

Research Progress of circRNAs in Cancer

Tengfei Zhang^{1,2}, Xiuyan Huang^{1*}

¹Department of Surgery, Shanghai Sixth People's Hospital, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai

²Chaohu Hospital, Anhui Medical University, Chaohu Anhui

Email: *xyhuang1119@163.com

Received: Oct. 9th, 2017; accepted: Oct. 23rd, 2017; published: Oct. 31st, 2017

Abstract

Circular RNAs (circRNAs) are noncoding RNAs (ncRNAs) formed by back splice, which are abundantly present in organisms. This article aims to review the mechanism and characteristics of circRNA, biological function and its role in the tumor.

Keywords

circRNA, ncRNA, ceRNA, Tumor

环状RNA在肿瘤中的研究近况

张腾飞^{1,2}, 黄修燕^{1*}

¹上海交通大学附属第六人民医院普外科, 上海

²安徽医科大学附属巢湖医院肝胆外科, 安徽 巢湖

Email: *xyhuang1119@163.com

收稿日期: 2017年10月9日; 录用日期: 2017年10月23日; 发布日期: 2017年10月31日

摘要

环状RNA (circular RNAs, circRNAs)是一类通过反向剪接(backsplice)方式形成的非编码RNA (non-coding RNA, ncRNA), 大量存在于生物中。本文旨在综述circRNA的形成机制和特征、生物学功能及其在肿瘤中的作用。

关键词

环状RNA, 非编码RNA, 竞争性内源RNA, 肿瘤

*通讯作者。

Copyright © 2017 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

非编码 RNA(noncoding RNA, ncRNA)是指细胞内不编码蛋白质却行使多种生物学功能的 RNA, 而环状 RNA(circular RNAs, circRNAs)大多为非编码 RNA。20 世纪 70 年代, circRNA 首先在病毒中被发现[1]。但是, 随后 circRNA 一直被认为是一类因转录过程中发生错误剪接而形成的低丰度 RNA 分子, 因而对它们的研究不深。近年来, 随着高通量测序技术等生物信息学的快速发展, 环状 RNA 作为一种特殊的内源性非编码 RNA, 其可作为竞争性内源性 RNA(competitive endogenous RNA, ceRNA)参与到基因的表达调控中, 成为继微小 RNA(miRNA, miRNA)和长链非编码 RNA(long noncoding RNA, lncRNA)后的又一研究新热点[1]。本文旨在综述 circRNA 的形成机制和特征、生物学功能及其在肿瘤中的作用。

2. 环状 RNA 的形成机制

根据序列的来源不同, circRNA 大致可分为外显子来源的环状 RNA 分子(exonic circRNAs)、内含子来源的环状 RNA 分子(intronic circRNAs)、由外显子和内含子共同组成的环状 RNA 分子(retained-intron circRNAs)。目前 circRNA 的加工成熟机制尚不完全清楚, 推测外显子环状 RNA 通过反向剪接的方式形成, 目前存在两种假设模型[2]。①外显子环状 RNA 形成过程中, 前体 RNA(pre-RNA)转录时发生了部分折叠, 外显子随着 RNA 的折叠出现跳跃现象, 这样在被跨越的部分形成外显子包含内含子的环状 RNA 中间体套索结构, 接着套索内部通过剪接去除内含子序列后形成环状 RNA。此种模型定义为套索驱动环化。②由于环状 RNA 的前体序列两侧内含子上存在反向互补序列, 两侧内含子的互补配对介导了环状 RNA 的形成。此种模型定义为内含子配对驱动环化。关于内含子来源的环状 RNA, 目前认为, 部分内含子在剪接作用中形成套索结构, 但绝大多数会在脱分支作用下被很快降解, 只有一些含关键核酸序列的内含子在剪接后不能被脱分支酶作用, 形成内含子来源的环状 RNA [3] [4]。

CircRNA 较线性 RNA 相比, 没有 5' 末端和 3 末端, 呈闭合环状, 故 circRNA 更具稳定性和高度保守性[2] [5]。关于 circRNA 的降解机制, 有学者通过对培养细胞上清液 circRNA 的检测, 表明 circRNA 可通过分泌体的形式分泌到胞外而被清除[6]。Hansen 等证实 circRNA 也可被 miRNA 海绵样吸附, 比如 ciRS-7(也称 CDR1as)与 miR671 结合后被降解[7]。

