

# 环状 RNA 在肿瘤中的治疗进展

姚瑶 郭琳琅

作者单位: 510282 广州, 南方医科大学珠江医院病理科

通讯作者: 郭琳琅, Email: linlang@yahoo.com

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2016.04.015

**【摘要】** 环状 RNA (circRNA) 是一种大量存在于生物中的非编码 RNA, 因其特殊的环状结构得名。近年来发现, circRNA 具有高丰度性、稳定性、保守性的特点, 并且能够作为微小 RNA (miRNA) 的“海绵”、RNA 结合蛋白 (RBP) 以及转录调节功能参与到基因的表达调控中去, 从而对宫颈癌、食管癌、结肠癌等恶性肿瘤的发生发展起到重要作用。本文总结了 circRNA 与肿瘤方面的前沿及经典研究, 阐述了 circRNA 的生成、生物学功能、在肿瘤中的作用及临床治疗中的意义。

**【关键词】** 环状 RNA; 长链非编码 RNA; 恶性肿瘤; 临床治疗

恶性肿瘤是病死率极高的疾病之一, 在最新的 2012 年流行病学统计中, 全世界有 1.41 千万人新发恶性肿瘤疾病, 820 万人致死, 而中国新发恶性肿瘤病例约 358.6 万人, 死亡病例 218.7 万人<sup>[1-2]</sup>。所以, 肿瘤的发生发展及治疗一直是全世界的研究热点, 但是在肿瘤的预测和治疗等研究上还有很长的一段路要走。

非编码 RNA (ncRNA) 是一类不能编码蛋白质的 RNA 的总称, 根据大小可以分为两大类, 一类是小 RNA, 长度不超过 200 nt, 包括微小 RNA (miRNA), Piwi 蛋白相互作用 RNA (piRNA) 和核仁小分子 RNA (snoRNA), 另一类是长链 RNA, 长度大于 200 nt<sup>[3]</sup>。近年来, 大量报道 ncRNA 在生物的正常发育调控和疾病发生中起到重要作用, 并且发现 ncRNA 可以在表观遗传调控、转录调控以及转录后调控等多种层面来调控蛋白编码基因, 进而在肿瘤的预测、治疗、预后中具有重要意义<sup>[4-9]</sup>。

环状 RNA (circRNA) 于 20 世纪 70 年代就有学者在某些高等植物中发现, 但在其后的 20 年里, circRNA 一直被认为是没有明显生物学功能的 ncRNA, 是细胞内的“暗物质”<sup>[10-11]</sup>。但是随着第二代 RNA 测序的到来, 人们发现, circRNA 是区别于线性 RNA 的一类新型 RNA, 它的 3' 端和 5' 端是链接在一起的, 构成了具有闭合环状结构, 并且 circRNA 大量存在于真核转录组中<sup>[12-14]</sup>。circRNA 虽然还有很多未知需要我们探索, 但它在肿瘤研究中具有重要的未来前景。本文将就 circRNA 在肿瘤中的表达、发挥的功能、介导的通路、临床治疗及发展前景进行探讨。

## 1 circRNA 生成及生物学功能

目前 circRNA 的生成主要有两种模型: 套索驱动的环化和内含子驱动的环化, 又被称为外显子跳读和直接反向剪切。这两种模型生成 circRNA 的构成不同, 套索驱动的环化

由外显子构成的剪切受体和剪切供体共价结合, 再由剪切体切除内含子形成 circRNA; 而内含子驱动的环化由内含子互补配对结合构成, 是 circRNA 生成的主要方式<sup>[12, 15]</sup>。

circRNA 的生物学功能与 miRNA 有关。以竞争性抑制机制形成调控作用网络<sup>[16]</sup>。miRNA 是一类内生的、长度约 21 个左右核苷酸的小 RNA, 目前大量关于 miRNA 的研究证明, miRNA 可以作为参与调控基因表达的分子, 可以与靶基因转录体序列互补结合, 从而对肿瘤的发生发展有巨大作用<sup>[17-18]</sup>。而在 2013 年 Hansen 等<sup>[19]</sup>和 Memczak 等<sup>[13]</sup>发现, circRNA 在肿瘤中可以作为“海绵”来阻断及竞争性抑制 miRNA 来发挥作用, 因此 circRNA 可以作为内源性竞争 RNA 参与到肿瘤的发病 (或病理) 机制中。有研究发现环状 RNA-7 (ciR-7) 的序列上存在多于 60 个的保守结合位点与 miR-7 结合, 并且在细胞质中大量存在, 可以与细胞中超过 20 000 个 miR-7 结合, 从而影响了 miR-7 在细胞中的转录抑制功能<sup>[13, 20]</sup>。circRNA SRY 也被发现有 6 个结合位点, 从而作为 miR-138 “海绵”<sup>[20-21]</sup>。有研究者在哺乳动物中发现, circRNA 保守序列上和上千个 miRNA 存在匹配<sup>[22]</sup>。而已有大量实验证明 miRNA 可以转录或下调靶基因, 从而对肿瘤的发生发展具有重要作用<sup>[23-26]</sup>。

