



外泌体环状RNA在泌尿系统肿瘤中的研究进展*

谢 哲 李一帆** 王小祥** 潘 翔 张逸莲 曹 倩 田浩宇 殷桂草

(扬州大学医学院附属医院泌尿外科, 扬州 225000)

摘要 外泌体是一种包含了复杂RNA和蛋白质的膜性囊泡,其主要来源于细胞内溶酶体微粒内陷形成的多囊泡体,经多囊泡体外膜与细胞膜融合后释放到胞外基质中。外泌体在肿瘤微环境中介导细胞间通讯,其功能取决于来源的细胞类型。环状RNA是一类由前体mRNA反向剪接生成的非编码RNA,在外泌体中富集且稳定表达。外泌体环状RNA在疾病中发挥了重要的调控作用,其作为肿瘤标志物和治疗靶点的临床应用前景与价值现已成为研究热点。本文就外泌体环状RNA在泌尿系统肿瘤中的研究进展作一综述。

关键词 外泌体, 环状RNA, 泌尿系统, 肿瘤

中图分类号 R737.1

DOI: 10.16476/j.pibb.2022.0048

肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME)是指适合肿瘤细胞生长、侵袭和转移的特殊内在环境,包括基质细胞、免疫细胞、细胞外基质、外泌体等亚细胞成分以及缺氧等环境因素^[1-4]。

外泌体(exosomes)的直径一般在30~150 nm^[5],从多泡体(multivesicular body, MVB)释放到细胞外环境后,将内容物,如蛋白质、RNA、脂类、氨基酸等,递送到受体细胞和特定器官^[6-9]。环状RNA(circular RNA, 简称circRNAs)是一类曾被认为是共价闭合环状结构的非编码RNA,但现在也有研究表明, circRNAs在经过N6-腺苷酸甲基化(N6-methyladenosine, m6A)介导后,可以编码蛋白质^[10]。circRNAs在外泌体中富集且稳定表达,可以抵抗核酸外切酶的降解^[11],且可在体液中检测到^[12-13]。外泌体来源的circRNAs调控上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transformation, EMT)、肿瘤血管生成、化疗耐药等,在肿瘤微环境中发挥重要作用^[14-17]。外泌体circRNAs与临床病理特征密切相关,因此具有临床诊断意义和治疗价值。

1 外泌体环状RNA的分选、释放及检测方法

1.1 外泌体的形成以及外泌体环状RNA的分选

外泌体存在于血液、尿液、腹水、唾液、胆

汁、脑脊液和其他体液中^[18]。外泌体的形成大致分为3个阶段,即起始内吞期、MVB形成期和外泌体分泌期^[19](图1)。起始内吞期:质膜内陷,经内吞作用,形成内吞室,内吞室相互融合形成早期内体^[20]。MVB形成期:内体膜向内体内褶返,通过逆出芽方式形成胞内囊泡(intraluminal vesicle, ILV)^[21]。ILV在内体中积累,富含ILV的晚期内体为MVB。外泌体分泌期:含有高胆固醇的MVB,其膜表面有溶酶体相关膜蛋白1(lysosomal membrane-associated protein1, LAMP1)、LAMP2、CD63(即LAMP3)等,可介导其与细胞质膜融合,并向胞外释放外泌体^[22-25];其余的MVB与溶酶体融合,降解其内容物。

研究表明, circRNAs与细胞内microRNAs(miRNAs)结合,且外泌体中也富含miRNAs,所以circRNAs分选进入外泌体受到细胞中相关

* 国家自然科学基金(82002675),江苏省高等学校自然科学研究面上项目(20KJB320014),江苏省科技计划-青年基金项目(BK2020938),扬州市重点研发计划-社会发展项目(YZ2020110),扬州市软科学研究计划(YZ2020258),江苏省博士后科研资助计划(2020ZZ268)和扬州大学高层次人才科研启动基金(2019LYF)资助项目。

** 通讯联系人。

李一帆 Tel: 18801227512, E-mail: yfli@bjmu.edu.cn

王小祥 Tel: 18936489811, E-mail: 18936489811@163.com

收稿日期: 2022-02-14, 接受日期: 2022-06-16

miRNAs水平变化的调控。例如, Li等^[12]将miR-7模拟物引入细胞并测量其中circRNA CDR1as的丰度, 结果显示, 外泌体中CDR1as的丰度降低, 而细胞中的CDR1as丰度轻微增加, 说明miRNAs对circRNAs分选进入外泌体产生了影响。

MVB上的RNA结合蛋白(RNA binding proteins, RBP)在外泌体分选RNA中发挥作用, RBP可识别RNA的特定基序并将其分选装载入外泌体, 同时保护它们不被降解。而AGO蛋白被认为是非编码RNA(non-coding RNA, ncRNA)的重要载体, 参与ncRNA包装入外泌体的过程。苏素化的蛋白质异质核糖核蛋白A2B1(heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A2B1, hnRNPA2B1)能通过miRNA上的外泌体基因序列结合miRNA, 控制其在外泌体的装载, 故hnRNPA2B1可能是miRNA分选进入外泌体的关键点^[26]。此外, 研究发现, KRAS-MEK-ERK通路促进了AGO2蛋白磷酸化, 抑制AGO2蛋白将miRNAs分选进入外泌体, 从而影响miRNA在外泌体中的分泌^[27]。

综上所述, MVB上的RBP、AGO蛋白、

hnRNPA2B1都可能通过调控miRNAs分选进入外泌体这一过程, 进而影响circRNAs分选进入外泌体, 但circRNAs分选进入外泌体的具体机制目前仍未研究清楚。

1.2 外泌体环状RNA的释放

细胞分泌外泌体circRNAs, 将其释放到细胞外环境可能与circRNAs的大小有关。Preusser等^[28]发现, 外泌体优先释放较小的circRNAs, 细胞内未分泌出去的circRNAs平均为459 nt, 而外泌体释放的circRNAs平均为435 nt。外泌体的分泌由不同的分子调节, 一些Rab分子可以促进外泌体的分泌, 如Rab27^[29]、Rab35和Ral蛋白^[30]。MVB蛋白TSG101的ISG修饰(泛素化修饰)可促进MVB与溶酶体融合, 减少外泌体的分泌^[31]。

可溶性NSF附着蛋白受体(soluble NSF-attachment protein receptor, SNARE)家族是外泌体分泌中另一个重要的调节分子。MVB膜上的V-SNARE与细胞质膜上的t-SNARE结合, 形成稳定的SNARE复合物^[32], 介导MVB与质膜的融合有助于脂质双分子层融合, 促进外泌体的释放(图1)。