3. circRNA 的生物学功能

近期研究表明, circRNA 是具有功能的生物大分子, 包括充当 ceRNA 来发挥 miRNA 海绵作用, 亲本基因的调控, 作为生物标记物等[8]。

3.1. circRNA 是一种 ceRNA

和 mRNA、假基因一样, circRNA 也含有 miRNA 应答元件, 通过竞争性结合 miRNA 来调控各自的表达, 从而调控基因的表达[8]。近年来, 研究者推测 circRNA 也可作为一种新的 ceRNA, 参与到 ceRNA 的调控网络中。在人和小鼠的脑组织中, circRNA RS-7 可以作为 miR-7 的分子海绵结合并抑制 miRNA 分子继而正向调控 miR-7 的靶基因; circRNAsry 能够结合并抑制 miR-138 从而正向调控 miR-138 的靶基因。但 circRNA 本身对 miRNA 介导的转录后调控并不敏感[7] [9]。可见, circRNA 作为一种稳定的 miRNA

应答元件, 能够更有效率得结合 miRNA, 是一种极为重要的 ceRNA。

3.2. 参与亲本基因的调控

李兆勇等人通过研究表明, 敲除 EIciRNA(外显子-内含子 RNA)会导致其亲本基因的 mRNA 水平及转录水平降低。EIciRNA 调节亲本基因转录, 要通过与 PolII、U1 小核糖核蛋白(U1 snRNP)及基因启动子的相互作用。U1 snRNP 阻断 U1 小核糖核酸(U1 snRNA)会消除 EIciRNA 敲除对亲本基因 mRNA 水平的影响, 并削弱 Pol II 与 EIciRNA 之间的关系, 还会减少 EIciRNA 和亲本基因启动子的相互作用。U1 snRNA 在 EIciRNA 上的结合位置是在保留的内含子的 5' 剪切位点上, 阻断这个位置会减少 U1 snRNA 与 EIciRNA 的相互作用[3] [10]。总之, U1 snRNA 与 EIciRNA 通过相互作用形成 EIciRNA-U1 snRNA 复合物, 此复合物在亲本基因启动子上与 Pol II 转录复合物相互作用, 以调控亲本基因的表达。

3.3. 作为新型生物标志物

随着全基因组测序时代的来临, 新的测序手段定位 RNA 在基因组中的来源并通过去除 rRNA 对非多聚腺苷酸化的 RNA 进行测序[11] [12]。circRNA 在结构上较线性 RNA 具有更高的稳定性, 通过与疾病关联的 miRNA 相互作用, circRNA 在疾病的发生发展中发挥着重要作用, 有望成为新型的疾病临床诊断标志物。近年发现, 胃癌组织中 has-circ-002059 的表达明显低于周围无瘤组织; has-circ-0001649 在肝癌组织中也表达异常[13] [14]。

4. circRNA 与肿瘤

circRNA 与多种疾病的易感性相关联, 如肿瘤、糖尿病、神经系统疾病等[15]。circRNA 在肿瘤的发生发展、侵袭转移及耐药等方面具有重要作用, 并有望成为肿瘤诊断的新型分子标志物和治疗靶点。

4.1. circRNA 与肝癌

Yu 等研究发现, 作为 ciRS-7 作为 miR-7 海绵, 在肝癌组织中高表达, 其抑制 miR-7 活性并竞争结合其他 RNA, 从而调控靶基因的表达[16]。Xu 等发现 ciRS-7 的高表达与肿瘤微血管侵犯有着密切的关系, 可能在肝癌转移机制的研究中有着重要作用[17]。Han 等证实, circ RNA MTO1 作为 miR-9 海绵, 促进 p21 的表达从而抑制肝癌的发生发展[18]。Hsa_circ_0003570 不仅在 HCC 细胞系中低表达($P < 0.001$), 而且在 HCC 组织中也被发现低表达($P < 0.001$)。此外, hsa_circ_0003570 从慢性肝炎(CH)、肝硬化(LC)和 HCC 组织中表达($P < 0.01$)逐渐减少。另外, 其表达水平与肿瘤直径、分化、微血管侵犯显著相关[19]。有发现 HCC 的 hsa_circ_0005986 的表达水平明显低于相邻非肿瘤组织($P < 0.001$)。而且, HCC 细胞系、HepG2、SMMC7721、Huh7、MHCC97L、MHCC97H、HCCLM3 的水平明显低于人类正常肝细胞系 L02($P < 0.001$)。此外, hsa_circ_0005986 的低表达水平与慢性乙型肝炎史($P = 0.001$)、肿瘤直径($P < 0.001$)、微血管侵犯($P = 0.026$)、临床肝癌(BCLC)阶段($P < 0.001$)有关[20]。国内高鹏骥等[21]发现, HCC 组织中 circRNA 表达谱变化显著, 其中 has-circ-0043278 和 has-circ-0006220 明显上调可能参与 HCC 的发生和进展。我们课题组应用 circRNA 芯片检测四对乙肝阳性的肝细胞癌组织及对应癌旁组织发现 189 个 circRNA 上调, 37 个 circRNA 下调, 其中 circRNA_100338 高表达与患者累积生存率下降及转移进展密切相关, miR-141-3p 吸附 circRNA_100338 促进肝癌细胞的侵袭潜能, 因此, circRNA_100338 可能是乙肝阳性的肝癌患者的诊断标志物和干预靶点; 同时, 借助大数据分析, 我们发现转移抑制基因 1(metastasis suppressor 1, MTSS1)是 miR-141-3 最可能的下游重要靶基因之一, 因此, circRNA-100338/miR-141-3p 信号通路在肝癌研究中具有潜在临床意义[22]。circRNA 在 HCC 研究中的结果存在差异, 可能与样本选择差异及肝炎

