与肝癌的黏附作用有关, 可以作为肝癌新型生物标志物; 而 Liu 等^[23]发现, hsa_circ_0001649 的表达显著性下调, 其表达与癌栓的形成和肿瘤大小有关, 通过抑制基质金属蛋白酶 (matrix metalloprotein, MMP) 家族中的基质金

属蛋白酶-13(matrix metalloprotein-13,MMP-13)、基质金属蛋白酶-10(matrix metalloprotein-10,MMP-10)和基质金属蛋白酶(matrix metalloprotein-9,MMP-9)的表达,抑制肿瘤转移和侵袭。

在结直肠癌组织中,Xie等^[24]发现 circRNA_001569 可以靶向调节 miR-145 的表达,调节其下游靶基因 BAG4、E2F5、FMNL2,促进结直肠癌的增殖和浸润;随后 Guo 等^[25]发现 hsa_circ_0000069 的表达明显上调,其表达与年龄和 TNM 分期有关,与性别、肿瘤大小和分化无关,若敲除 hsa_circ_0000069,则能抑制细胞增殖、迁移和侵袭,并在体外研究中诱导 G₀/G₁ 期细胞周期阻滞,证明了 hsa_circ_0000069 是肿瘤进展中的重要调节因子。而最新研究表明 circular BANP 的表达明显上调,si-circ-BANP 转染阻碍了 p-Akt 的表达,已经有研究证明 PI3K/Akt 途径在调节结直肠癌细胞周期和细胞增殖中起关键作用。因此,推测 circular BANP 可以通过 PI3K/Akt 途径增强结直肠癌细胞的生长,但需要进一步研究来验证 circular BANP 调节细胞生长的机制^[26]。

在喉癌组织中,Zhou 等^[27]发现高表达的 Hsa_circRNA_100855 和低表达的 hsa_circRNA_104912 与喉癌颈部淋巴结转移和临床分期密切相关,qRT-PCR 技术证实 T₃₋₄ 期、伴颈部淋巴结转移、低分化癌、声门上喉癌或临床晚期的患者改变更为明显,可以作为喉癌的潜在生物标志物和治疗的靶点。

在食管癌组织中,Xia 等^[28]发现 has_circ_0067934 的表达明显上调,其表达水平与肿瘤的分化程度、IT 分期、TNM 分期 I~II 阶段有关,用 siRNA 沉默体外增殖的 hsa_circ_0067934 可以抑制食管癌细胞转移并且使细胞周期进程受阻。

在胃癌组织中,Li 等^[29]发现 hsa_circ_0001649 表达水平在胃癌术后患者的血清中上调,可以作为无创检测胃癌的生物标志物。Chen 等^[30]发现 hsa_circ_0000190 的表达水平与肿瘤直径、淋巴结转移、远处转移、TNM 分期和 CA199 表达水平有关。Li 等^[31]发现 hsa_circ_0000096 通过调节细胞周期蛋白 D1、周期蛋白依赖激酶-6(cyclin-dependent kinase 6, CDK6)、基质金属蛋白酶-2(matrix metalloprotein-2, MMP-2)和基质金属蛋白酶-9(matrix metalloprotein-9, MMP-9)的表达,影响胃癌细胞的生长和转移。

5 总结与展望

CircRNAs 可以作为竞争性内源 RNAs 或 miRNAs 海绵,调节可变剪接或转录,调节亲本基因的表达,通过 RNA 转运调节 RNA 结合蛋白和 RNA 的局部浓度。这些分子作为 miRNAs 海绵,在肿瘤进展中的主要作用可能是致癌基因和/或抑癌基因的基因表达调控,然而,关于肿瘤中的 circRNAs 和 miRNAs 之间的正或负关系的分子机制了解甚少,寻找肿瘤的 circRNAs 生物标志物是需要进一步研究的重要课题。随着高通量测序技术、基因学和生物信息学的发展,越来越多的 circRNAs 被发现,可以确定其是肿瘤发生发展与治疗的重要因子,然而,很多研究仅仅证实 circRNAs 在肿瘤组织与血清中异常调节,与肿瘤发生、发展的具体机制有待进一步研究。

参考文献:

- [1] Wang K, Long B, Liu F, et al. A circular RNA protects the heart from pathological hypertrophy and heart failure by targeting miR-223 [J]. *European Heart J*, 2016, 37 (33): 2602-2611.
- [2] Li F, Zhang L, Li W, et al. Circular RNA ITCH has inhibitory effect on ESCC by suppressing the Wnt/ β -catenin pathway[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(8):6001-6013.
- [3] Li M, Ding W, Sun T, et al. Biogenesis of circular RNAs and their roles in cardiovascular development and pathology[J]. *FEBS J*, 2018, 285(2):220-232.
- [4] Du WW, Yang W, Liu E, et al. Foxo3 circular RNA retards cell cycle progression via forming ternary complexes with p21 and CDK2[J]. *Nucleic Acids Research*, 2016, 44 (6):2846-2858.
- [5] Han YN, Xia SQ, Zhang YY, et al. Circular RNAs: a novel type of biomarker and genetic tools in cancer[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(38):64551-64563.
- [6] Wang Y, Mo Y, Gong Z, et al. Circular RNAs in human cancer[J]. *Molecular Cancer*, 2017, 16(1):25.
- [7] Geng HH, Li R, Su YM, et al. The circular RNA Cdr1as promotes myocardial infarction by mediating the regulation of miR-7a on its target genes expression [J]. *PLoS One*, 2016, 11(3):e0151753.
- [8] Janbabai G, Oladi Z, Farazmandfar T, et al. The prognostic impact of EGFR, ErbB2 and MET gene amplification in human gastric carcinomas as measured by quantitative