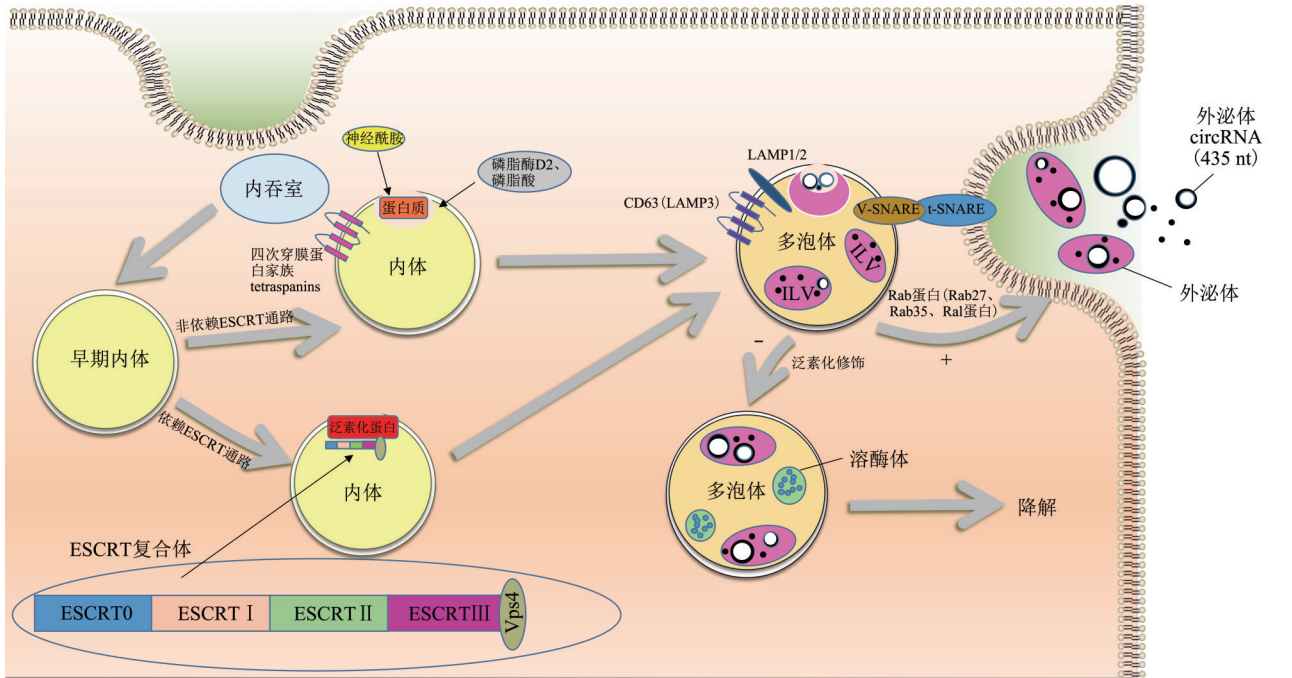


Fig. 1 Diagram of exosome formation and sorting and release of exosomal circRNAs

图1 外泌体的形成以及外泌体环状RNA的分选与释放示意图

ESCRT0: 招募下游ESCRTI ; ESCRTI 、ESCRTII : 通过逆出芽作用向内包裹特异的内容物; ESCRTIII: 切断囊泡膜和腺苷三磷酸酶细胞液泡分选蛋白4 (Vps4) 驱动膜, 形成ILV; Vps4: 促使膜与ESCRT复合体的分离。ESCRT: 内体分选复合体; ILV: 胞内囊泡; LAMP: 溶酶体相关膜蛋白; SNARE: 可溶性NSF附着蛋白受体。

1.3 外泌体环状RNA的检测方法

许多常用的分子生物学技术已经被应用于外泌体 circRNAs 的检测，主要包括：逆转录 PCR (RT-PCR)、实时荧光定量 PCR (RT-qPCR)、微滴式数字 PCR (ddPCR)、Northern blotting、微阵列

(microarrays)、RNA 测序 (RNA sequencing)、NanoString Technologies nCounter 等^[33]。circRNAs 的检测方法与上述外泌体 circRNAs 的检测方法相同。每一项技术的优缺点见表 1。

Table 1 Methods for the detection of exosomal circRNAs

表1 外泌体circRNAs的检测方法

方法	优点	缺点
RT-PCR	有标准化的设备和检测要求	不能定量
RT-qPCR	可定量	检测精度不稳定
ddPCR	可精确定量	需专业设备
Northern blotting	无酶检测	步骤繁琐
Microarrays	可同时分析大量circRNAs	不能提供对应的线性信息
RNA Sequencing	可以发现新的circRNAs	结果分析需要生物信息学专业知识及计算机编程能力
NanoString Technologies nCounter	无酶、可精确定量	需专业设备

2 外泌体环状RNA在泌尿系统肿瘤中的生物学功能

近年来，外泌体 circRNAs 在多种疾病当中均被广泛研究^[34]。在泌尿系统肿瘤中，外泌体 circRNAs 除了能影响肿瘤细胞的增殖，还可以影响肿瘤细胞的转移、化疗耐药，但是在其他某些系统中的生物学功能，如影响肿瘤血管生成，未在泌尿系统肿瘤中体现。

2.1 外泌体环状RNA影响肿瘤细胞的增殖

外泌体 circRNA-FMN2 在前列腺癌 (prostatic cancer, PCa) 组织中作为 miR-1238 的海绵。miR-1238 通过 LIM 同源盒基因 2 (LIM-homeobox gene 2, LHX2) mRNA 的 3'UTR 与 LHX2 mRNA 结合，可令 LHX2 沉默，降低 PC3 细胞的细胞增殖。因此，外泌体 circRNA-FMN2 在 PCa 组织中通过 circRNA-FMN2/miR-1238/LHX2 通路，下调 miR-1238 表达，从而上调 LHX2 表达，促进 PCa 细胞的增殖^[35]。

在膀胱癌组织中，外泌体 hsa-circRNA-0137606 和外泌体 hsa-circRNA-0000285 表达均下降，膀胱癌患者血清中的外泌体 hsa-circRNA-0000285 表达也下降。hsa-circRNA-0137606 作为 miR-1231 的海绵，可抑制膀胱癌细胞的增殖，其基因敲除促进了体外膀胱癌细胞的增殖^[36]。hsa-circRNA-0000285 也可通过调控 miR-124 和 miR-558，抑制膀胱癌细胞的增殖^[37]。

2.2 外泌体环状RNA影响肿瘤细胞的转移

EMT 是一种可逆的去分化过程，是肿瘤转移的中心机制。在 EMT 过程中，上皮细胞可能通过失去细胞间的连接细胞极性，获得间质表型，外泌体 circRNAs 通过调控下游靶点，使上皮标志物 E-钙黏蛋白的表达量下降，间充质标记物 N-钙黏蛋白和波形蛋白的表达量上调。Chen 等^[38] 研究发现，膀胱尿路上皮癌 (urothelial carcinoma of bladder, UCB) 组织中外泌体 circRNA-PRMT5 作为 miR-30c 的海绵，调控 SNAIL1/E-钙黏蛋白信号通路，上调 SNAIL1，并下调 E-钙黏蛋白，促进 UCB 细胞 EMT，促进肿瘤发生和转移。

外泌体 hsa-circRNA-0137606 和外泌体 hsa-circRNA-0000285 也均可抑制膀胱癌细胞的转移^[36-37]。

来自前列腺患者血液样本中的外泌体 circRNA-HIPK3 作为 miR-212 的海绵，其表达减少降低了前列腺癌细胞的生存能力、迁移和侵袭能力。MiR-212 靶向 BMI-1，下调 BMI-1 的表达，miR-212 抑制和 BMI-1 均抑制体内肿瘤的生长。因此，外泌体 circRNA-HIPK3 基因敲低可通过调控 miR-212/BMI-1 轴抑制前列腺癌进展^[39]。

2.3 外泌体环状RNA调控肿瘤化疗耐药

外泌体 circRNAs 传递多重耐药蛋白至受体细胞，诱导肿瘤的耐药性形成^[5]。Yan 等^[40] 研究发现，在肾透明细胞癌 (clear cell renal cell carcinoma, ccRCC) 中，癌组织中外泌体 hsa-circRNA-0035483 的表达上调，其可作为 hsa-miR-335

的海绵, 靶向结合吉西他滨, 上调CCNB1的表达, 激活肾透明癌细胞TK10和UO31细胞的自噬, 抑制凋亡, 增强ccRCC对吉西他滨的耐药性。

在PCa组织细胞中, Zhang等^[41]研究发现, 外泌体circRNA-XIAP表达上调, 其作为miR-1182的海绵, 下调miR-1182在PCa组织中的表达, miR-1182上调下游靶点TPD52的表达。TPD52通过抑制肝激酶B1 (liver kinase B1, LKB1) / 腺苷酸活化蛋白激酶 (AMP-activated protein kinase, AMPK) 介导的自噬增加PCa的多西他赛抗性。

2.4 外泌体环状RNA影响肿瘤细胞凋亡

外泌体circRNA-FMN2敲除导致PC3细胞和DU145细胞G1期的停滞, 且增加了PC3细胞和DU145细胞的凋亡率; 过表达circRNA-FMN2可降低人前列腺癌细胞G0/G1期百分率, 抑制人前列腺癌细胞凋亡^[35]。因此, circRNA-FMN2通过促进DNA合成和促进细胞周期进程来抑制PCa细胞的凋亡。外泌体circRNA-HIPK3表达水平降低不仅降低了PCa细胞的生存能力、迁移和侵袭能力, 而且促进了PCa细胞凋亡^[39]。

