



环状RNA调控TBK1表达影响肿瘤发生发展*

朱俊畅¹⁾ 张雨莹¹⁾ 葛彬洁²⁾ 胡盼洁²⁾ 唐嘉吕¹⁾ 蔡文品³⁾ 季敬璋^{2,4,5)**}⁽¹⁾ 温州医科大学仁济学院, 温州 325000; ⁽²⁾ 温州医科大学检验医学院, 生命科学学院, 温州 325000; ⁽³⁾ 温州市中医院, 温州 325000;⁽⁴⁾ 温州医科大学, 检验医学教育部重点实验室, 温州 325000; ⁽⁵⁾ 温州医科大学, 浙江省医学遗传学重点实验室, 温州 325000)

摘要 TANK结合酶1 (TANK-binding kinase 1, TBK1) 是一种丝氨酸/苏氨酸激酶, 在机体先天免疫调节、细胞选择性自噬、细胞凋亡、细胞再生中发挥重要作用, 与肿瘤的发生密切相关。环状RNA (circle RNA, circRNA) 是新型的闭合环状非编码RNA, 其生物功能及与肿瘤的联系受到国内外学者广泛关注。近年来, 越来越多的研究发现, TBK1能与circRNA相互作用, 对肿瘤的发生发展产生影响, 这暗示了circRNA联合TBK1在肿瘤靶向治疗中的巨大潜力, 为肿瘤精准治疗提供了新思路。本文总结了近10年来TBK1与circRNA在肿瘤中的研究, 分析两者相互作用的模式, 以期对肿瘤的靶向治疗提供新靶点。

关键词 TBK1, 环状RNA, 肿瘤**中图分类号** Q7, R73**DOI:** 10.16476/j.pibb.2020.0447

环状RNA (circle RNA, circRNA) 是一种特殊的内源性RNA, 其既不具线性RNA (linear RNA, mRNA) 所拥有的5'→3'极性, 也不含mRNA特有的腺苷磷酸化尾巴 (poly-A), 以其价闭合的连续环结构有效防止了核酸外切酶的降解, 确保circRNA在细胞质中稳定表达^[1-3]。此外, circRNA还拥有多种生物功能, 包括对miRNA的分子海绵作用^[4]、蛋白质活性调控^[5]、翻译调控^[6]。基于以上功能, circRNA能稳定地对机体的生物功能进行调节。TANK结合酶1 (TANK-binding kinase 1, TBK1) 作为一种丝氨酸/苏氨酸激酶, 由染色体12q1.4处的基因编码, 全长729个氨基酸^[7]。在机体的先天免疫调节中, 磷酸化的TBK1不仅可以激活树突状细胞 (DC) 和T细胞, 还可以诱导干扰性调节因子3和7 (IRF3/7) 的表达和核因子κB (NF-κB) 途径的激活, 生成I型干扰素 (INF-I), 在机体抗病毒免疫中发挥重要作用^[8-11]。除此之外, 越来越多的证据证明, TBK1还在细胞选择性自噬^[12-14]、细胞凋亡^[15-17]、细胞周期^[18-20]调节中扮演了关键的角色。最新的研究发现, TBK1促进各类肿瘤的发生发展且可以作为机体肿瘤或免疫治疗的新型靶点^[7]。因此,

circRNA可能与TBK1直接相互作用或调控TBK1的上游通路对TBK1产生影响从而对肿瘤细胞的发生发展产生影响。本文从TBK1与circRNA的相互作用入手, 重点阐述两者在肿瘤发生发展中的联系, 以期对肿瘤的靶向治疗提供新思路。

1 TBK1的结构和生物功能

1.1 TBK1的结构

TBK1作为非典型IκB激酶 (IKK) 家族的一员, 以二聚体结构为活动基础, 主要包含了4个结构域: 激酶结构域 (KD)、泛素样结构域 (ULD)、支架/二聚体结构域 (SDD)、C端螺旋蛋白 (CTD)^[21-22]。与经典的IKK蛋白激酶家族不同, TBK1没有IKK蛋白激酶家族中共有的NEMO结构

* 国家级大学生创新创业训练计划项目 (201710343002, 202010343021), 浙江省自然科学基金基础公益研究计划项目 (LGF18H200003), 浙江省自然科学基金青年项目 (LQ19H200002), 浙江省大学生科技创新新苗项目 (2017R413050, 2017R413051, 2020R413023) 和温州医科大学校级学生科研立项课题 (wyx2020101005, wyx2020101009) 资助。

** 通讯联系人。

Tel: 0577-86699727, E-mail: jjz@wmu.edu.cn

收稿日期: 2021-02-05, 接受日期: 2021-03-19

域.但这一点在TBK1诱导的抗病毒先天免疫中不可或缺.在TBK1的结构中KD、ULD、SDD三个结构域构成的细长二聚体是TBK1的一个固定结构单元元件,以TBK1的固定结构单元元件为基础,

TBK1能够活化并向下传导通路.本文参考Tu等^[21]和Zhang等^[22]的研究,绘制了TBK1的结构域及固定结构单元元件示意图(图1).

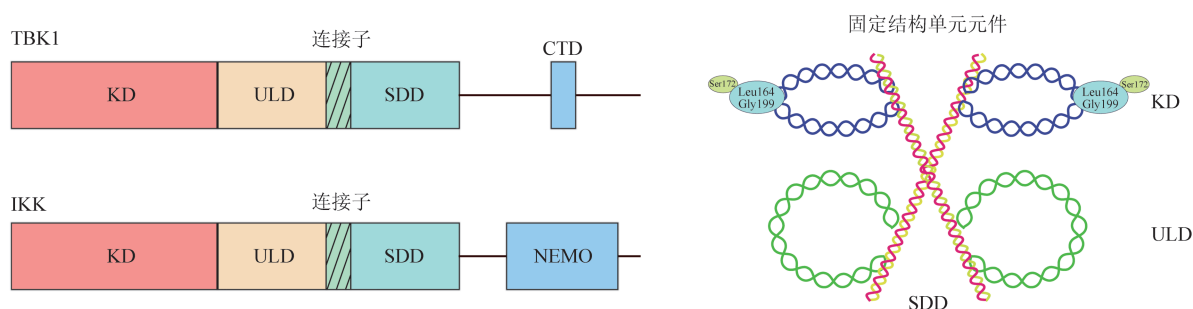


Fig. 1 The structural region of TBK1 and the fixed structural unit elements

图1 TBK1的结构域及固定结构单元元件

1.2 TBK1的活性与磷酸化调节

TBK1的活性可以通过多种方式调节,包括泛素化、磷酸化、激酶活性调节以及阻止功能性TBK1复合物的形成^[23].以磷酸化调节为例,Ser172作为TBK1激活必不可少的因子^[24],能与TBK1中KD结构域N端小叶处的激活环(Leu164 Gly199)相结合,使激活环收缩从而暴露底物结合位点^[21, 25](图1).但由于几何空间的限制,KD往往不能进行磷酸化顺式激活环,它需要将多个TBK1二聚体聚集在一起,以反式自磷酸化激活N端小叶处的激活环,从而激活下游通路的传导^[22].