研究显示 circRNA 可以通过竞争性抑制 miRNA 来参与介导肿瘤的信号通路中去。例如在宫颈癌细胞中差异表达的 ciRS-7, 可以作为 miR-7 结合的海绵在肿瘤细胞中发挥生物学功能, 而 miR-7 可能促进基因  $\alpha$ -突触核蛋白 ( $\alpha$ -synuclein)、X 连锁凋亡抑制蛋白 (XIAP) 及表皮生长因子受体 (EGFR) 的表达, 而 XIAP 促进了转化生长因子- $\beta$  (TGF- $\beta$ )/smad 信号通路的发生。miR-7 还可以在乳腺癌和肝癌中靶向 FAK24 和胰岛素样生长因子-1 受体 (IGF1R) 基因表达而上调上皮细胞钙粘蛋白 (EC), 从而抑

制上皮间质化转换(EMT)发生<sup>[27-31]</sup>。Li 等<sup>[32]</sup>报道了循环 RNA-ITCH(cir-ITCH)在食管鳞癌中可以 miR-7, miR-17 和 miR-214 竞争性抑制 ITCH 的表达,并且影响散乱蛋白 2(Dvl2)泛素化从而影响 Wnt(wingless/int)信号通路。cir-ITCH 在结直肠癌中同样介导抑制 Wnt/ $\beta$ -连环蛋白(Wnt/ $\beta$ -catenin)信号通路<sup>[33]</sup>。见表 1。

表 1 circRNA 相关肿瘤信号通路

circRNA	相关基因	肿瘤类型	功能	信号通路	来源
ciRS-7	synuclein	胃癌	竞争性抑制	TGF- $\beta$ /smad	Zhao 等 <sup>[27]</sup> , 2013
	EGFR	肝癌	竞争性抑制	EMT	Fang 等 <sup>[28]</sup> , 2012
XIAP		舌鳞状细胞癌	竞争性抑制	Akt	Jiang 等 <sup>[29]</sup> , 2010
FAK24		乳腺癌	竞争性抑制	Akt	Kong 等 <sup>[30]</sup> , 2012
IGF1R		胶质瘤细胞	竞争性抑制	Akt	Wu 等 <sup>[31]</sup> , 2011
PI3K		肝癌	竞争性抑制	Akt	Fang 等 <sup>[28]</sup> , 2012
		食管鳞癌	竞争性抑制	Wnt/ $\beta$ -catenin	Li 等 <sup>[32]</sup> , 2015
cir-ITCH		结直肠癌	竞争性抑制	Wnt/ $\beta$ -catenin	Huang 等 <sup>[33]</sup> , 2015

circRNA 不光可以作为 miRNA 的“海绵”,有报道发现 circRNA 可以抑制 RNA 结合蛋白(RBP)的表达,例如 hsa\_circ\_0024707 有 85 个位点可以和 Argonaute2(AGO2)结合, circ\_0000020 可以作为 HuR 和脆性 X 智力低下蛋白(FMRP)的“海绵”,这些 circRNA 可能参与到 RBP 的储存、运输中,作为一种竞争原件参与到 RBP 的调节中去,进而影响生物学功能<sup>[34-35]</sup>。还有一类 circRNA 被发现位于细胞核内,并且直接参与肿瘤基因的调控转录,例如 ci-ankrd52 和 ci-sirt7 可以与聚合酶 II(Pol II)复合体相互作用,从而影响靶基因的转录,虽然具体机制尚不清楚<sup>[36]</sup>。还有一类被命名为外显子-内含子环状 RNA(EIciRNA),此类 ncRNA 可以通过招募 U1 小 RNA 蛋白复合物(U1 snRNP)来促进基因转录的起始从而调控其自身所在的基因的表达,而在该报道中 circ-EIF3J 和 circ-PAIP2 通过上述作用参与了对宫颈癌细胞的调控<sup>[37-38]</sup>。另外有报道, circRNA 通过结合位点 MBL 从而反向调控前体 mRNA(pre-mRNA)剪切而影响肿瘤坏死因子  $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )或者肿瘤坏死因子  $\beta$ (TNF- $\beta$ )的生成<sup>[14-15, 39]</sup>。