2.5 外泌体环状RNA调控肿瘤血管生成

肿瘤的进展通常伴随着血管的生长, 血管生成

可以导致肿瘤细胞的增殖, 并形成肿瘤缺氧环境^[42], 加快肿瘤的发展和转移。Xie等^[43]研究发现, 外泌体circRNA-SHKBP1作为miR-582-3p的海绵, 增加HUR蛋白的表达, 增强了血管内皮生长因子mRNA的稳定性, 促进了胃癌的血管生成。但目前尚未发现外泌体circRNAs调控泌尿系统肿瘤血管生成。

2.6 外泌体环状RNA影响肿瘤微环境中CD8+ T细胞的功能

CD8+ T细胞在介导抗肿瘤免疫中发挥了重要作用, 尤其是当CD8+ T细胞浸润到TME中时, 与多种肿瘤, 如乳腺癌、黑色素瘤、结直肠癌的良好预后有关^[44]。Yang等^[45]研究表明, 外泌体circRNA-TRPS1 (外泌体hsa-circRNA-0085361) 在膀胱癌组织中低表达, 通过circTRPS1/miR-141-3p/GLS1轴调节细胞内活性氧平衡, 抑制了TME中CD8+ T细胞耗用, 从而抑制了膀胱癌的恶性表型。

外泌体circRNAs在泌尿系统肿瘤中的生物学功能总结见表2。

Table 2 Biological functions of exosomal circRNAs in urinary tumors
表2 外泌体环状RNA在泌尿系统肿瘤中的生物学功能

肿瘤类型	样本来源	外泌体环状RNA	表达水平	生物学功能	参考文献
前列腺癌	前列腺癌组织	外泌体circRNA-FMN2	高表达	促进肿瘤细胞增殖 抑制肿瘤细胞凋亡	[35]
前列腺癌	血液	外泌体circRNA-HIPK3	高表达	促进肿瘤细胞转移 抑制肿瘤细胞凋亡	[39]
前列腺癌	前列腺癌组织	外泌体circRNA-XIAP	高表达	增强肿瘤细胞耐药性	[41]
膀胱癌	膀胱癌组织/血清	外泌体hsa-circRNA-0000285	低表达	抑制肿瘤细胞增殖 抑制肿瘤细胞转移	[37]
膀胱癌	膀胱癌组织	外泌体hsa-circRNA-0137606	低表达	抑制肿瘤细胞增殖 抑制肿瘤细胞转移	[36]
膀胱癌	膀胱癌组织	外泌体circRNA-TRPS1	低表达	抑制TME中CD8+ T 细胞耗用	[45]
膀胱尿路上皮癌	膀胱尿路上皮癌组织	外泌体circRNA-PRMT5	高表达	促进肿瘤细胞转移	[38]
肾透明细胞癌	肾透明细胞癌组织	外泌体hsa-circ-0035483	高表达	增强肿瘤细胞耐药性	[40]

3 外泌体环状RNA在泌尿系统肿瘤中的作用机制

与其他很多系统肿瘤一样, 外泌体circRNAs

在泌尿系统肿瘤中发挥作用的分子机制, 主要是其作为miRNA海绵, 通过调控下游靶基因, 行使其生物学功能。在泌尿系统肿瘤中, 除了作为miRNA海绵, 外泌体circRNAs还可与蛋白质结

合, 发挥相应的生物学功能。此外, 外泌体 circRNAs 在经过 m6A 修饰后, 可以编码蛋白质^[10], 未经 m6A 修饰的 circRNAs 可导致体内抗原特异性 T 细胞活化、抗体产生和肿瘤抑制^[46], 但在泌尿系统肿瘤中的作用目前仍未有报道。

3.1 内源性竞争 RNA (competing endogenous RNAs, ceRNA) 网络机制

外泌体 circRNAs 可以作为 miRNA 海绵, 阻止 miRNA 与下游靶基因的结合。miR-29a-3p 已被证实是一种抑制肿瘤的外泌体 miRNA^[47-48]。与癌旁正常组织比较, miR-29a-3p 在组织中表达较低, 而 PCa 患者的外泌体 circRNA-0044516 水平较健康对照组升高。外泌体 circRNA-0044516 作为 miR-29a-3p 海绵, 通过黏附 miR-29a-3p, 使游离 miR-29a-3p 的表达降低, 促进 PCa 的进程^[49]。外泌体 circRNA-0081234 水平在有脊柱转移的 PCa 组织中高于无脊柱转移的原发性 PCa 组织。外泌体 circRNA-0081234 作为 miR-1 的海绵, 上调了 MAP3K1 水平, 促进了 PCa 进程。外泌体 circRNA-0081234 的损耗在体内抑制肿瘤生长^[50]。外泌体 circRNA-HIPK3 作为 miR-212 的海绵, 其表达减少可以降低 PCa 细胞的生存能力、迁移和侵袭能力, 并且促进 PCa 细胞凋亡。MiR-212 通过靶向 BMI-1, 下调 BMI-1 的表达, 实现抑制 PCa 细胞的增殖、迁移和侵袭的目的。因此, 外泌体 circRNA-HIPK3 基因敲低可通过调控 miR-212/BMI-1 轴抑制前列腺癌进展^[39]。

Xiao 等^[51]研究发现, 外泌体 circRNA-400068 在 RCC 组织和细胞系中表达上调, 与下游靶点 miR-210-5p 结合发挥调控作用, 上调下游靶点 SOCS1 的表达, 促进 RCC 细胞增殖, 抑制 RCC 细胞凋亡。外泌体 circRNA-400068 通过 miR-210-5p/SOCS1 轴调控 RCC 的进展, circRNA-400068/miR-210-5p/SOCS1 轴可能成为 RCC 治疗的候选靶点^[51]。

3.2 外泌体环状 RNA 与蛋白质结合

外泌体 circRNAs 可以与功能蛋白质结合, 发挥相应的生物学功能。在膀胱癌组织中, Su 等^[52]发现在缺氧条件下, 外泌体 circRNA-ELP3 表达上升, 通过靶向结合肿瘤干细胞相关基因八聚体结合转录因子 4 重组蛋白和性别决定区 Y 框蛋白 2, 可有效促进膀胱癌细胞增殖, 抑制癌细胞凋亡, 增强对顺铂的耐药性。

4 细胞内环状 RNA 在泌尿系统肿瘤中的作用机制

circRNAs 作为 miRNA 海绵, 通过 ceRNA 网络机制在泌尿系统肿瘤中发挥生物学作用。如膀胱癌组织中的 circRNA-BPTF 作为 miR-31-5p 的海绵, 阻止了 miR-31-5p 与下游靶基因 RAB27A 的 3'端的相互作用, 促进了膀胱癌进程^[53]。

circRNAs 还可以与相应的蛋白质结合, 调节基因的表达。如雄激素受体 (androgen receptor, AR) 结合 circRNA-HIAT1 启动子上的 ARE, 在转录水平上抑制宿主基因 HIAT1, 调控 miR-195-5p/29a-3p/29c-3p 的表达, 从而增强 CDC42 mRNA 表达, 促进 ccRCC 细胞增殖、迁移和侵袭^[54]。

研究表明, 未经 m6A 修饰的 circRNAs 可导致体内抗原特异性 T 细胞活化、抗体产生和肿瘤抑制^[55]。m6A 调控因子类甲基转移酶 3/14 (methyltransferase-like 3/14, METTL3/14)、质量及肥胖相关蛋白 (fat mass and obesity-associated protein, FTO)、YTH 结构域家族 3 (YTH domain family 3, YTHDF3) 和起始因子真核细胞翻译起始因子 (eukaryotic translation initiation factor, eIF) 4G2 参与了 m6A 介导的蛋白质翻译^[56]。其中, METTL3/14 为甲基转移酶, YTHDF3 与修饰的甲基结合, eIF4G2 与 YTHDF3 结合, 稳定结构, 从而行使编码、翻译蛋白质的功能^[46], FTO 为去甲基化酶, 可以抑制 m6A 介导的 circRNAs 翻译。但是, 泌尿系统肿瘤中尚未有研究报道 m6A 修饰的 circRNAs。

circRNAs 在肿瘤中可作为致癌基因或抑癌基因发挥重要作用, 具有重要的临床应用价值, 与肿瘤的诊断、预后和分期密切相关。

5 泌尿系统肿瘤中外泌体环状 RNA 与细胞内环状 RNA 的比较

circRNAs 大多稳定存在于大多数细胞中, 调节癌症基因的表达^[57], 而外泌体是部分细胞 (包括癌细胞) 分泌的微小囊泡, 属于细胞外囊泡的一种, 外泌体以及其分泌出的 circRNAs 可以传递重要的生物学信息^[58]。有研究者通过 RNA 序列分析表明, 外泌体中的 circRNAs 比正常细胞中的 circRNAs 更丰富^[59], 外泌体来源的 circRNAs 可以分泌到血液中, 介导细胞与细胞之间的通讯^[60]。