越来越多的研究表明,TBK1的磷酸化结构为多种疾病的治疗提供了可能性.例如Hedge等^[26]在研究中发现,TBK1的有效磷酸化可以在亨廷顿病(HD)中促进亨廷顿蛋白1(huntingtin 1, HTT1)磷酸化,并降低其聚集和细胞毒性.Chen等^[27]在膀胱癌研究中发现,抑制TBK1的表达可以降低蛋白激酶B(AKT)的磷酸化水平,从而明显限制膀胱癌细胞的增殖和迁徙,提示了膀胱癌新型的治疗靶点.

1.3 TBK1的生物学功能

1.3.1 TBK1的先天免疫调节功能

在先天免疫功能系统中,模式识别受体(PRRs)是机体最先识别感染微生物的受体,主要包括Toll样受体(Toll-like receptor, TLR)、RIG-I样受体、NOD样受体和C型凝集素受体^[28-29].这4类受体可以识别脂多糖(LPS)、病毒RNA(viral RNA)、双链DNA(dsDNA)等机体外源物

质并向下游通路传导信号(表1)^[30].而TBK1作为机体先天免疫反应关键的信号激酶,对机体先天免疫反应的信号传导起到了重要的作用,即介导IRF3/IRF7的表达^[31]和NF- κ B通路的传导^[7, 32],促使INF- α 生成.

在TBK1的传导通路中,环状GMP-AMP合酶(cGAS)作为一种胞质DNA传感器/酶^[33],可以识别dsDNA并介导cGAS-cGAMP-干扰刺激物(STING)通路对机体进行免疫调节^[31-32],其主要调控机制近年来被广泛研究.Zhang等^[22]通过低温电子显微镜展现了cGAMP-STING所形成的四聚体复合物结构,进一步证明cGAMP通过诱导STING的高阶齐聚构成信号平台,为STING磷酸化的尾巴与Ser366结合进而活化TBK1和IRF3奠定了基础.cGAS-cGAMP-STING通路的激活同时与CD4⁺T细胞、CD8⁺T细胞、巨噬细胞、嗜中性粒细胞、树突状细胞(DC)的浸润性密切相关^[33-34].其中DC作为先天免疫反应中重要的调节细胞,对于T细胞的活化和机体免疫系统微环境有着重要的作用.Xiao等^[11]在小鼠模型中发现,缺乏TBK1的DC增强了T细胞的活性且负调节I型干扰素受体(IFNAR)基因子集的诱导,这一研究结果确定了TBK1在维持机体免疫系统微环境方面的重要作用.此外,Padilla-Salinas等^[35]确认了hcGAS的选择性抑制剂,CU-32和CU-76,它们能选择性抑制人细胞中的DNA转录活性但不会对RIG-I-MAVs产生影响,为cGAS探针的设计和自身免疫治疗提供了新的方法和发展方向.

Table 1 PRRs and their ligands (modified from references [28–29])
表1 模式识别受体及其识别物 (引自文献 [28–29] 并做适当修改)

家族	模式识别受体	分布	配体	接头分子
Toll样受体 (TLRs)	TLR1	质膜	三酰基脂蛋白	MyD88, TIRAP
	TLR2	质膜	脂蛋白	MyD88, TIRAP
	TLR3	溶酶体	双链RNA	TRIF
	TLR4	质膜	脂多糖, 损伤相关的分子模式	MyD88, TIRAP, TRIF, TRAM
	TLR5	质膜	鞭毛蛋白	MyD88
	TLR6	质膜	二酰基脂蛋白	MyD88, TIRAP
	TLR7	溶酶体	单链RNA	MyD88
	hTLR8	溶酶体	单链RNA	MyD88
	TLR9	溶酶体	CpG-DNA	MyD88
	TLR10	溶酶体	不详	MyD88
	TLR11	质膜	Profilin样蛋白	MyD88
RIG-I 样受体	RIG-I	细胞质	短双链RNA, 5'三磷酸dsRNA	IPS-1
	MDA5	细胞质	长双链RNA	IPS-1
	LGP2	细胞质	不详	不详
NOD样受体	NOD1	细胞质	iE-DAP	RICK, CARD9
	NOD2	细胞质	胞壁酰二肽	RICK, CARD9
C型凝集素受体	Dectin-1	质膜	β -葡聚糖	不详
	Dectin-2	质膜	β -葡聚糖	不详
	MINCLE	质膜	SAP130	不详

1.3.2 细胞选择性自噬

自噬 (autophagy) 是一种由溶酶体介导的高度保守的降解机制, 在细胞生长、发育、分化中发挥重要作用^[12-13]. TBK1作为细胞选择性自噬中的关键激酶, 已经被证明与多种选择性受体相互作用, 包括视神经磷酸酶 (optineurin, OPTN)、NDP52 (CALCOCO2)、TAX1BP1 和 p62 (SQSTM1) 选择性受体分子^[36]. 它主要通过Ser403磷酸化p62, 促进促炎细胞因子 (IL-1) 分泌, 诱导巨噬细胞的自噬, 从而协调机体的自噬功能^[37]. 此外, TBK1可以磷酸化OPTN受体诱导泛素化的线粒体自噬^[38], 其机制主要是TBK1通过Ser473使OPTN的UBAN结构域磷酸化, 导致OPTN与各种Ub链的结合能力上升, 从而促使泛素化的受损线粒体募集和保留OPTN/TBK1来进一步激活PINK1-PARKIN途径^[14]. 这意味着PINK1可以被OPTN/TBK1磷酸化来充当线粒体上的自噬信号, PARKIN蛋白则可以放大该信号, 最终激活线粒体上的泛素激活链从而促进受损线粒体的自噬^[39].