病毒拷贝数有相关性, 还需要进一步研究。

4.2. circRNA 与胃肠癌

Li 等证明了 circ-104916 的表达在胃癌组织和细胞系中被下调。circ-104916 的较低表达出现在更深的侵入深度、更高的肿瘤分期和更频繁的淋巴管转移患者。circ-104916 的过度表达有效抑制了胃癌细胞的增殖、迁移和侵袭能力。Western blot 显示 circ-104916 过表达上调 e-cadherin 和下调 n-cadherin, Vimentin 和 Slug, 表明 circ-104916 参与上皮-间质过渡过程[23]。HCT116 和 HT29 细胞中 circ-7 的过度表达导致 mir-7 的阻断, 导致更有攻击性的致癌表型, circ-7 过表达允许 mir-7 的抑制和 EGFR 和 RAF1 致癌基因的激活。与正常的黏膜(P = 0.0018)相比, 在结直肠癌组织中, circ-7 明显被上调(P = 0.0018), 而它的过度表达与患者的生存状况(P = 0.0224 和 0.0061, 分别在实验和验证组中)有关联。多变量生存分析显示, circ-7 是总体生存的独立危险因素(P = 0.0656 和 0.0324, 分别为实验和验证组) [24]。Guo 等首次使用定量聚合酶链反应的癌旁非癌组织来测定的 hsa_circ_0000069 的表达在肠癌组织。在肠癌组织中观察到 hsa_circ_0000069 的高表达, 与患者年龄、肿瘤、淋巴结、转移(TNM 分期)阶段(P < 0.05)有关。此外, 通过在肠癌细胞中使用专门设计的 siRNAs, 进行了功能分析, 发现 hsa_circ_0000069 的击倒可以明显抑制细胞增殖、迁移和侵袭, 并诱导 G0/G1 细胞周期的停止[25]。Wang 等使用 Δ Ct 方法和调查之间的差异肿瘤组织和正常结肠粘膜配对 t 检验。对 hsa_circ_001988 表达水平与患者临床病理因素的关系进行了单向方差分析。发现 hsa_circ_001988 的表达与分化(P < 0.05)和会阴侵袭(P < 0.05)显著相关, 表明 hsa_circ_001988 可能成为结肠直肠癌诊断的一种新的潜在生物标志物, 是治疗大肠癌的潜在新靶点[26]。结直肠癌细胞系的功能研究方面, circCCDC66 控制多种病理过程, 包括细胞增殖、迁移、侵袭和独立生长。circCCDC66 通过调控肿瘤基因的一个子集发挥其功能, 并分别在异种移植物和原位小鼠模型中抑制 circCCDC66 抑制肿瘤生长和肿瘤侵袭[27]。

4.3. circRNA 与其他肿瘤

食管鳞癌与 circRNA 的研究中, 涉及多种 circRNA, 如 has-circ-0067934 [28], circRNA ITCH [29]等。为了研究环状 RNA 在卵巢癌中的作用, Ahmed 对 3 例卵巢癌患者的主要位点、腹腔和淋巴结转移进行了 RNA 测序, 发现上皮性卵巢癌中成千上万的环状异构体[30]。

5. 结语

circRNA 作为非编码 RNA 家族的新成员, 因其高丰度、稳定性和保守性越来越被科学家们重视。然而, 目前检测 circRNA 的方法仍有局限性, 编码、命名仍未统一, 不同的生物信息学方法得出的结果仍有偏倚, 需要多中心、大样本的临床验证。随着功能研究的不断深入, circRNA 在疾病诊治, 尤其在肿瘤的发生发展和防治研究方面的无限潜力, 有望成为肿瘤早期诊断的生物分子标志和肿瘤治疗的新靶点, 其参与肿瘤进展的分子机制也是重要的研究内容之一。