如前文所述, 外泌体 circRNAs 通过 miRNA 海绵、与蛋白质结合等机制在泌尿系统肿瘤中发挥相应的生理作用, 这与细胞内 circRNAs 类似。由于一般的 circRNAs 大多稳定存在于细胞中, 其中位于细胞核内的 circRNAs 增强亲本基因的转录, 如抑制膀胱癌的 circRNA-ITCH, 作为 miR-17/miR-224 的海绵, 靶向其亲本基因的转录^[61]。因此, 一般的 circRNAs 对细胞核内基因的调控更多, 而外泌体 circRNAs 对核外靶基因的调控更多。在治疗方面上, 药物只到达细胞核外相较于到达细胞核内更容易, 所以, 这是外泌体 circRNAs 作为一个治疗靶点与 circRNAs 相比有优势的地方。

6 外泌体环状RNA在泌尿系统肿瘤中的临床意义

6.1 外泌体环状RNA作为泌尿系统肿瘤的生物标记物

circRNAs 较线性 RNA 更稳定, 且在外泌体中, circRNAs 表达比线性 RNA 更丰富^[59]; 除此之外, 外泌体存在于血液、尿液和其他体液中, 所以可以将外泌体 circRNAs 作为生物标记物。

前列腺特异性抗原 (prostate specific antigen, PSA) 是前列腺癌早期诊断的指标之一, 但其特异度较低, 在部分良性前列腺增生 (benign prostatic hyperplasia, BPH) 患者中也会增高^[62]。陶文等^[63] 研究结果显示, 前列腺癌组患者尿液外泌体 circRNA-0040507 表达水平高于 BPH 组。且当尿液外泌体 circRNA-0040507 诊断前列腺癌的临界值为 4.12 copies/ml 时, 数值为诊断前列腺癌最佳临界值。尿液外泌体 circRNA-0040507 与 PSA 二者联合诊断前列腺癌时, 灵敏度和特异度均高于尿液外泌

体 circRNA-0040507 的单一诊断。表明尿液外泌体 circRNA-0040507 可能作为前列腺癌的生物标记物。此外, Li 等^[49] 通过研究发现, 前列腺癌患者血液外泌体中, 外泌体 circRNA-0044516 的表达明显上调, 高转移前列腺癌细胞中的外泌体 circRNA-0044516 水平高于低转移前列腺癌细胞中的外泌体 circRNA-0044516 水平, 表明血液外泌体 circRNA-0044516 可能是前列腺癌细胞诊断和转移潜在的生物标记物。Luo 等^[64] 研究发现, 在 PCa 发育过程中, 基底细胞的消失和紧密连接的缺失可能促进 circAR3 从上皮细胞浸润到气孔, 绕过内皮细胞进入血流。此外, 激素和化疗也会破坏基质结构, 这也可能导致外泌体 circRNA-AR3 释放到循环系统中去。在 PCa 发展过程中, 从 PCa 细胞释放到血浆中的外泌体 circRNA-AR3 增加, 因此, 血浆外泌体 circRNA-AR3 可能是高危原发性前列腺癌的生物标记物。

研究发现, 外泌体 hsa-circRNA-0000285 在膀胱癌组织和血清中表达下调, 与顺铂敏感患者相比, 顺铂耐药患者的 circRNA-0000285 水平下降了 2/3; 而在顺铂耐受的 RT4 细胞中, hsa-circRNA-0000285 水平低于亲代细胞, 因此, 血清外泌体 hsa-circRNA-0000285 也可作为膀胱癌诊断和化疗的生物标记物^[37]。Yang 等^[45] 发现, 膀胱癌术前及术后的血液及尿液中分离的外泌体内均鉴定到了 circRNA-TRPS1 的表达, 术后血液及尿液中外泌体 circRNA-TRPS1 的表达显著降低, 这提示了膀胱癌患者血液及尿液外泌体中的 circTRPS1 具有作为生物标志物的潜力。

上述作为泌尿系统肿瘤中的生物标志物的外泌体 circRNAs 见表 3。

Table 3 Exosomal circRNAs as biomarkers in urinary tumors

表3 作为泌尿系统肿瘤生物标志物的外泌体circRNAs

肿瘤类型	外泌体样本来源	环状RNA	表达水平	临床意义	参考文献
前列腺癌	血液	circRNA-0044516	高表达	生物标志物	[49]
前列腺癌	尿液	circRNA-0040507	高表达	与PSA联合诊断	[63]
前列腺癌	血浆	circRNA-AR3	低表达	生物标志物	[64]
膀胱癌	血液/尿液	circRNA-TRPS1	高表达	生物标志物	[45]
膀胱癌	血清	hsa-circRNA-0000285	低表达	生物标志物	[37]

PSA: 前列腺特异性抗原。

6.2 外泌体环状RNA用于泌尿系统肿瘤的治疗靶点

外泌体本身具有纳米级尺寸、寿命长以及携带

能力强等优点, 而 circRNAs 具有良好的稳定性、在外泌体中富集的特点。因此, 外泌体可作为承载抗肿瘤药物的天然载体^[65], 将抑癌的 circRNAs 输

送到靶细胞进行肿瘤治疗^[26]。一些外泌体 circRNAs 在泌尿系统肿瘤中发挥抑癌基因或癌基因的作用,并介导抗癌药物的作用。当外泌体中的 circRNAs 作为癌基因的时候,可以通过敲低其表达,如输送对应的 si-circRNAs 或 sh-circRNAs 到外泌体中,再由外泌体分泌 si-circRNAs 或 sh-circRNAs 到靶细胞中进行抗肿瘤治疗;当外泌体中的 circRNAs 作为抑癌基因的时候,可以通过过表达这些 circRNAs 抑制肿瘤进展。

某些外泌体 circRNAs 还与泌尿系统肿瘤的耐药性相关,过表达外泌体中抑制肿瘤细胞耐药性的 circRNAs,或敲低外泌体中促进肿瘤细胞耐药性的 circRNAs 均可作为新兴的治疗靶点。

外泌体 circRNA-0000285 已被证实在顺铂耐药膀胱癌患者中癌组织和血浆的表达低于顺铂敏感膀胱癌患者^[37],因此,可以通过输送 circRNA-0000285 到血浆外泌体中,使 circRNA-0000285 过表达,将顺铂耐药膀胱癌转变为顺铂敏感膀胱癌,从而更有利于治疗。Su 等^[52]发现,在缺氧状态升高的情况下外泌体 circRNA-ELP3 可以促进膀胱癌细胞对顺铂的耐药。沉默外泌体 circRNA-ELP3 则显著降低了膀胱癌细胞的耐药性,且能将膀胱癌的耐药性降低到与正常氧条件下测量到的膀胱癌细胞耐药性一样的水平。因此,沉默外泌体 circRNA-ELP3 可作为治疗耐顺铂膀胱癌的一个治疗靶点。

Yan 等^[40]发现,外泌体 circRNA-0035483 在肾癌细胞 TK10 中过表达,通过自噬增强了对吉西他滨和顺铂类药物的耐药性,而外泌体 circRNA-0035483 基因敲除则增强了 TK10 肾癌细胞在体内对吉西他滨的敏感性,成为一个新的治疗肾癌的靶点。

前列腺癌耐多西他赛患者的癌组织中外泌体 circRNA-XIAP 表达显著上调,Zhang 等^[41]敲低了前列腺癌 DU145 和 PC3 细胞中的外泌体 circRNA-XIAP 后,两种原本耐多西他赛的癌细胞对多西他赛重新敏感,因而敲低外泌体 circRNA-XIAP 可以作为耐多西他赛前列腺癌的一个治疗靶点。