1.3.3 细胞凋亡功能

细胞凋亡 (apoptosis) 在组织生长发育过程中发挥重要作用, 其主要机制为caspase家族在肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 的诱导下将细胞分解为多个凋亡小体. 凋亡小体则会被周围的健康细胞清除, 从而维持细胞微环境的稳定^[40-42]. 而TBK1能调控TNF- α , 在细胞凋亡中起到了重要的作用^[43].
TNF- α 是一种具有多效免疫性和生物活性的促炎性因子, 诱导细胞因子的炎性激活和细胞凋亡或坏死性下垂^[44-45]. 它能与肿瘤坏死因子受体1 (TNFR1) 形成膜相关信号复合体, 即复合体I. 复合体I由多种适配蛋白、E3连接酶、受体相互作用蛋白激酶 (RIPK1) 构成^[17]. 在E3连接酶中线性泛素链组装复合物 (LUBAC) 的诱导下, TBK1能与IKK ϵ 聚集并激活TNF受体1信号复合物 (TNFR1-SC). TNFR1-SC可以进一步促进RIPK1的激活, 防止依赖RIPK1的细胞凋亡, 这有利于防止TNF诱导的致命性休克^[16]. 此外, 在共刺激因子ICOS信号和DOK激酶的作用下, TBK1能与次级细胞死亡信号复合体 (复合体II) 或者RIPK3相互作用, 诱导caspase-8促进细胞凋亡^[15, 17, 46].

近年来,有研究发现,细胞凋亡是偶发性和遗传性神经退行性疾病的主要危险因素,容易诱导肌萎缩性侧索硬化症(ALS)和额颞痴呆(FTD)合并症^[47].TBK1是ALS的危险基因^[48],Gerbino等^[49]为探究这一点构建了患有ALS的SOD1(G93A)小鼠模型,证明TBK1功能的丧失会导致SOD1的加速聚集从而加速疾病进程.综上,TBK1对细胞凋亡具有重要的调控作用,但是TBK1通过非依赖性功能调节细胞凋亡信号的作用机制仍需进一步研究.

1.3.4 调控细胞周期

细胞周期(cell cycle)是哺乳动物中一个高度有组织 and 受监管的过程,主要分为G0/G1、S、G2、M四个阶段.细胞周期进程受到细胞周期蛋白(CDKs)的严格控制^[18].Pillai等^[50]发现,TBK1在哺乳动物中充当了微管动力学和有丝分裂的关键酶,在有丝分裂期间,磷酸化TBK1的水平会增加并能在中心体中诱导中心蛋白CEP170与微管解聚酶Kif2b结合,以及有丝分裂蛋白NuMA与动力蛋白结合,促进有丝分裂进程.此外有研究发现,TBK1在cGAS-STING通路中降低了p21的表达水平,抑制了G2/M期的过渡,是诱导染色体不稳定性(CIN)的主要机制^[8].

越来越多的研究发现,TBK1在线粒体中有丝分裂的调节受到多种因素的调控.PINK1和Parkin是线粒体公认介质,两者可以介导TBK1的活化并促使TBK1从其中心体中分离出来^[19].OPTN作为线粒体中的选择性受体可以通过去泛素化酶CYLD靶向TBK1来抑制其活性,但是在G2/M过渡期中这种调节机制却被抑制^[51].寨卡病毒(Zika virus)也是一个特殊的例子,它可以感染脊髓上皮细胞(NES)和神经胶质细胞(RGC),促使有丝分裂期间中心体的消耗和TBK1与线粒体的隔离^[52].以上研究表明,TBK1作为线粒体细胞周期调控的关键酶,可能成为针对线粒体细胞周期疾病治疗的重要靶点,但是其具体机制仍需进一步研究.

2 TBK1与circRNA在肿瘤中相互作用的研究进展

2.1 Toll样受体(TLRs)

TLRs是病毒坏死和无菌组织坏死的传感器,其主要成员包括TLR3、TLR7、TLR9,这些受体已被证明能与线性单链RNA(ssRNA)、双链RNA(dsRNA)、RNA降解产物(富含尿苷和鸟苷的片

段)结合并向下进行信号传导^[53-55].TLRs的刺激同时诱导了TBK1/IKK ϵ 的磷酸化,并促进了IRF3/IRF7的生成,是机体先天免疫的重要途径^[9, 56].有趣的是,未修饰的外源性circRNA可能作为新型非编码RNA激活TLR-TBK1-IRF3/IRF7通路,并可以在蛋白质生产中发挥重要作用^[57-58].以上研究体现了circRNA可能通过TLRs激活TBK1产生先天免疫的功能,提示了TBK1的新型作用点,为肿瘤的先天免疫治疗提供了新思路.

2.2 E3泛素连接酶

在以往的研究中,人们发现几乎所有的蛋白质一生中至少会经历一次泛素化,而E3泛素连接酶(E3 ubiquitin ligase, ITCH)是蛋白质泛素化进程中的关键酶^[20, 59].它既能调控细胞活性,又能诱导ITCH泛素化的TRIM32^[60]、TRIM56^[61]、AMFR^[62]等调节蛋白激活TBK1,进一步调节IFN和NF- κ B通路,对维持稳定的细胞环境和抑制肿瘤的发生发展有着重要作用,但具体机制仍需进一步探索^[63-65].

在circRNA的研究中,ITCH与TBK1的联系密不可分.Kong等^[66]在研究中发现,circ0059955水平的下调能够显著抑制髓核(NP)细胞中ITCH的表达从而诱导NP细胞的凋亡和细胞周期停滞.此外,由ITCH的外显子产生的环状ITCH(circITCH)被证明在宫颈癌^[67]、乳头状甲状腺癌^[68]、乳腺癌^[69]中起到了重要的作用.这说明circRNA可能与ITCH相互作用,从而刺激TBK1诱导细胞自噬和细胞凋亡,这提示circRNA与ITCH的相互作用有望成为肿瘤治疗的一个新型靶点.

2.3 RIG-I-MAVs通路(MAPK)

如前所述,RIG-I-MAVs通路是TBK1重要的上游通路,能特异性识别dsRNA,并能向下传导激活MAPK通路,对机体先天免疫产生重要影响^[30, 70].有研究发现,未经N⁶甲基腺苷(m⁶A)修饰的circRNA在存在赖氨酸63(Lys63)连接的多聚泛素化情况下直接激活RIG-I受体导致MAVs通路的激活^[71].Qin等^[72]也发现,circRNA-9119可以作为竞争性内源RNA调节miR-136和miR-26a的表达来抑制RIG-I的表达,抑制机体的免疫功能.这些研究表明,circRNA可能通过TBK1的上游通路对TBK1起到一定的调节作用,提示circRNA有望作为影响TBK1活性的新型调节因子对肿瘤发生发展产生影响.