基金项目

中美联合培养学者/留学生转化医学课题(UCTMP2015-03C001); 国家自然科学基金面上项目(81272401)。

参考文献 (References)

- [1] Wilusz, J.E. and Sharp, P.A. (2013) Molecular Biology. A Circuitous Route to Noncoding RNA. *Science (New York, N.Y.)*, **340**, 440-441. <https://doi.org/10.1126/science.1238522>

- [2] Salzman, J., Gawad, C., Wang, P.L., Lacayo, N. and Brown, P.O. (2012) Circular RNAs Are the Predominant Transcript Isoform from Hundreds of Human Genes in Diverse Cell Types. *PLoS One*, **7**, e30733. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0030733>
- [3] Zhang, Y., Zhang, X.O., Chen, T., *et al.* (2013) Circular Intronic Long Noncoding RNAs. *Molecular Cell*, **51**, 792-806. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2013.08.017>
- [4] Rodriguez-Trelles, F., Tarrío, R. and Ayala, F.J. (2006) Origins and Evolution of Spliceosomal Introns. *Annual Review of Genetics*, **40**, 47-76. <https://doi.org/10.1146/annurev.genet.40.110405.090625>
- [5] Jeck, W.R., Sorrentino, J.A., Wang, K., *et al.* (2013) Circular RNAs Are Abundant, Conserved, and Associated with ALU Repeats. *RNA*, **19**, 141-157. <https://doi.org/10.1261/rna.035667.112>
- [6] Lasda, E. and Parker, R. (2016) Circular RNAs Co-Precipitate with Extracellular Vesicles: A Possible Mechanism for circRNA Clearance. *PLoS One*, **11**, e0148407. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0148407>
- [7] Hansen, T.B., Jensen, T.I., Clausen, B.H., *et al.* (2013) Natural RNA Circles Function as Efficient microRNA Sponges. *Nature*, **495**, 384-388. <https://doi.org/10.1038/nature11993>
- [8] Salmena, L., Poliseno, L., Tay, Y., Kats, L. and Pandolfi, P.P. (2011) A ceRNA Hypothesis: The Rosetta Stone of a Hidden RNA Language? *Cell*, **146**, 353-358. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.07.014>
- [9] Memczak, S., Jens, M., Elefsinioti, A., *et al.* (2013) Circular RNAs Are a Large Class of Animal RNAs with Regulatory Potency. *Nature*, **495**, 333-338. <https://doi.org/10.1038/nature11928>
- [10] Li, Z., Huang, C., Bao, C., *et al.* (2015) Exon-Intron Circular RNAs Regulate Transcription in the Nucleus. *Nature Structural & Molecular Biology*, **22**, 256-264. <https://doi.org/10.1038/nsmb.2959>
- [11] Salzman, J., Chen, R.E., Olsen, M.N., Wang, P.L. and Brown, P.O. (2013) Cell-Type Specific Features of Circular RNA Expression. *PLoS Genetics*, **9**, e1003777. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1003777>
- [12] Szabo, L., Morey, R., Palpant, N.J., *et al.* (2015) Statistically Based Splicing Detection Reveals Neural Enrichment and Tissue-Specific Induction of Circular RNA during Human Fetal Development. *Genome biology*, **16**, 126. <https://doi.org/10.1186/s13059-015-0690-5>
- [13] Qin, M., Liu, G., Huo, X., *et al.* (2016) Hsa_circ_0001649: A Circular RNA and Potential Novel Biomarker for Hepatocellular Carcinoma. *Cancer Biomarkers: Section A of Disease Markers*, **16**, 161-169. <https://doi.org/10.3233/CBM-150552>
- [14] Li, P., Chen, S., Chen, H., *et al.* (2015) Using Circular RNA as a Novel Type of Biomarker in the Screening of Gastric Cancer. *Clinica Chimica Acta*, **444**, 132-136. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2015.02.018>
- [15] 陈冉冉, 付玉荣, 伊正君. 环状 RNA 与疾病关系的研究进展[J]. 基础医学与临床, 2016, 36(9): 1295-1300.
- [16] Yu, L., Gong, X., Sun, L., Zhou, Q., Lu, B. and Zhu, L. (2016) The Circular RNA Cdr1as Act as an Oncogene in Hepatocellular Carcinoma through Targeting miR-7 Expression. *PLoS One*, **11**, e0158347. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0158347>
- [17] Xu, L., Zhang, M., Zheng, X., Yi, P., Lan, C. and Xu, M. (2017) The Circular RNA ciRS-7 (Cdr1as) Acts as a Risk Factor of Hepatic Microvascular Invasion in Hepatocellular Carcinoma. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, **143**, 17-27. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0158347>
- [18] Han, D., Li, J., Wang, H., *et al.* (2017) Circular RNA MTO1 Acts as the Sponge of miR-9 to Suppress Hepatocellular Carcinoma Progression. *Hepatology*, **66**, 1151-1164. <https://doi.org/10.1002/hep.29270>
- [19] Fu, L., Wu, S., Yao, T., *et al.* (2017) Decreased Expression of hsa_circ_0003570 in Hepatocellular Carcinoma and Its Clinical Significance. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*. <https://doi.org/10.1002/jcla.22239>
- [20] Fu, L., Chen, Q., Yao, T., *et al.* (2017) Hsa_circ_0005986 Inhibits Carcinogenesis by Acting as a miR-129-5p Sponge and Is Used as a Novel Biomarker for Hepatocellular Carcinoma. *Oncotarget*, **8**, 43878-43888. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.16709>
- [21] 高鹏骥, 陈雷, 高杰, 等. 环状 RNA 在肝细胞癌中的差异表达研究[J]. 中国普通外科杂志, 2017, 26(1): 65-69.
- [22] Huang, X.Y., Huang, Z.L., Xu, Y.H., *et al.* (2017) Comprehensive Circular RNA Profiling Reveals the Regulatory Role of the circRNA-100338/miR-141-3p Pathway in Hepatitis B-Related Hepatocellular Carcinoma. *Scientific Reports*, **7**, 5428. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-05432-8>
- [23] Li, J., Zhen, L., Zhang, Y., *et al.* (2017) Circ-104916 Is Downregulated in Gastric Cancer and Suppresses Migration and Invasion of Gastric Cancer Cells. *OncoTargets and Therapy*, **10**, 3521-3529. <https://doi.org/10.2147/OTT.S136347>
- [24] Weng, W., Wei, Q., Toden, S., *et al.* (2017) Circular RNA ciRS-7-A Promising Prognostic Biomarker and a Potential Therapeutic Target in Colorectal Cancer. *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, **23**, 3918-3928. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-16-2541>
- [25] Guo, J.N., Li, J., Zhu, C.L., *et al.* (2016) Comprehensive Profile of Differentially Expressed Circular RNAs Reveals