6.3 外泌体环状 RNA 与泌尿系统肿瘤的 TNM 分期相关,可用于监测肿瘤进展

外泌体 circRNAs 在检材,如癌组织或者血清中表达的高低,可以反映出相关肿瘤的 TNM 分期,所以外泌体 circRNAs 可以在临床上用来监测肿瘤的发展。

Chi 等^[37]发现,膀胱癌患者的癌组织和血清

中外泌体 circRNA-0000285 与癌旁组织和健康对照组相比显著降低,通过单因素分析发现,血清外泌体 circRNA-0000285 水平与肿瘤大小、分化程度、淋巴结转移、远处转移和 TNM 分期显著相关。当肿瘤 ≥ 3 cm,分化程度低,淋巴结转移 (N2-4),有远处转移且 TNM 分期为 III、IV 期时,血清外泌体 circRNA-0000285 水平普遍较低。Chen 等^[38]报道,外泌体 circRNA-PRMT5 可以输出到细胞外微环境,包括血清和尿液,血清和尿外泌体中高表达的外泌体 circRNA-PRMT5 与 UCB 的淋巴结转移和晚期进展呈正相关,因此外泌体 circRNA-PRMT5 可用来预测 UCB 患者的淋巴结转移,监测肿瘤进展。Su 等^[52]研究表明,膀胱癌患者的癌组织外泌体 circRNA-ELP3 水平升高与膀胱癌进展显著相关,膀胱癌肿瘤分期高于 T2 或有淋巴结转移的患者,癌组织外泌体 circRNA-ELP3 表达上调;但高分级和低分级膀胱癌的癌组织外泌体 circRNA-ELP3 表达水平之间没有显著差异。

Luo 等^[64]通过研究表明,前列腺癌组织中的外泌体 circRNA-AR3 水平与肿瘤 Gleason 评分呈负相关,而血浆中的 circRNA-AR3 水平与高 Gleason 评分和阳性淋巴结转移呈正相关。

6.4 外泌体环状 RNA 用于监测泌尿系统肿瘤患者预后

由于上述临床意义的存在,检材中外泌体 circRNAs 表达水平的高低也可以用来表示泌尿系统患者预后的好坏。

UCB 患者的血清和尿液外泌体 circRNA-PRMT5 过表达,且过表达与患者低生存率呈正相关,有望成为 UCB 患者预后的评估指标^[38]。当血清和尿液外泌体 circRNA-PRMT5 表达水平下降时,表明预后良好。

在前列腺癌患者癌组织中,外泌体 circRNA-AR3 在良性前列腺和激素初始型前列腺癌中高表达,但在患者接受新辅助激素治疗时表达下调,当肿瘤进展到去势抵抗期时表达进一步降低^[64]。内分泌治疗是进展期前列腺癌的主要治疗方法之一。然而,大部分患者在 1~3 年内内分泌治疗后将逐渐进展为去势抵抗性前列腺癌^[66],因此当患者接受内分泌治疗 1~3 年内,检测到癌组织中外泌体 circRNA-AR3 表达下降时,要警惕前列腺癌转化为去势抵抗性前列腺癌,提示预后较差。

以上功能、机制和临床意义显示,外泌体环状 RNA 可以影响肿瘤的进程,有助于临床研究、诊

断、提供治疗靶点以及预后监测。

7 外泌体环状RNA及尿液外泌体在泌尿系统肿瘤诊疗中的应用优势

7.1 尿液外泌体的优势

尿液外泌体在泌尿系统肿瘤的无创诊断和监测中具有得天独厚的优势。首先,尿液易于获取,具有方便、无创、可重复性等优点。其次,采用尿液外泌体诊断泌尿系统肿瘤的准确性和敏感性较高。尿液细胞学检查是尿路上皮癌(包括膀胱癌、肾盂癌、输尿管癌、尿道癌)的主要非侵入性诊断方法之一,但其敏感性较低(7%~17%),对低级别尿路上皮癌的诊断准确性较低^[67]。Xu等^[68]对来自16篇文章的22项泌尿系统肿瘤(肾癌、膀胱癌、前列腺癌)研究建立了一项Meta分析,包括3 224例患者和1 360名健康对照。结果显示,尿液外泌体的诊断泌尿系统肿瘤的准确性较高,AUC为0.92,敏感性为83%,均优于尿液细胞学检查。

尿液中难以捕获脱落的肿瘤细胞,但是外泌体从肿瘤细胞不断释放到尿液中,所以尿液中更易检测到肿瘤细胞分泌的外泌体。外泌体可以携带相应肿瘤来源的细胞抗原,因此诊断特异性较高^[69],外泌体中的核酸内容物可直接反映泌尿系统肿瘤细胞的特征。稳定性方面,尿液外泌体长期储存或在-80℃条件下均可以保持完整^[69],这表明尿液外泌体稳定性较高,可以用来检测其内容物。

虽然尿液外泌体可作为泌尿系统肿瘤诊断的生物标志物,但基本都是关于肾癌、膀胱癌和前列腺癌的研究,对于输尿管癌、肾盂癌、附睾癌和睾丸癌等低发病率泌尿系统肿瘤,目前仍没有相关报道。

7.2 外泌体环状RNA的优势

首先,由于细胞外囊泡可由多种细胞分泌,所以外泌体的大小及其内容物的异质性反映了原始细胞的状态和类型,因此外泌体内容物可作为各种疾病诊断或预后观察的生物标志物^[70]。其次,外泌体circRNAs可以被分泌到包括血液、尿液、腹水、唾液、胆汁、脑脊液等多种体液中^[18],比单纯的血液标本来源更广。从相应体液中提取外泌体,检测其分泌的肿瘤特异性circRNAs可作为一种确定泌尿系统癌症发展和转移的手段。而且外泌体circRNAs本身在作为肿瘤生物标记物、肿瘤进程和治疗、预后的研究中越来越受到关注,成为一个新兴热点。再者,相比一些线性RNA如miRNAs,

circRNAs更容易被分选到外泌体中^[12]。此外,来自相应癌细胞分泌的外泌体中含有高度特异性的circRNAs,由于有外泌体的保护,所以外泌体内的特异性circRNAs可以防止其核酸分子被血液中的核糖核酸酶(RNase)降解^[71],由此可见,外泌体中circRNAs的检测可能优于血液循环系统中游离circRNAs的检测。不仅如此,相较取材于癌组织,体液标本的获取所致的创口更小,易大量获得,出血更少,甚至无创,例如尿液。如果能从尿液外泌体中提取到所需检测的特异性的circRNAs,则可以无创就能确定对应泌尿系统肿瘤的进展,减少对患者的伤害。

泌尿系统肿瘤直接分泌的外泌体可以释放到尿液中,所以尿液外泌体对泌尿系统肿瘤的诊断和判断预后有更多的敏感性和特异性^[72]。

8 总结与展望

本文首先介绍了外泌体circRNAs的分选、释放、检测方法。其次,介绍了其在泌尿系统肿瘤中的生物学功能和作用机制。并将泌尿系统肿瘤中的外泌体circRNAs与circRNAs进行了比较。最后阐明了外泌体circRNAs可用于泌尿系统肿瘤的临床意义以及外泌体circRNAs的优势所在,帮助读者更好地了解外泌体circRNAs与现流行的肿瘤检测方法的异同。

外泌体circRNAs是目前研究的热点,但仍有很多问题没有解决。例如,circRNAs分选入外泌体的具体机制并没有完全研究清楚。在泌尿系统肿瘤中,虽然外泌体circRNAs的生物学功能方面已经有了一些研究,但是还有一些生物学功能和作用机制没有研究全面。例如,外泌体circRNAs影响肿瘤血管生成这一生物学功能在其他一些系统,如消化系统中已有研究,但在泌尿系统中的研究仍未有成果。在分子机制方面,外泌体circRNAs可经m6A修饰从而导致某些肿瘤的侵袭和转移,例如结直肠癌^[46]。但是经m6A修饰的外泌体circRNAs与泌尿系统肿瘤的关系,目前还没有研究报道。同时,大部分研究都仅停留于circRNAs经过m6A修饰后,对肿瘤发展、转移的影响,并未具体阐明外泌体与circRNAs的关系。