## 2 circRNA 与肿瘤

通过高通量测序和生物信息学分析,已经证明有大量的 circRNA 存在,并且通过实验证明大部分是存在在细胞质中。已有很多关于 circRNA 的数据库平台出现,如 CircNet 数据库报道,已经发现了 212 950 个 circRNA,而在 nc2Cancer 数据库中,报道已收录了 172 个 circRNA 和人类的 31 种恶性肿瘤相关, Liu 等<sup>[40]</sup>通过 CircNet 数据库搜索发现了 circ-ZEB1.5、circ-ZEB1.19、circZEB-1.17 和 circ-ZEB1.33 在肺癌中表达低于正常组织。有学者利用生物学分析比较不同部位的乳腺癌小鼠 circRNA 表达发现,有 6 824 和 4 523 个 circRNA 存在于不同乳腺癌阶段的小鼠乳腺组织

中,还有学者报道了 circ-EIF3J、circ-PAIP2、circ-FUNDC1 在宫颈癌细胞中显著表达;用反转录-聚合酶链式反应(RT-PCR)技术发现 cir-ITCH 在食管鳞癌和结直肠癌中下调, hsa\_circ\_002059 报道在胃癌中表达低于正常组织, circ\_0001649 同样在肝癌中表达低于正常组织<sup>[41-43]</sup>。近年来研究最多的 ciRS-7 在成神经细胞瘤、星形细胞瘤、肺癌、宫颈癌细胞中均有差异表达。circRNA 不仅在肿瘤细胞中大量存在并差异表达,而且在临床中可以通过血液、唾液、临床标本等不同方式中检测出表达情况,并且与肿瘤分期、生存率、性别等因素相关<sup>[44]</sup>。另外,也有研究报道 circRNA 与肿瘤的耐药相关, Guarnerio 等<sup>[45]</sup>报道在白血病小鼠模型中, f-circM9 可以促进肿瘤的发展且具有一定的耐药作用。

## 3 circRNA 检测的临床意义

circRNA 具有以下几个特性:① 普遍性:存在在各种不同生物中,例如人和鼠。② 保守性:由于结构的 3' 端和 5' 端链接在一起(外显子构成的 circRNA)或 2' 端和 5' 端链接在一起(内含子构成的 circRNA),使之在真核生物中具有保守基因,亚型很少。③ 高丰度性:大量存在在正常细胞和癌细胞内,98% 的外显子表达生成 circRNA。Memczak 等<sup>[9]</sup>发现特异表达的 circRNA 在人类细胞中有 1 950,鼠类中有 1 903,线虫中有 724。④ 稳定性:它的环状结构特性使之不被脱枝酶(DBE)和 RNA 核酸内切酶(REN)降解,并且半衰期最长可到 48 h,而 mRNA 平均半衰期只有 10 h<sup>[46-47]</sup>。因为 circRNA 的普遍性、高丰度性、保守性、稳定性,已有报道 circRNA 在肿瘤患者肿瘤样本和血液中可以得到,并作为肿瘤诊断和预防的生物标记物。例如 hsa\_circ\_002059 在胃癌组织中表达量明显低于周围无瘤组织,可以作为潜在的标记物应用于胃癌的早期诊断中; hsa\_circ\_0001649 可以应用于肝癌的早期诊断中等<sup>[41-42]</sup>。

## 4 展望

circRNA 是 ncRNA 家族中的一员,随着近年来对肿瘤细胞的研究发现, circRNA 可以通过对 miRNA、RBP 的竞争抑制和转录调节而对肿瘤发挥功能,并且 circRNA 参与了多个肿瘤信号通路的调控,与癌症的耐药也有一定关系,证明了 circRNA 可能在肿瘤研究中占有重要地位。因为 circRNA 具有稳定、保守、高丰度等特点,不久的将来可以作为临床预测和诊断肿瘤标记物,并且为肿瘤靶向药物的开发和肿瘤治疗提供新思路。虽然目前研究 circRNA 仍存在许多技术困难,但 circRNA 必将成为肿瘤研究的一大分支。