That hsa_circ_0000069 Is Upregulated and Promotes Cell Proliferation, Migration, and Invasion in Colorectal Cancer. *OncoTargets and Therapy*, **9**, 7451-7458. <https://doi.org/10.2147/OTT.S123220>

- [26] Wang, X., Zhang, Y., Huang, L., *et al.* (2015) Decreased Expression of hsa_circ_001988 in Colorectal Cancer and Its Clinical Significances. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, **8**, 16020-16025.
- [27] Hsiao, K.Y., Lin, Y.C., Gupta, S.K., *et al.* (2017) Noncoding Effects of Circular RNA CCDC66 Promote Colon Cancer Growth and Metastasis. *Cancer Research*, **77**, 2339-2350. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-16-1883>
- [28] Xia, W., Qiu, M., Chen, R., *et al.* (2016) Circular RNA hsa_circ_0067934 Is Upregulated in Esophageal Squamous Cell Carcinoma and Promoted Proliferation. *Scientific Reports*, **6**, Article ID: 35576. <https://doi.org/10.1038/srep35576>
- [29] Li, F., Zhang, L., Li, W., *et al.* (2015) Circular RNA ITCH Has Inhibitory Effect on ESCC by Suppressing the Wnt/Beta-Catenin Pathway. *Oncotarget*, **6**, 6001-6013. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.3469>
- [30] Ahmed, I., Karedath, T., Andrews, S.S., *et al.* (2016) Altered Expression Pattern of Circular RNAs in Primary and Metastatic Sites of Epithelial Ovarian Carcinoma. *Oncotarget*, **7**, 36366-36381. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.8917>

知网检索的两种方式:

1. 打开知网页面 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>
下拉列表框选择: [ISSN], 输入期刊 ISSN: 2164-9049, 即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>
左侧“国际文献总库”进入, 输入文章标题, 即可查询

投稿请点击: <http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱: wjcr@hanspub.org