在肿瘤的发生、发展和转移过程中,癌细胞与相邻健康细胞之间的相互干扰至关重要,而恶性细胞产生的外泌体circRNAs在这一过程中起着非常重要的作用^[73-74]。外泌体circRNAs可以作为泌尿

系统肿瘤的生物标记物,对早期的诊断、肿瘤的TNM分期、预后有着重要意义。

目前外泌体 circRNAs 的临床应用仍存在很多问题。外泌体提取与纯化的技术有限,效率不高且缺乏统一标准,甚至缺少有效区分外泌体和微囊泡的特异性标记物和技术^[5]。一些外泌体 circRNAs 是作为正常 RNA 剪接异常的指标还是基因过表达扩增的肿瘤指标还有待进一步研究。此外,现在仍无法大规模生产特定供体细胞的外泌体用于靶向药物载体。对于未来的研究方向:首先,需要 circRNAs 分选进入外泌体的具体机制,这可以为治疗相关肿瘤提供上游治疗靶点;其次,优化外泌体的获取和检测方法,能提取更多的外泌体;第三,外泌体分泌 circRNAs 可以介导细胞间通讯,影响细胞的生物学行为,所以可以从细胞间通讯角度入手,阐明与人类癌症相关的外泌体 circRNAs 分子机制,为泌尿系统肿瘤的诊疗提供新的线索和方法;最后,将外泌体作为靶向药物的载体,控制外泌体向靶细胞分泌治疗性 circRNAs 也可能成为新的癌症靶向治疗的方法,值得进一步研究。

参 考 文 献

- [1] Brassart-Pasco S, Brezillon S, Brassart B, *et al.* Tumor microenvironment: extracellular matrix alterations influence tumor progression. *Front Oncol*, 2020, **10**: 397
- [2] Joyce J A, Pollard J W. Microenvironmental regulation of metastasis. *Nat Rev Cancer*, 2009, **9**(4): 239-252
- [3] Quail D F, Joyce J A. Microenvironmental regulation of tumor progression and metastasis. *Nat Med*, 2013, **19**(11): 1423-1437
- [4] Tang Y, He Y, Zhang P, *et al.* LncRNAs regulate the cytoskeleton and related Rho/ROCK signaling in cancer metastasis. *Mol Cancer*, 2018, **17**(1): 77
- [5] 唐梦甜,周菊梅,廖前进,等.外泌体环状RNA在肿瘤微环境中的研究进展.生物化学与生物物理进展,2021,**48**(2): 135-146
Tang M T, Zhou J M, Liao Q J, *et al.* *Prog Biochem Biophys*, 2021, **48**(2): 135-146
- [6] Milette S, Sicklick J K, Lowy A M, *et al.* Molecular pathways: targeting the microenvironment of liver metastases. *Clin Cancer Res*, 2017, **23**(21): 6390-6399
- [7] Becker A, Thakur B K, Weiss J M, *et al.* Extracellular vesicles in cancer: cell-to-cell mediators of metastasis. *Cancer Cell*, 2016, **30**(6): 836-848
- [8] Tan S, Xia L, Yi P, *et al.* Exosomal miRNAs in tumor microenvironment. *J Exp Clin Cancer Res*, 2020, **39**(1): 67
- [9] 尹春来,赵雪梅,侯召华,等.外泌体在肿瘤免疫逃逸和耐受中的作用.生物化学与生物物理进展,2019,**46**(5): 433-440
Yin C L, Zhao X M, Hou Z H, *et al.* *Prog Biochem Biophys*, 2019, **46**(5): 433-440
- [10] Yang Y, Fan X, Mao M, *et al.* Extensive translation of circular RNAs driven by N6-methyladenosine. *Cell Res*, 2017, **27**(5): 626-641
- [11] Chen R X, Chen X, Xia L P, *et al.* N6-methyladenosine modification of circNSUN2 facilitates cytoplasmic export and stabilizes HMGA2 to promote colorectal liver metastasis. *Nat Commun*, 2019, **10**(1): 4695
- [12] 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**(8): 981-984
- [13] 邹燕,刘立民,覃凤娟,等.血小板环状RNA研究进展.生物化学与生物物理进展,2019,**46**(2): 138-143
Zhou Y, Liu L M, Qin F X, *et al.* *Prog Biochem Biophys*, 2019, **46**(2): 138-143
- [14] Kalluri R, Lebleu V S. The biology, function, and biomedical applications of exosomes. *Science*, 2020, **367**(6478): eaau6977
- [15] Umez T, Ohyashiki K, Kuroda M, *et al.* Leukemia cell to endothelial cell communication via exosomal miRNAs. *Oncogene*, 2013, **32**(22): 2747-2755
- [16] Dassler-Plenker J, Kuttner V, Egeblad M. Communication in tiny packages: exosomes as means of tumor-stroma communication. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*, 2020, **1873**(2): 188340
- [17] Azmi A S, Bao B, Sarkar F H. Exosomes in cancer development, metastasis, and drug resistance: a comprehensive review. *Cancer Metastasis Rev*, 2013, **32**(3-4): 623-642
- [18] Jiang L, Gu Y, Du Y, Liu J. Exosomes: diagnostic biomarkers and therapeutic delivery vehicles for cancer. *Mol Pharm*, 2019, **16**(8): 3333-3349
- [19] Kowal J, Tkach M, Thery C. Biogenesis and secretion of exosomes. *Curr Opin Cell Biol*, 2014, **29**: 116-125
- [20] 翁新宪,周转,张治宝,等.外泌体形成分泌调控及其在肿瘤发生发展中的作用.生命科学研究,2018,**22**(5): 422-430
Weng X X, Zhou Z, Zhang Z B, *et al.* *Life Sci Res*, 2018, **22**(5): 422-430
- [21] Farooqi A A, Desai N N, Qureshi M Z, *et al.* Exosome biogenesis, bioactivities and functions as new delivery systems of natural compounds. *Biotechnol Adv*, 2018, **36**(1): 328-334
- [22] Mobius W, Ohno-Iwashita Y, Van Donselaar E G, *et al.* Immunoelectron microscopic localization of cholesterol using biotinylated and non-cytolytic perfringolysin O. *J Histochem Cytochem*, 2002, **50**(1): 43-55
- [23] Fevrier B, Raposo G. Exosomes: endosomal-derived vesicles shipping extracellular messages. *Curr Opin Cell Biol*, 2004, **16**(4): 415-421
- [24] Hessvik N P, Llorente A. Current knowledge on exosome biogenesis and release. *Cell Mol Life Sci*, 2018, **75**(2): 193-208
- [25] Fujita Y, Kosaka N, Araya J, *et al.* Extracellular vesicles in lung microenvironment and pathogenesis. *Trends Mol Med*, 2015, **21**(9): 533-542
- [26] 耿秀超,李强,王洪.外泌体传递环状RNA介导肿瘤化疗耐药.中国生物化学与分子生物学报,2022,**38**(2): 137-149
Geng X C, Li Q, Wang H, *et al.* *Chin J Biochem Mol Biol*, 2022,