## 5 参考文献

- 1 Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J Cancer*, 2015, 136: E359-386.
- 2 陈万青,郑荣寿,曾红梅,等. 2011 年中国恶性肿瘤发病和死亡分析. *中国肿瘤*, 2015, 24: 1-10.
- 3 Mercer TR, Dinger ME, Mattick JS. Long non-coding RNAs: insights into functions. *Nat Rev Genet*, 2009, 10: 155-159.
- 4 Della RF, Gagliardi M, D'Esposito M, et al. Non-coding RNAs in chromatin disease involving neurological defects. *Front Cell Neurosci*,

- 2014, 8: 54.
- 5 Kagami H, Akutsu T, Maegawa S, et al. Determining associations between human diseases and non-coding RNAs with critical roles in network control. *Sci Rep*, 2015, 5: 14577.
  - 6 刘名倬, 朱峰. 长链非编码 RNA 的研究进展. *中华危重病急救医学*, 2014, 26: 285-288.
  - 7 林浩, 赵楚生, 郑永平. 肝硬化和肝癌患者外周血淋巴细胞中 INK4 位点反义非编码 RNA 和肿瘤抑制因子的表达. *中国中西医结合急救杂志*, 2015, 22: 86-89.
  - 8 王秀宏. 微小 RNA 与肿瘤发生发展的关系. *实用检验医师杂志*, 2010, 2: 181-184.
  - 9 李世朋, 邢雨, 田庆, 等. 微小 RNA 与器官移植研究进展. *实用器官移植电子杂志*, 2013, 1: 363-367.
  - 10 Conn SJ, Pillman KA, Toubia J, et al. The RNA binding protein quaking regulates formation of circRNAs. *Cell*, 2015, 160: 1125-1134.
  - 11 Kramer MC, Liang D, Tatomer DC, et al. Combinatorial control of *Drosophila* circular RNA expression by intronic repeats, hnRNPs, and SR proteins. *Genes Dev*, 2015, 29: 2168-2182.
  - 12 Ivanov A, Memczak S, Wylter E, et al. Analysis of intron sequences reveals hallmarks of circular RNA biogenesis in animals. *Cell Rep*, 2015, 10: 170-177.
  - 13 Memczak S, Jens M, Elefsinioti A, et al. Circular RNAs are a large class of animal RNAs with regulatory potency. *Nature*, 2013, 495: 333-338.
  - 14 Ashwal-Fluss R, Meyer M, Pamudurti NR, et al. CircRNA biogenesis competes with pre-mRNA splicing. *Mol Cell*, 2014, 56: 55-66.
  - 15 Zhang XO, Wang HB, Zhang Y, et al. Complementary sequence-mediated exon circularization. *Cell*, 2014, 159: 134-147.
  - 16 朱峰. 竞争性内源 RNA 新模式: 环状 RNA. *中华危重病急救医学*, 2016, 28: 466-468.
  - 17 Kim VN, Han J, Siomi MC. Biogenesis of small RNAs in animals. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2009, 10: 126-139.
  - 18 李玉军. microRNAs 在肿瘤病理学研究中的进展. *实用检验医师杂志*, 2014, 6: 1-5.
  - 19 Hansen TB, Jensen TI, Clausen BH, et al. Natural RNA circles function as efficient microRNA sponges. *Nature*, 2013, 495: 384-388.
  - 20 Hansen TB, Kjems J, Damgaard CK. Circular RNA and miR-7 in cancer. *Cancer Res*, 2013, 73: 5609-5612.
  - 21 Capel B, Swain A, Nicolis S, et al. Circular transcripts of the testis-determining gene *Sry* in adult mouse testis. *Cell*, 1993, 73: 1019-1030.
  - 22 Yao J, Liang L, Huang S, et al. MicroRNA-30d promotes tumor invasion and metastasis by targeting Galphai2 in hepatocellular carcinoma. *Hepatology*, 2010, 51: 846-856.
  - 23 Wilusz JE, JnBaptiste CK, Lu LY, et al. A triple helix stabilizes the 3' ends of long noncoding RNAs that lack poly(A) tails. *Genes Dev*, 2012, 26: 2392-2407.
  - 24 Webster RJ, Giles KM, Price KJ, et al. Regulation of epidermal growth factor receptor signaling in human cancer cells by microRNA-7. *J Biol Chem*, 2009, 284: 5731-5741.
  - 25 Westholm JO, Miura P, Olson S, et al. Genome-wide analysis of *Drosophila* circular RNAs reveals their structural and sequence properties and age-dependent neural accumulation. *Cell Rep*, 2014, 9: 1966-1980.
  - 26 Ma C, Qi Y, Shao L, et al. Downregulation of miR-7 upregulates Cullin 5 (CUL5) to facilitate G1/S transition in human hepatocellular carcinoma cells. *IUBMB Life*, 2013, 65: 1026-1034.