2.4 Hippo-YAP/TAZ通路

Hippo途径可以通过限制细胞生长、增殖以及促进细胞凋亡来控制发育过程中器官的大小, 同时还能与非编码RNA (ncRNA) (miRNA、长链非编码RNA、小分子干扰RNA、circRNA) 相互作用从而介导Hippo-YAP/TAZ通路在维持细胞动态平衡和抑制肿瘤发生方面的重要作用^[73-76]. 本文以circRNA为例, 越来越多的研究发现circRNA在Hippo-YAP/TAZ通路中的重要作用. 在结直肠癌方面, circ0106714^[77]、circ0128846^[78]、circPPP1R12A^[79]被证明能通过Hippo-YAP/TAZ通路介导结直肠癌的发生和发展. Feng等^[80]和Peng等^[81]发现, circ008287和circ0000140可以促进YAP蛋白的表达, 分别在下咽癌和口腔鳞状细胞癌中发挥作用. 以上研究证明circRNA可以通过Hippo-YAP/TAZ途径调节肿瘤的发展进程, 也为circRNA作为肿瘤的治疗靶标提供了新的靶点.

最近, Hippo途径与TBK1的研究也有了新突破. Zhang等^[82]发现, YAP/TAZ可以作为TBK1的天然抑制剂, 即它可以通过反式激活域, 防止TBK1 Lys63泛素化使其不能与连接子或底物结合,

从而抑制TBK1的激活, 这在细胞营养和宿主抗病毒防御中起到了重要的作用. 有趣的是, 越来越多的研究证明circRNA可以在Hippo-YAP/TAZ通路介导下调节肿瘤细胞的发生发展^[77-81], 也有研究发现YAP可以通过转录抑制circRNA-000425的表达来促进miR-17和miR-106b的致癌活性^[83]. 这些研究为circRNA-YAP-TBK1的相互作用提供了一定的理论基础, 也提示circRNA可能通过Hippo途径调节TBK1的活性从而影响肿瘤的发展.

3 总结与展望

TBK1作为NF- κ B和IRF3/IRF7通路传导的关键激酶, 在机体的先天免疫、细胞选择性自噬、细胞凋亡、细胞周期调节中起到了难以替代的作用^[70]. TBK1的调控机制是复杂的, 它可以接受翻译后修饰、蛋白质间相互作用、亚细胞定位等多种方式的调节, 且TBK1与肿瘤的发生发展密不可分^[7]. 而抑制TBK1的生物学功能也可能引发抗肿瘤免疫反应, 本文总结了TBK1的生物学功能(图2).

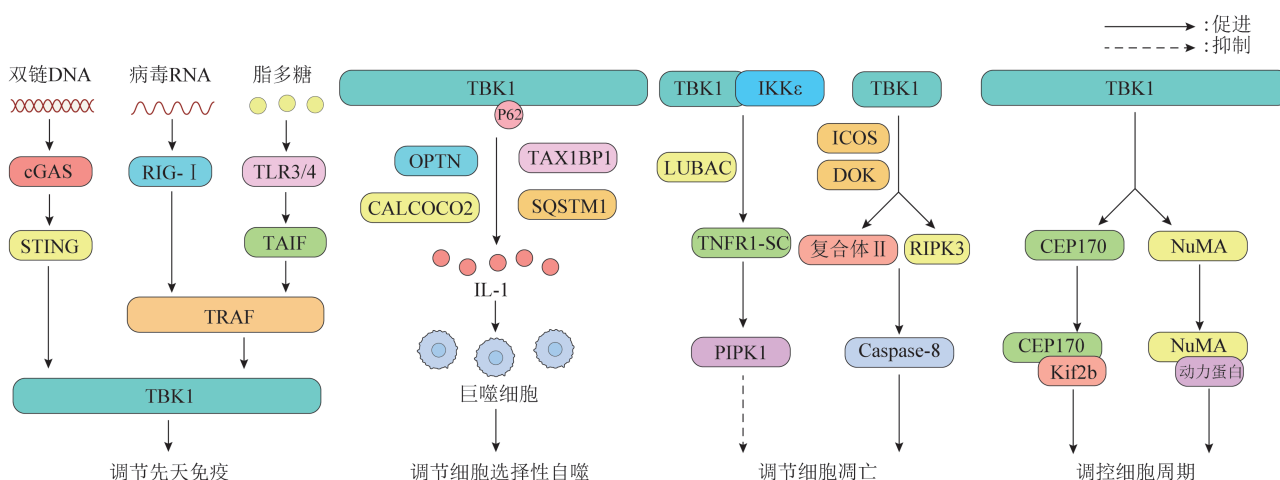


Fig. 2 The biological function of TBK1

图2 TBK1的生物学功能

TAIF: TLR衔接分子1 (TLR adaptor molecule 1), TRAF: 肿瘤坏死因子受体相关分子 (tumor necrosis factor receptor-associated factor).

circRNA作为近年来非编码RNA研究领域的热点, 以其反向互补的稳定序列和对机体多样的生物调节作用受到了许多科学家的青睐. 研究者搭建了circRNA的数据库来方便对circRNA进行研究 (<http://www.circbase.org>)^[84]. 此外, 随着

circRNA独特的结构和生物学功能被研究者逐渐阐明, circRNA能通过作为miRNA海绵、RBP海绵、与mRNA直接结合等方式与肿瘤相关的miRNA或相关的信号通路相互作用, 从而在胃癌^[85]、肺癌^[86]、结肠癌^[77]、肝癌^[87]、口腔鳞状细胞癌^[81]

等肿瘤中发挥重要的调节作用. 这同时也意味着 circRNA 在肿瘤预防、诊断、治疗中的巨大潜力.

已有的研究结果表明, circRNA 可以通过 3 个方面对 TBK1 的活性进行调控: 调控 TBK1 的上游通路 (TLR-TBK1、RIG-I - MAV)、调节 TBK1 的抑制剂 (YAP/TAZ)、调节 TBK1 活性关键调节酶 (ITCH). 本文总结了 Wesselhoeft 等^[57]、Qin 等^[72]、Li 等^[77]、Wang 等^[78]、Zheng 等^[79]、Kong 等^[66] 的研究, 绘制了 circRNA 与 TBK1 的关系示意图 (图 3), 同时总结了 circRNA 调控 TBK1 的表达对肿瘤发生发展的影响 (表 2). 然而 circRNA 是否能直接与 TBK1 相互作用, 目前仍需进一步研究. 此外, 就药物研发而言, 尽管大多数 TBK1 抑制剂对 TBK1 拥有良好的抑制作用, 但因 TBK1 精细的修饰位点、多种调节方式、多种底物和不同的信号传导途径易导致药物特异性降低^[88]. circRNA

作为机体稳定的共价环状结构物, 拥有成为 TBK1 新型靶向抑制剂或激动剂的可能性, 但考虑到 TBK1 与 circRNA 潜在的脱靶作用, 还需通过大量、全面的临床试验验证.