- 38(2): 137-149
- [27] Futter C E, Pearse A, Hewlett L J, *et al.* Multivesicular endosomes containing internalized EGF-EGF receptor complexes mature and then fuse directly with lysosomes. *J Cell Biol*, 1996, **132**(6): 1011-1023
- [28] Preusser C, Hung L H, Schneider T, *et al.* Selective release of circRNAs in platelet-derived extracellular vesicles. *J Extracell Vesicles*, 2018, **7**(1): 1424473
- [29] Fukuda M. Rab27 effectors, pleiotropic regulators in secretory pathways. *Traffic*, 2013, **14**(9): 949-963
- [30] Hsu C, Morohashi Y, Yoshimura S, *et al.* Regulation of exosome secretion by Rab35 and its GTPase-activating proteins TBC1D10A-C. *J Cell Biol*, 2010, **189**(2): 223-232
- [31] Villarroya-Beltri C, Baixauli F, Mittelbrunn M, *et al.* ISGylation controls exosome secretion by promoting lysosomal degradation of MVB proteins. *Nat Commun*, 2016, **7**: 13588
- [32] Jahn R, Scheller R H. SNAREs--engines for membrane fusion. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2006, **7**(9): 631-643
- [33] 商安全, 孙俊俊, 谷晨峥, 等. 外泌体环状RNAs: 人类癌症的新型生物标志物. *国际检验医学杂志*, 2020, **41**(19): 2410-2417
- Shang A Q, Sun J J, Gu C Z, *et al.* *Int J Lab Med*, 2020, **41**(19): 2410-2417
- [34] Fang N, Ding G W, Ding H, *et al.* Research progress of circular RNA in gastrointestinal tumors. *Front Oncol*, 2021, **11**: 665246
- [35] Shan G, Shao B, Liu Q, *et al.* CircFMN2 sponges miR-1238 to promote the expression of LIM-Homeobox gene 2 in prostate cancer cells. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2020, **4**(21): 133-146
- [36] Li W, Li Y, Sun Z, *et al.* Comprehensive circular RNA profiling reveals the regulatory role of the hsa-circ-0137606/miR-1231 pathway in bladder cancer progression. *Int J Mol Med*, 2019, **44**(5): 1719-1728
- [37] Chi B J, Zhao D M, Liu L, *et al.* Downregulation of hsa_circ_0000285 serves as a prognostic biomarker for bladder cancer and is involved in cisplatin resistance. *Neoplasia*, 2019, **66**(2): 197-202
- [38] Chen X, Chen R X, Wei W S, *et al.* PRMT5 circular RNA promotes metastasis of urothelial carcinoma of the bladder through sponging miR-30c to induce epithelial-mesenchymal transition. *Clin Cancer Res*, 2018, **24**(42): 6319-6330
- [39] Tang Y, Liu J, Li X, Wang W. Exosomal circRNA HIPK3 knockdown inhibited cell proliferation and metastasis in prostate cancer by regulating miR-212/BMI-1 pathway. *J Biosci*, 2021, **46**: 69
- [40] Yan L, Liu G, Cao H, *et al.* Hsa_circ_0035483 sponges hsa-miR-335 to promote the gemcitabine-resistance of human renal cancer cells by autophagy regulation. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, **519**(1): 172-178
- [41] Zhang H, Li M, Zhang J, *et al.* Exosomal circ-XIAP promotes docetaxel resistance in prostate cancer by regulating miR-1182/TPD52 axis. *Drug Des Devel Ther*, 2021, **15**: 1835-1849
- [42] Lugano R, Ramachandran M, Dimberg A. Tumor angiogenesis: causes, consequences, challenges and opportunities. *Cell Mol Life Sci*, 2020, **77**(9): 1745-1770
- [43] Xie M, Yu T, Jing X, *et al.* Exosomal circSHKBP1 promotes gastric cancer progression via regulating the miR-582-3p/HUR/VEGF axis and suppressing HSP90 degradation. *Mol Cancer*, 2020, **19**(1): 112
- [44] Fu C, Jiang A. Dendritic cells and CD8 T cell immunity in tumor microenvironment. *Front Immunol*, 2018, **9**: 3059
- [45] Yang C, Wu S, Mou Z, *et al.* Exosome-derived circTRPS1 promotes malignant phenotype and CD8+ T cell exhaustion in bladder cancer microenvironments. *Mol Ther*, 2022, **30**(3): 1054-1070
- [46] Yang Y, Fan X, Mao M, *et al.* Extensive translation of circular RNAs driven by N6-methyladenosine. *Cell Res*, 2017, **27**(5): 626-641
- [47] Salati S, Salvestrini V, Carretta C, *et al.* Deregulated expression of miR-29a-3p, miR-494-3p and miR-660-5p affects sensitivity to tyrosine kinase inhibitors in CML leukemic stem cells. *Oncotarget*, 2017, **8**(30): 49451-49469
- [48] Wang X, Liu S, Cao L, *et al.* MiR-29a-3p suppresses cell proliferation and migration by downregulating IGF1R in hepatocellular carcinoma. *Oncotarget*, 2017, **8**(49): 86592-86603
- [49] Li T, Sun X, Chen L. Exosome circ-0044516 promotes prostate cancer cell proliferation and metastasis as a potential biomarker. *J Cell Biochem*, 2020, **121**(3): 2118-2126
- [50] Zhang G, Liu Y, Yang J, *et al.* Inhibition of circ_0081234 reduces prostate cancer tumor growth and metastasis via miR-1/MAP3K1 axis. *J Gene Med*, 2021, **24**(18): e3376
- [51] Xiao H, Shi J. Exosomal circular RNA_400068 promotes the development of renal cell carcinoma via the miR-210-5p/SOCS1 axis. *Mol Med Rep*, 2020, **22**(6): 4810-4820
- [52] Su Y, Yang W, Jiang N, *et al.* Hypoxia-elevated circELP3 contributes to bladder cancer progression and cisplatin resistance. *Int J Biol Sci*, 2019, **15**(2): 441-452
- [53] Bi J, Liu H, Cai Z, *et al.* Circ-BPTF promotes bladder cancer progression and recurrence through the miR-31-5p/RAB27A axis. *Aging (Albany NY)*, 2018, **10**(8): 1964-1976
- [54] Wang K, Sun Y, Tao W, *et al.* Androgen receptor (AR) promotes clear cell renal cell carcinoma (ccRCC) migration and invasion via altering the circHIAT1/miR-195-5p/29a-3p/29c-3p/CDC42 signals. *Cancer Lett*, 2017, **394**: 1-12
- [55] Chen Y, Lin Y, Shu Y, *et al.* Interaction between N6-methyladenosine (m6A) modification and noncoding RNAs in cancer. *Mol Cancer*, 2020, **19**(1): 94
- [56] Yi Y C, Chen X Y, Zhang J, *et al.* Novel insights into the interplay between m6A modification and noncoding RNAs in cancer. *Mol Cancer*, 2020, **19**(1): 121
- [57] Ju H Q, Zhao Q, Wang F, *et al.* A circRNA signature predicts postoperative recurrence in stage II/III colon cancer. *EMBO Mol Med*, 2019, **11**(10): e10168
- [58] Zhao K, Wang Z, Li X, *et al.* Exosome-mediated transfer of CLIC1 contributes to the vincristine-resistance in gastric cancer. *Mol Cell Biochem*, 2019, **462**(1-2): 97-105
- [59] Li Y, Zheng Q, Bao C, *et al.* Circular RNA is enriched and stable in