  - 27 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. *Oncogene*, 2013, 32: 1363-1372.
  - 28 Fang Y, Xue JL, Shen Q, et al. MicroRNA-7 inhibits tumor growth and metastasis by targeting the phosphoinositide 3-kinase/Akt pathway in hepatocellular carcinoma. *Hepatology*, 2012, 55: 1852-1862.
  - 29 Jiang L, Liu X, Chen Z, et al. MicroRNA-7 targets IGF1R (insulin-like growth factor 1 receptor) in tongue squamous cell carcinoma cells. *Biochem J*, 2010, 432: 199-205.
  - 30 Kong X, Li G, Yuan Y, et al. MicroRNA-7 inhibits epithelial-to-mesenchymal transition and metastasis of breast cancer cells via targeting FAK expression. *PLoS One*, 2012, 7: e41523.
  - 31 Wu DG, Wang YY, Fan LG, et al. MicroRNA-7 regulates glioblastoma cell invasion via targeting focal adhesion kinase expression. *Chin Med J (Engl)*, 2011, 124: 2616-2621.
  - 32 Li F, Zhang L, Li W, et al. Circular RNA *ITCH* has inhibitory effect on ESCC by suppressing the Wnt/ $\beta$ -catenin pathway. *Oncotarget*, 2015, 6: 6001-6013.
  - 33 Huang G, Zhu H, Shi Y, et al. *circ-ITCH* plays an inhibitory role in colorectal cancer by regulating the Wnt/ $\beta$ -catenin pathway. *PLoS One*, 2015, 10: e0131225.
  - 34 Hentze MW, Preiss T. Circular RNAs: splicing's enigma variations. *EMBO J*, 2013, 32: 923-925.
  - 35 Dudekula DB, Panda AC, Grammatikakis I, et al. CircInteractome: A web tool for exploring circular RNAs and their interacting proteins and microRNAs. *RNA Biol*, 2016, 13: 34-42.
  - 36 Zhang Y, Zhang XO, Chen T, et al. Circular intronic long noncoding RNAs. *Mol Cell*, 2013, 51: 792-806.
  - 37 Guo JU, Agarwal V, Guo H, et al. Expanded identification and characterization of mammalian circular RNAs. *Genome Biol*, 2014, 15: 409.
  - 38 Li Z, Huang C, Bao C, et al. Exon-intron circular RNAs regulate transcription in the nucleus. *Nat Struct Mol Biol*, 2015, 22: 256-264.
  - 39 Kelly S, Greenman C, Cook PR, et al. Exon skipping is correlated with exon circularization. *J Mol Biol*, 2015, 427: 2414-2417.
  - 40 Liu YC, Li JR, Sun CH, et al. CircNet: a database of circular RNAs derived from transcriptome sequencing data. *Nucleic Acids Res*, 2016, 44: D209-215.
  - 41 Qin M, Liu G, Huo X, et al. *Hsa\_circ\_0001649*: A circular RNA and potential novel biomarker for hepatocellular carcinoma. *Cancer Biomark*, 2016, 16: 161-169.
  - 42 Li P, Chen S, Chen H, et al. Using circular RNA as a novel type of biomarker in the screening of gastric cancer. *Clin Chim Acta*, 2015, 444: 132-136.
  - 43 Zhang C, Wu H, Wang Y, et al. Expression patterns of circular RNAs from primary kinase transcripts in the mammary glands of lactating rats. *J Breast Cancer*, 2015, 18: 235-241.
  - 44 Li Y, Zheng Q, Bao C, et al. Circular RNA is enriched and stable in exosomes: a promising biomarker for cancer diagnosis. *Cell Res*, 2015, 25: 981-984.
  - 45 Guarniero J, Bezzi M, Jeong JC, et al. Oncogenic role of fusion-circRNAs derived from cancer-associated chromosomal translocations. *Cell*, 2016, 165: 289-302.
  - 46 Jeck WR, Sharpless NE. Detecting and characterizing circular RNAs. *Nat Biotechnol*, 2014, 32: 453-461.
  - 47 Wang PL, Bao Y, Yee MC, et al. Circular RNA is expressed across the eukaryotic tree of life. *PLoS One*, 2014, 9: e90859.

(收稿日期: 2016-10-25)

(本文编辑: 李银平)