目前, TBK1 已经实现了基于人血清的酶联免疫吸附测定法检测, 能便捷地对 TBK1 进行定性或定量检测. 而目前肿瘤中 circRNA 的检测仍处于起步阶段, 因其有创性和复杂性, 尚难以用于肿瘤的早期检测, 具体的检测方法仍需进一步探索. 此外, TBK1 和 circRNA 在肿瘤治疗方面展现出巨大的潜力. 在以往的研究中, 研究人员认为 TBK1 和 circRNA 皆作为肿瘤的致病因子对肿瘤的发生发展和预后产生一定的影响^[4, 7]. 尽管具体机制仍未阐明, 但有研究表明 TBK1 与 circRNA 之间相互作用能促进肿瘤微环境中细胞因子和趋化因子的形成. 这不仅意味着两者在细胞中能间接调控肿瘤微环境

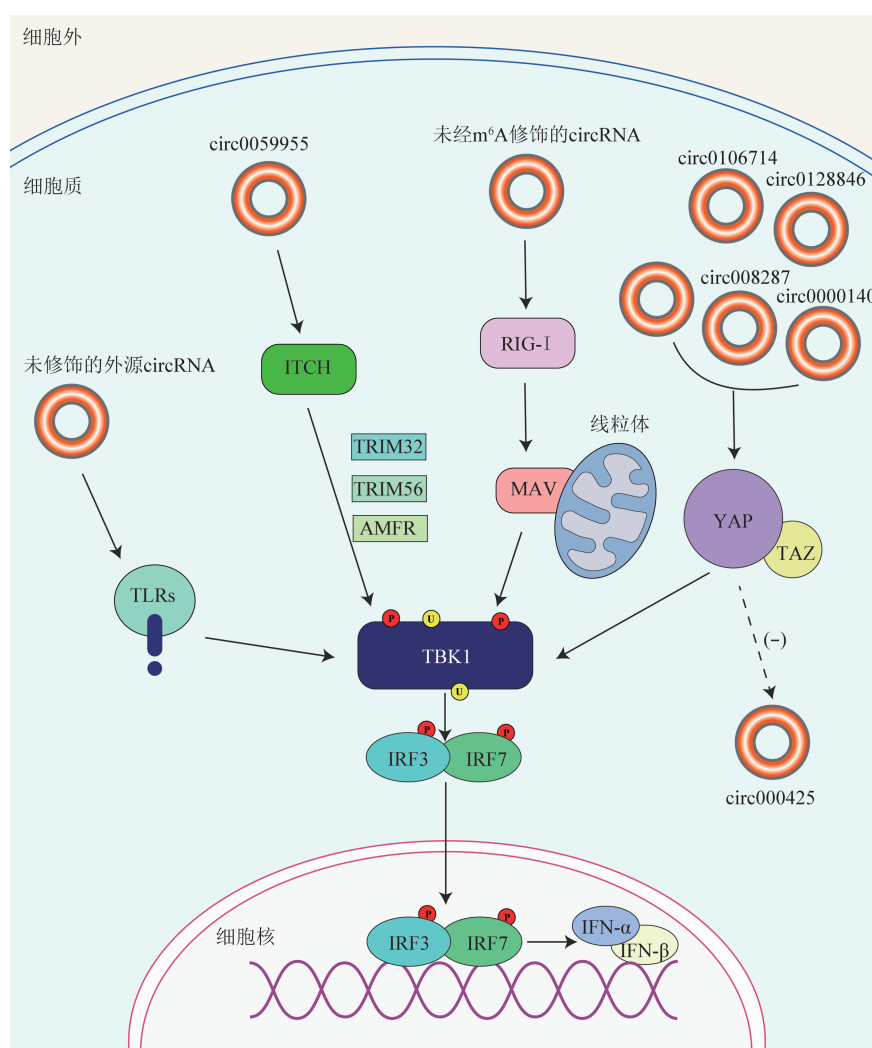


Fig. 3 The relation between circRNA and TBK1

图3 circRNA与TBK1关系示意图

Table 2 The circRNA regulates TBK1 expression in the pathogenesis of tumors

表2 circRNA调控TBK1表达对肿瘤发生发展的影响

circRNA	信号通路	生物学功能	肿瘤	对疾病的影响	参考文献
未修饰的外源circRNA	TLR-TBK1-IRF3/IRF7	先天免疫	不详	不详	[57-58]
circ0059955	ITCH-TBK1-NF-κB/IFN	细胞凋亡/细胞周期	不详	不详	[66]
未经N ⁶ 甲基腺苷修饰的circRNA	RIG-I -MAVs-TBK1	先天免疫	不详	不详	[30, 70]
circ0106714	Hippo-YAP/TAZ-TBK1	细胞凋亡/细胞周期	结直肠癌	抑制	[77]
circ0128846	Hippo-YAP/TAZ-TBK1	细胞凋亡/细胞周期	结直肠癌	促进	[78]
circPPP1R12A	Hippo-YAP/TAZ-TBK1	细胞凋亡/细胞周期	结直肠癌	促进	[79]
circ008287	Hippo-YAP/TAZ-TBK1	细胞凋亡/细胞周期	下咽癌	促进	[80]
circ0000140	Hippo-YAP/TAZ-TBK1	细胞凋亡/细胞周期	口腔鳞状细胞癌	抑制	[81]

的组成, 还意味着TBK1有望联合 circRNA 作为肿瘤早期诊断或预后的新型标志物, 当然其临床应用的有效性还有待考证. 进一步研究 TBK1 与 circRNA 在肿瘤中的作用机制, 将有助于合理的 TBK1 治疗策略的开发.

参 考 文 献

[1] Jeck W R, Sorrentino J A, Wang K, *et al.* Circular RNAs are abundant, conserved, and associated with ALU repeats. *RNA*, 2013, **19**(2): 141-157

[2] Qu S, Yang X, Li X, *et al.* Circular RNA: a new star of noncoding RNAs. *Cancer Letters*, 2015, **365**(2): 141-148

[3] Chen L L, Yang L. Regulation of circRNA biogenesis. *RNA Biology*, 2015, **12**(4): 381-388

[4] Bhuyan R, Bagchi A. Prediction of the differentially expressed circRNAs to decipher their roles in the onset of human colorectal cancers. *Gene*, 2020, **762**: 145035

[5] Conn S J, Pillman K A, Toubia J, *et al.* The RNA binding protein quaking regulates formation of circRNAs. *Cell*, 2015, **160**(6): 1125-1134

[6] Pamudurti N R, Bartok O, Jens M, *et al.* Translation of circRNAs. *Molecular Cell*, 2017, **66**(1): 9-21.e7

[7] Revach O Y, Liu S, Jenkins R W. Targeting TANK-binding kinase 1 (TBK1) in cancer. *Expert Opinion on Therapeutic Targets*, 2020, **24**(11): 1065-1078