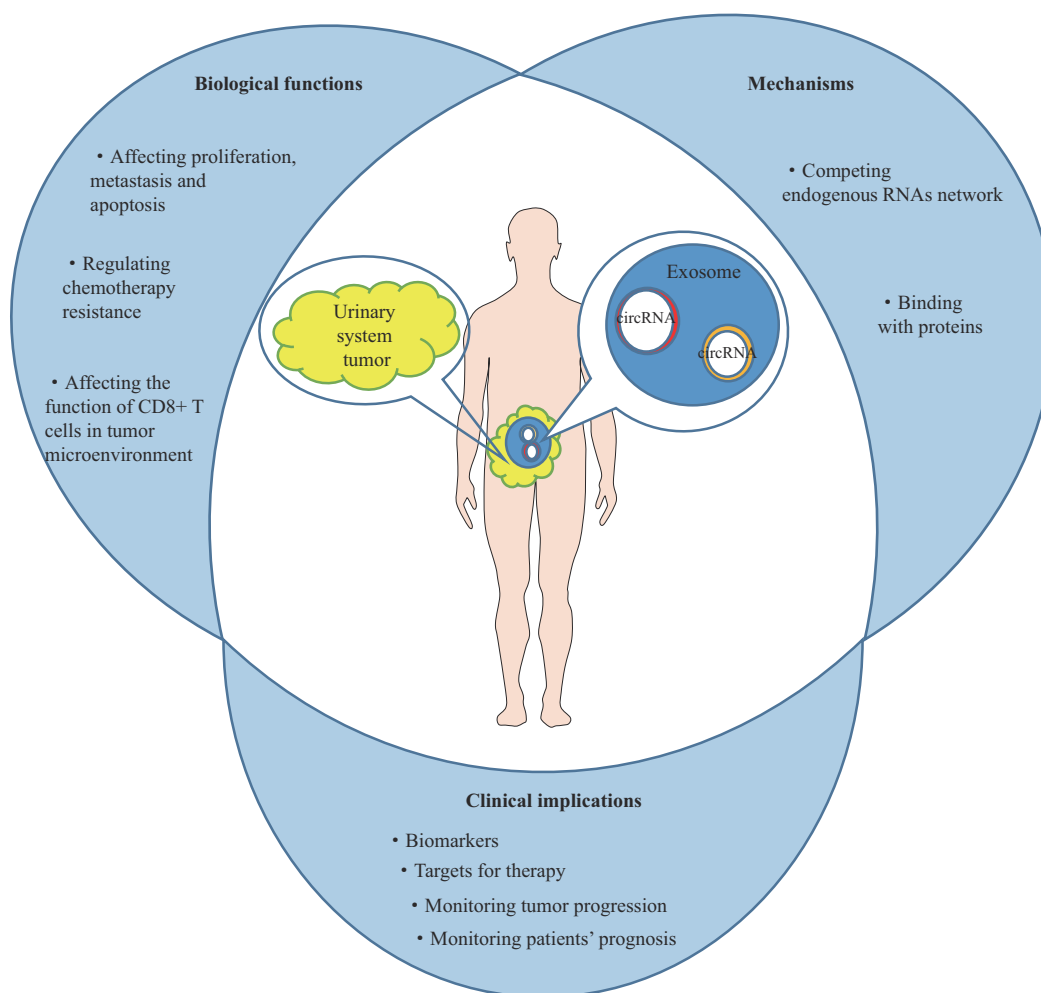
- exosomes: a promising biomarker for cancer diagnosis. *Cell Res*, 2015, **25**(8): 981-984
- [60] Li Y, Feng W, Kong M, *et al.* Exosomal circRNAs: a new star in cancer. *Life Sci*, 2021 (269): 119039
- [61] Yang C, Yuan W, Yang X, *et al.* Circular RNA circ-ITCH inhibits bladder cancer progression by sponging miR-17/miR-224 and regulating p21, PTEN expression. *Mol Cancer*, 2018, **17**(1): 19
- [62] 陈羽, 胡劲, 严亮, 等. 中老年患者血清 tPSA 轻度异常时 PSA 相关指标鉴别无症状性前列腺炎与前列腺癌的价值. *新医学*, 2017, **48**(5): 326-331
Chen Y, Hu J, Yan L, *et al.* *J New Med*, 2017, **48**(5): 326-331
- [63] 陶文, 何涛, 何娅娣, 等. 尿液外泌体 circ-0040507 联合 PSA 对前列腺癌诊断价值的初步研究. *新医学*, 2020, **51**(6): 455-458
Tao W, He T, He Y D, *et al.* *J New Med*, 2020, **51**(6): 455-458
- [64] Luo J, Li Y, Zheng W, *et al.* Characterization of a prostate- and prostate cancer-specific circular RNA encoded by the androgen receptor gene. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2019, **6**(18): 916-926
- [65] Fan Q, Yang L, Zhang X, *et al.* The emerging role of exosome-derived non-coding RNAs in cancer biology. *Cancer Lett*, 2018, **414**: 107-115
- [66] 王兰, 李鸿杰. 前列腺癌内分泌治疗后进展为去势抵抗性前列腺癌的危险因素研究进展. *国际泌尿系统杂志*, 2020, **40**(3): 550-553
Wang L, Li H J. *Int J Urol Nephrol*, 2020, **40**(3): 550-553
- [67] Lokeshwar V B, Soloway M S. Current bladder tumor tests: does their projected utility fulfill clinical necessity?. *J Urol*, 2001, **165**(4): 1067-1077
- [68] Xu Y, Lou J, Yu M, *et al.* Urinary exosomes diagnosis of urological tumors: a systematic review and meta-analysis. *Front Oncol*, 2021, **11**: 734587
- [69] Zhou H, Yuen P S, Pisitkun T, *et al.* Collection, storage, preservation, and normalization of human urinary exosomes for biomarker discovery. *Kidney Int*, 2006, **69**(8): 1471-1476
- [70] He C, Zheng S, Luo Y, *et al.* Exosome theranostics: biology and translational medicine. *Theranostics*, 2018, **8**(1): 237-255
- [71] Wang S, Dong Y, Gong A, *et al.* Exosomal circRNAs as novel cancer biomarkers: challenges and opportunities. *Int J Biol Sci*, 2021, **17**(2): 562-573
- [72] Merchant M L, Rood I M, Deegens J K J, *et al.* Isolation and characterization of urinary extracellular vesicles: implications for biomarker discovery. *Nat Rev Nephrol*, 2017, **13**(12): 731-749
- [73] Tlsty T, Coussens L. Tumor stroma and regulation of cancer development. *Annu Rev Pathol*, 2006, **1**: 119-150
- [74] Liu Y, Luo F, Wang B, *et al.* STAT3-regulated exosomal miR-21 promotes angiogenesis and is involved in neoplastic processes of transformed human bronchial epithelial cells. *Cancer Lett*, 2016, **370**: 125-135

The Research Progress of Exosomal CircRNAs in Urinary System Tumors*

XIE Zhe, LI Yi-Fan**, WANG Xiao-Xiang**, PAN Xiang, ZHANG Yi-Lian,
CAO Qian, TIAN Hao-Yu, YIN Gui-Cao

(Department of Urology, Affiliated Hospital of Yangzhou University, Medical College of Yangzhou University, Yangzhou 225000, China)

Graphical abstract



Abstract Exosomes are membranous vesicles containing complex RNA and proteins, which are mainly derived from polyvesicles formed by intracellular lysosomal microparticles invagination, and released into the extracellular matrix after fusion of polyvesicles extracorporeal membrane and cell membrane. Exosomes mediate

* This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (82002675), Jiangsu Natural Science Research of Colleges and Universities-General Project (20KJB320014), Jiangsu Science and Technology Program-Youth Fund Project (BK2020938), Yangzhou Key Research & Development-Social Development Project (YZ2020110), Yangzhou Soft Science Research Program (YZ2020258), Jiangsu Postdoctoral Research Funding Program (2020Z268), Yangzhou University High-level Talent Research Start-up Fund (2019LYF).

** Corresponding author.

LI Yi-Fan. Tel: 86-18801227512, E-mail: yfli@bjmu.edu.cn

WANG Xiao-Xiang. Tel: 86-18936489811, E-mail: 18936489811@163.com

Received: February 14, 2022 Accepted: June 16, 2022

cell-to-cell communication in the tumor microenvironment and their function depends on the cell type of origin. CircRNAs are a class of non-coding RNAs generated by reverse splicing of pre-mRNA, which are enriched and expressed stably in exosomes. Exosomal circRNAs play an important role in regulation in urinary system tumors, and have biological functions such as affecting the proliferation, metastasis and apoptosis of urinary system tumor cells and regulating chemotherapy resistance, which are mainly realized through competing endogenous RNAs network mechanism and protein binding mechanism. Compared with the biological functions and mechanisms of circRNAs, there are still fewer relevant studies on exosomal circRNAs. For example, the function of regulating tumor angiogenesis and the mechanism of m6A modification affecting tumor progression have not been reported. In terms of gene regulation, circRNAs have more regulation on genes in the nucleus, while exosomal circRNAs have more regulation on target genes outside the nucleus. Because exosomes are widely found in various body fluids, such as urine, and the expression of circRNAs is abundant in exosomes, exosomal circRNAs can be used as biomarkers for urinary system tumors. In addition, exosomes themselves have the advantages of nanoscale size, long life span and strong carrying capacity, while circRNAs have the characteristics of good stability. Therefore, exosomal circRNAs can be used as targets for anti-urinary tumor therapy. Exosomal circRNAs are also associated with TNM stages of urinary tumors and can be used to monitor tumor progression and patients' prognosis. Compared with exosomes from other body fluids, urinary exosomes have more sensitivity and specificity in the diagnosis and prognosis of urinary tumors, which is a new research focus in the field at present. However, exosomes extraction and purification technologies are limited, and exosomes of specific donor cells cannot be mass-produced for targeting drug carriers. Therefore, the clinical application prospects of exosomes and exosomal circRNAs in urinary system tumors are still worth studying.

Key words exosomes, circRNAs, urinary system, tumor

DOI: 10.16476/j.pibb.2022.0048