- Real-TimePCR [J]. J Cancer Res a Clin oncol, 2015, 141(11):1945–1952.
- [9] Zhu L, Liu R, Zhang W, et al. Application of EGFR inhibitor reduces circulating tumor cells during transcatheter arterial embolization[J]. Clin Transl Oncol, 2018, 20(5): 639–646.
- [10] Weng W, Wei Q, Toden S, et al. Circular RNA ciRS-7-A promising prognostic biomarker and a potential therapeutic target in colorectal cancer[J]. Clinical Cancer Research, 2017, 23(14):3918–3928.
- [11] Xu L, Zhang M, Zheng X, et al. The circular RNA ciRS-7 (Cdr1as) acts as a risk factor of hepatic microvascular invasion in hepatocellular carcinoma[J]. J Cancer Res Clin Onco, 2017, 143(1):17–27.
- [12] Zhao X, Dou W, He L, et al. MicroRNA-7 functions as an anti-metastatic microRNA in gastric cancer by targeting insulin-like growth factor-1 receptor [J]. Oncogene, 2013, 32(11):1363–1372.
- [13] Peng L, Yuan XQ. The emerging landscape of circular RNA ciRS-7 in cancer (Review)[J]. Oncology Reports, 2015, 33(6):2669–2674.
- [14] Liu H, Yin J, Wang H, et al. FOXO3a modulates WNT/ β -catenin signaling and suppresses epithelial-to-mesenchymal transition in prostate cancer cells [J]. Cellular Signalling, 2015, 27(3):510–518.
- [15] Wan L, Zhang L, Fan K, et al. Circular RNA-ITCH suppresses lung cancer proliferation via inhibiting the Wnt/ β -Catenin pathway[J]. BioMed Research International, 2016, 2016(1):1579490.
- [16] Liu L, Wang J, Khanabdalil R, et al. Circular RNAs: isolation, characterization and their potential role in diseases [J]. RNA Biology, 2017, 14(12):1715–1721.
- [17] Guo JU, Agarwal V, Guo H. Expanded identification and characterization of mammalian circular RNAs [J]. Genome Biology, 2014, 15(7):409.
- [18] Wang Q, Tang H, Yin S. Downregulation of microRNA-138 enhances the proliferation, migration and invasion of cholangiocarcinoma cells through the upregulation of RhoC/p-ERK/MMP-2/MMP-9[J]. Oncology Reports, 2013, 29(5):2046–2052.
- [19] Long L, Huang G, Zhu H, et al. Down-regulation of miR-138 promotes colorectal cancer metastasis via directly targeting TWIST2 [J]. Journal of Translational Medicine, 2013, 11(1):1–10.
- [20] Yang H, Tang Y, Guo W, et al. Up-regulation of microRNA-138 induce radiosensitization in lung cancer cells[J]. Tumour Biol, 2014, 35(7):6557–6565.
- [21] Yang H, Luo J, Liu Z, et al. MicroRNA-138 regulates DNA damage response in small cell lung cancer cells by directly Targeting H2AX [J]. Cancer Investigation, 2015, 33(4):126–136.
- [22] Shang X, Li G, Liu H, et al. Comprehensive circular RNA profiling reveals That hsa_circ_0005075, a new circular RNA biomarker, is involved in hepatocellular carcinoma development[J]. Medicine, 2016, 95(22):e3811.
- [23] Qin M, Liu G, Huo X, et al. Hsa_circ_0001649: a circular RNA and potential novel biomarker for hepatocellular carcinoma[J]. Cancer Biomarkers, 2016, 16(1):161–169.
- [24] Xie H, Ren X, Xin S, et al. Emerging roles of circRNA_001569 targeting miR-145 in the proliferation and invasion of colorectal cancer [J]. Oncotarget, 2016, 7(18): 26680–26691.
- [25] Guo JN, Li J, Zhu CL, et al. Comprehensive profile of differentially expressed circular RNAs reveals that hsa_circ_0000069 is upregulated and promotes cell proliferation, migration, and invasion in colorectal cancer[J]. OncoTargets Ther, 2016, 9:7451–7458.
- [26] Zhu M, Xu Y, Chen Y. Circular BANP, an upregulated circular RNA that modulates cell proliferation in colorectal cancer[J]. Biomed Pharmacother, 2017, 88:138–144.
- [27] Xuan L, Qu L, Zhou H, et al. Circular RNA: a novel biomarker for progressive laryngeal cancer [J]. American Journal of Translational Research, 2016, 8(2):932–939.
- [28] Xia W, Qiu M, Chen R, et al. Circular RNA has_circ_0067934 is upregulated in esophageal squamous cell carcinoma and promoted proliferation [J]. Scientific Reports, 2016, 6:35576.
- [29] Li WH, Song YC, Zhang H, et al. Decreased expression of Hsa_circ_00001649 in gastric cancer and its clinical significance[J]. Disease Markers, 2017, 2017.
- [30] Chen S, Li T, Zhao Q, et al. Using circular RNA hsa_circ_0000190 as a new biomarker in the diagnosis of gastric cancer[J]. Clin Chim Acta, 2017, 466:167–171.
- [31] Li P, Chen H, Chen S, et al. Circular RNA 0000096 affects cell growth and migration in gastric cancer [J]. Br J Cancer, 2017, 116(5):626–633.