[8] Basit A, Cho M G, Kim E Y, *et al.* The cGAS/STING/TBK1/IRF3 innate immunity pathway maintains chromosomal stability through regulation of p21 levels. *Experimental & Molecular Medicine*, 2020, **52**(4): 643-657

[9] Yu N, Xu X, Qi G, *et al.* Ctenopharyngodon idella TBK1 activates innate immune response *via* IRF7. *Fish & Shellfish Immunology*, 2018, **80**: 521-527

[10] Fitzgerald K A, McWhirter S M, Faia K L, *et al.* IKKepsilon and TBK1 are essential components of the IRF3 signaling pathway. *Nature Immunology*, 2003, **4**(5): 491-496

[11] Xiao Y, Zou Q, Xie X, *et al.* The kinase TBK1 functions in dendritic cells to regulate T cell homeostasis, autoimmunity, and antitumor immunity. *The Journal of Experimental Medicine*, 2017, **214**(5): 1493-1507

[12] Levine B, Kroemer G. Autophagy in the pathogenesis of disease. *Cell*, 2008, **132**(1): 27-42

[13] Stolz A, Ernst A, Dikic I. Cargo recognition and trafficking in selective autophagy. *Nature Cell Biology*, 2014, **16**(6): 495-501

[14] Heo J M, Ordureau A, Paulo J A, *et al.* The PINK1-PARKIN mitochondrial ubiquitylation pathway drives a program of OPTN/NDP52 recruitment and TBK1 activation to promote mitophagy. *Molecular Cell*, 2015, **60**(1): 7-20

[15] Newton K. RIPK1 and RIPK3: critical regulators of inflammation and cell death. *Trends in Cell Biology*, 2015, **25**(6): 347-353

[16] Lafont E, Draber P, Rieser E, *et al.* TBK1 and IKKepsilon prevent TNF-induced cell death by RIPK1 phosphorylation. *Nature Cell Biology*, 2018, **20**(12): 1389-1399

[17] Heger K, Dixit V M. TBK1 and IKKepsilon restrain cell death. *Nature Cell Biology*, 2018, **20**(12): 1330-1331

[18] Otto T, Sicinski P. Cell cycle proteins as promising targets in cancer therapy. *Nature Reviews Cancer*, 2017, **17**(2): 93-115

[19] Sarraf S A, Sideris D P, Giagtzoglou N, *et al.* PINK1/Parkin influences cell cycle by sequestering TBK1 at damaged mitochondria, inhibiting mitosis. *Cell Reports*, 2019, **29**(1): 225-235.e5

[20] Dang F, Nie L, Wei W. Ubiquitin signaling in cell cycle control and tumorigenesis. *Cell Death and Differentiation*, 2021, **28**(2): 427-438

[21] Tu D, Zhu Z, Zhou A Y, *et al.* Structure and ubiquitination-dependent activation of TANK-binding kinase 1. *Cell Reports*, 2013, **3**(3): 747-758

[22] Zhang C, Shang G, Gui X, *et al.* Structural basis of STING binding with and phosphorylation by TBK1. *Nature*, 2019, **567**(7748): 394-398

[23] Zhao W. Negative regulation of TBK1-mediated antiviral immunity. *FEBS Letters*, 2013, **587**(6): 542-548

[24] Ma X, Helgason E, Phung Q T, *et al.* Molecular basis of Tank-binding kinase 1 activation by transautophosphorylation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, **109**(24): 9378-9383

[25] Li J, Li J, Miyahira A, *et al.* Crystal structure of the ubiquitin-like

- domain of human TBK1. *Protein & Cell*, 2012, **3**(5): 383-391
- [26] Hegde R N, Chiki A, Petricca L, *et al.* TBK1 phosphorylates mutant Huntingtin and suppresses its aggregation and toxicity in Huntington's disease models. *The EMBO Journal*, 2020, **39**(17): e104671
- [27] Chen W, Luo K, Ke Z, *et al.* TBK1 promote bladder cancer cell proliferation and migration *via* Akt signaling. *Journal of Cancer*, 2017, **8**(10): 1892-1899
- [28] Akira S, Uematsu S, Takeuchi O. Pathogen recognition and innate immunity. *Cell*, 2006, **124**(4): 783-801
- [29] Kawai T, Akira S. The roles of TLRs, RLRs and NLRs in pathogen recognition. *International Immunology*, 2009, **21**(4): 317-337
- [30] Takeuchi O, Akira S. Pattern recognition receptors and inflammation. *Cell*, 2010, **140**(6): 805-820
- [31] Tanaka Y, Chen Z J. STING specifies IRF3 phosphorylation by TBK1 in the cytosolic DNA signaling pathway. *Science Signaling*, 2012, **5**(214): ra20
- [32] Balka K R, Louis C, Saunders T L, *et al.* TBK1 and IKKepsilon act redundantly to mediate STING-induced NF-kappaB responses in myeloid cells. *Cell Reports*, 2020, **31**(1): 107492
- [33] Dhanwani R, Takahashi M, Sharma S. Cytosolic sensing of immuno-stimulatory DNA, the enemy within. *Current Opinion in Immunology*, 2018, **50**: 82-87
- [34] Qi Z, Yan F, Chen D, *et al.* Identification of prognostic biomarkers and correlations with immune infiltrates among cGAS-STING in hepatocellular carcinoma. *Bioscience Reports*, 2020, **40**(10) : BSR20202603
- [35] Padilla-Salinas R, Sun L, Anderson R, *et al.* Discovery of small-molecule cyclic GMP-AMP synthase inhibitors. *The Journal of Organic Chemistry*, 2020, **85**(3): 1579-1600
- [36] Richter B, Sliter D A, Herhaus L, *et al.* Phosphorylation of OPTN by TBK1 enhances its binding to Ub chains and promotes selective autophagy of damaged mitochondria. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, **113**(15): 4039-4044
- [37] Pilli M, Arko-Mensah J, Ponpuak M, *et al.* TBK-1 promotes autophagy-mediated antimicrobial defense by controlling autophagosome maturation. *Immunity*, 2012, **37**(2): 223-234
- [38] Matsumoto G, Shimogori T, Hattori N, *et al.* TBK1 controls autophagosomal engulfment of polyubiquitinated mitochondria through p62/SQSTM1 phosphorylation. *Human Molecular Genetics*, 2015, **24**(15): 4429-4442
- [39] Lazarou M, Sliter D A, Kane L A, *et al.* The ubiquitin kinase PINK1 recruits autophagy receptors to induce mitophagy. *Nature*, 2015, **524**(7565): 309-314
- [40] McIlwain D R, Berger T, Mak T W. Caspase functions in cell death and disease. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 2013, **5**(4): a008656
- [41] Nagata S, Hanayama R, Kawane K. Autoimmunity and the clearance of dead cells. *Cell*, 2010, **140**(5): 619-630
- [42] Czabotar P E, Lessene G, Strasser A, *et al.* Control of apoptosis by the BCL-2 protein family: implications for physiology and therapy. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2014, **15**(1): 49-63
- [43] Zhou R, Zhang Q, Xu P. TBK1, a central kinase in innate immune sensing of nucleic acids and beyond. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, 2020, **52**(7): 757-767
- [44] Kuai J, Wooters J, Hall J P, *et al.* NAK is recruited to the TNFR1 complex in a TNFalpha-dependent manner and mediates the production of RANTES: identification of endogenous TNFR-interacting proteins by a proteomic approach. *The Journal of Biological Chemistry*, 2004, **279**(51): 53266-53271
- [45] Peltzer N, Darding M, Walczak H. Holding RIPK1 on the ubiquitin leash in TNFR1 signaling. *Trends in Cell Biology*, 2016, **26**(6): 445-461
- [46] Pedros C, Zhang Y, Hu J K, *et al.* A TRAF-like motif of the inducible costimulator ICOS controls development of germinal center TFH cells via the kinase TBK1. *Nature Immunology*, 2016, **17**(7): 825-833
- [47] Xu D, Jin T, Zhu H, *et al.* TBK1 suppresses RIPK1-driven apoptosis and inflammation during development and in aging. *Cell*, 2018, **174**(6): 1477-1491.e19
- [48] Liu X, He J, Chen L, *et al.* TBK1 variants in Chinese patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Neurobiology of Aging*, 2020, **97**: 149.e9-149.e15
- [49] Gerbino V, Kaunga E, Ye J, *et al.* The loss of TBK1 kinase activity in motor neurons or in all cell types differentially impacts ALS disease progression in SOD1 mice. *Neuron*, 2020, **106**(5): 789-805.e5
- [50] Pillai S, Nguyen J, Johnson J, *et al.* Tank binding kinase 1 is a centrosome-associated kinase necessary for microtubule dynamics and mitosis. *Nature Communications*, 2015, **6**: 10072
- [51] Genin P, Cuvelier F, Lambin S, *et al.* Optineurin regulates the interferon response in a cell cycle-dependent manner. *PLoS Pathogens*, 2015, **11**(4): e1004877
- [52] Onorati M, Li Z, Liu F, *et al.* Zika virus disrupts phospho-TBK1 localization and mitosis in human neuroepithelial stem cells and radial glia. *Cell Reports*, 2016, **16**(10): 2576-2592
- [53] Tanji H, Ohto U, Shibata T, *et al.* Toll-like receptor 8 senses degradation products of single-stranded RNA. *Nature Structural & Molecular Biology*, 2015, **22**(2): 109-115
- [54] Tatematsu M, Nishikawa F, Seya T, *et al.* Toll-like receptor 3 recognizes incomplete stem structures in single-stranded viral RNA. *Nature Communications*, 2013, **4**: 1833
- [55] Zhang Z, Ohto U, Shibata T, *et al.* Structural analysis reveals that toll-like receptor 7 is a dual receptor for guanosine and single-stranded RNA. *Immunity*, 2016, **45**(4): 737-748
- [56] Zhang J, Wu X M, Hu Y W, *et al.* A novel transcript isoform of TBK1 negatively regulates type I IFN production by promoting proteasomal degradation of TBK1 and lysosomal degradation of IRF3. *Frontiers in Immunology*, 2020, **11**: 580864
- [57] Wesselhoeft R A, Kowalski P S, Parker-Hale F C, *et al.* RNA circularization diminishes immunogenicity and can extend translation duration *in vivo*. *Molecular Cell*, 2019, **74**(3): 508-520.e4

- [58] Wesselhoeft R A, Kowalski P S, Anderson D G. Engineering circular RNA for potent and stable translation in eukaryotic cells. *Nature Communications*, 2018, **9**(1): 2629
- [59] Senft D, Qi J, Ronai Z A. Ubiquitin ligases in oncogenic transformation and cancer therapy. *Nature Reviews Cancer*, 2018, **18**(2): 69-88
- [60] Zhang J, Hu M M, Wang Y Y, *et al.* TRIM32 protein modulates type I interferon induction and cellular antiviral response by targeting MITA/STING protein for K63-linked ubiquitination. *The Journal of Biological Chemistry*, 2012, **287**(34): 28646-28655
- [61] Tsuchida T, Zou J, Saitoh T, *et al.* The ubiquitin ligase TRIM56 regulates innate immune responses to intracellular double-stranded DNA. *Immunity*, 2010, **33**(5): 765-776
- [62] Wang Q, Liu X, Cui Y, *et al.* The E3 ubiquitin ligase AMFR and INSIG1 bridge the activation of TBK1 kinase by modifying the adaptor STING. *Immunity*, 2014, **41**(6): 919-933
- [63] Ciechanover A. The unravelling of the ubiquitin system. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2015, **16**(5): 322-324
- [64] Foot N, Henshall T, Kumar S. Ubiquitination and the regulation of membrane proteins. *Physiological Reviews*, 2017, **97**(1): 253-281
- [65] Khaminets A, Behl C, Dikic I. Ubiquitin-dependent and independent signals in selective autophagy. *Trends in Cell Biology*, 2016, **26**(1): 6-16
- [66] Kong D, Gu R, Zhang C, *et al.* Knockdown of hsa_circ_0059955 induces apoptosis and cell cycle arrest in nucleus pulposus cells *via* inhibiting itchy E3 ubiquitin protein ligase. *Drug Design, Development and Therapy*, 2020, **14**: 3951-3963
- [67] Li J, Guo R, Liu Q, *et al.* Circular RNA circ-ITCH inhibits the malignant behaviors of cervical cancer by microRNA-93-5p/FOXK2 axis. *Reproductive Sciences*, 2020, **27**(3): 860-868
- [68] Wang M, Chen B, Ru Z, *et al.* CircRNA circ-ITCH suppresses papillary thyroid cancer progression through miR-22-3p/CBL/ β -catenin pathway. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2018, **504**(1): 283-288
- [69] Wang S T, Liu L B, Li X M, *et al.* Circ-ITCH regulates triple-negative breast cancer progression through the Wnt/ β -catenin pathway. *Neoplasia*, 2019, **66**(2): 232-239
- [70] Lin S, Zhao X L, Wang Z. TANK-binding kinase 1 mediates osteoclast differentiation by regulating NF- κ B, MAPK and Akt signaling pathways. *Immunology and Cell Biology*, 2020, **99**(2): 223-233
- [71] Chen Y G, Chen R, Ahmad S, *et al.* N6-methyladenosine modification controls circular RNA immunity. *Molecular Cell*, 2019, **76**(1): 96-109.e9
- [72] Qin L, Lin J, Xie X. CircRNA-9119 suppresses poly I:C induced inflammation in leydig and sertoli cells *via* TLR3 and RIG-I signal pathways. *Molecular Medicine*, 2019, **25**(1): 28
- [73] Meng Z, Moroishi T, Guan K L. Mechanisms of Hippo pathway regulation. *Genes & Development*, 2016, **30**(1): 1-17
- [74] Warren J S A, Xiao Y, Lamar J M. YAP/TAZ activation as a target for treating metastatic cancer. *Cancers*, 2018, **10**(4): 115
- [75] Zhang K, Qi H X, Hu Z M, *et al.* YAP and TAZ take center stage in cancer. *Biochemistry*, 2015, **54**(43): 6555-6566
- [76] Liu C, Wu Y, Ma J. Interaction of non-coding RNAs and Hippo signaling: implications for tumorigenesis. *Cancer Letters*, 2020, **493**: 207-216
- [77] Li S, Yan G, Liu W, *et al.* Circ0106714 inhibits tumorigenesis of colorectal cancer by sponging miR-942-5p and releasing DLG2 *via* Hippo-YAP signaling. *Molecular Carcinogenesis*, 2020, **59**(12): 1323-1342
- [78] Wang X, Chen Y, Liu W, *et al.* Hsa_circ_0128846 promotes tumorigenesis of colorectal cancer by sponging hsa-miR-1184 and releasing AJUBA and inactivating Hippo/YAP signalling. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 2020, **24**(17): 9908-9924
- [79] Zheng X, Chen L, Zhou Y, *et al.* A novel protein encoded by a circular RNA circPPP1R12A promotes tumor pathogenesis and metastasis of colon cancer *via* Hippo-YAP signaling. *Molecular Cancer*, 2019, **18**(1): 47
- [80] Feng C, Li Y, Lin Y, *et al.* CircRNA-associated ceRNA network reveals ErbB and Hippo signaling pathways in hypopharyngeal cancer. *International Journal of Molecular Medicine*, 2018, **43**(1): 127-142
- [81] Peng Q S, Cheng Y N, Zhang W B, *et al.* circRNA_0000140 suppresses oral squamous cell carcinoma growth and metastasis by targeting miR-31 to inhibit Hippo signaling pathway. *Cell Death & Disease*, 2020, **11**(2): 112
- [82] Zhang Q, Meng F, Chen S, *et al.* Hippo signalling governs cytosolic nucleic acid sensing through YAP/TAZ-mediated TBK1 blockade. *Nature Cell Biology*, 2017, **19**(4): 362-374
- [83] Liu Z, Huang S, Cao Y, *et al.* YAP1 inhibits circRNA-000425 expression and thus promotes oncogenic activities of miR-17 and miR-106. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2018, **503**(4): 2370-2375
- [84] Glazar P, Papavasileiou P, Rajewsky N. circBase: a database for circular RNAs. *RNA*, 2014, **20**(11): 1666-1670
- [85] Cao J, Zhang X, Xu P, *et al.* Circular RNA circLMO7 acts as a microRNA-30a-3p sponge to promote gastric cancer progression *via* the WNT2/ β -catenin pathway. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 2021, **40**(1): 6
- [86] Zhang F, Cheng R, Li P, *et al.* Hsa_circ_0010235 functions as an oncogenic drive in non-small cell lung cancer by modulating miR-433-3p/TIPRL axis. *Cancer Cell International*, 2021, **21**(1): 73
- [87] Sun S, Gao J, Zhou S, *et al.* A novel circular RNA circ-LRIG3 facilitates the malignant progression of hepatocellular carcinoma by modulating the EZH2/STAT3 signaling. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 2020, **39**(1): 252
- [88] Zhao C, Zhao W. TANK-binding kinase 1 as a novel therapeutic target for viral diseases. *Expert Opinion on Therapeutic Targets*, 2019, **23**(5): 437-446

The Regulation of Circular RNA to TBK1 in The Pathogenesis of Tumors*

ZHU Jun-Chang¹⁾, ZHANG Yu-Xuan¹⁾, GE Bin-Jie²⁾, Hu Pan-Jie²⁾, TANG Jia-Lü¹⁾,
CAI Wen-Pin³⁾, JI Jing-Zhang^{2,4,5)}**

¹⁾College of Renji, Wenzhou Medical University, Wenzhou 325000, China;

²⁾College of Laboratory Medicine and Life Sciences, Wenzhou Medical University, Wenzhou 325000, China;

³⁾Hospital of Traditional Chinese Medicine, Wenzhou 325000, China;

⁴⁾Key Laboratory of Laboratory Medicine, Ministry of Education, Wenzhou Medical University, Wenzhou 325000, China;

⁵⁾Key Laboratory of Medical Genetics of Zhejiang Province, Wenzhou Medical University, Wenzhou 325000, China)

Abstract The TANK-binding kinase 1(TBK1) is a serine and threonine kinase. It plays important roles in regulating biological functions of the body, such as sequestering the innate immunity, modulating the cell selective autophagy, regulating the apoptosis, and monitoring the cell regeneration. These mechanisms emphasize that TBK1 is inseparable from tumors, which also means inhibiting the biological function of TBK1 may induce an antitumor immune response. The circle RNA (circRNA) is a novel class of the no-coding RNA with the fixed loop structure and proved to influence on many kinds of tumor, such as gastric cancer, lung cancer, colon cancer and liver cancer, attracting the widespread concern from the scholars. Recent evidence suggests TBK1 interacts with circRNA directly, affecting the developments and the differentiation of the tumor cell. These analyses have showed the interaction between TBK1 and circRNA, which can promote the formation of cytokines and chemokines in the tumor microenvironment, reflecting the great potential of them in the tumor targeted therapy. In order to analyze their interaction patterns and shed new light on the tumor targeted therapy, this paper summarizes the research on TBK1 and circRNA in tumors in the past 10 years.

Key words TBK1, circle RNA, tumor

DOI: 10.16476/j.pibb.2020.0447

* This work was supported by grants from the Training Program of National University Student Innovation and Entrepreneurship (201710343002, 202010343021), the Natural Science Public Welfare Foundation of Zhejiang Province (LGF18H200003), the Natural Science Young Scientists Foundation of Zhejiang Province (LQ19H200002), the University Student Science and Technology Innovation Project of Zhejiang Province (2017R413050, 2017R413051, 2020R413023), the School-level Student Research Project of Wenzhou Medical University (wyx2020101005, wyx2020101009).

** Corresponding author.

Tel: 86-577-86699727, E-mail: jjz@wmu.edu.cn

Received: February 5, 2021 Accepted: March 19, 2021