

环状 RNA 的生物学功能及其在 胃肠肿瘤发生中的作用*

赵乾富 陈仕俊 肖丙秀 郭俊明**

(宁波大学医学院生物化学与分子生物学研究所, 浙江省病理生理学技术研究重点实验室, 宁波 315211)

摘要 环状 RNA(circular RNA, circRNA)是广泛存在于真核生物转录组的内源性非编码 RNA. 与线性 RNA 不同, circRNA 不易被酶解, 具有更加稳定的结构. circRNA 具有微小 RNA(microRNA, miRNA)海绵、RNA 结合蛋白海绵、调节转录以及翻译蛋白质等多种生物学功能, 能够在转录水平或转录后水平调节基因的表达. 近期的研究发现, circRNA 在调控肿瘤细胞增殖、迁移和侵袭过程中扮演着重要的角色. 胃肠肿瘤是我国常见且死亡率高的恶性肿瘤, 研究者在胃肠肿瘤中发现大量异常表达的 circRNA (如: hsa_circ_0014717、hsa_circ_0001017、hsa_circ_0061276、hsa_circ_0125965 和 hsa_circ_KLDHC10 等). 本文首先阐述 circRNA 的形成机制和生物学功能; 然后结合国内外胃肠肿瘤相关 circRNA 的最新研究进展和本课题组相关研究成果, 对 circRNA 影响胃肠肿瘤发生的机制作一综述, 并希望能以此为胃肠肿瘤的诊断和治疗提供新的理论依据.

关键词 环状 RNA, 微小 RNA, RNA-RNA 相互作用, 胃肠肿瘤, 肿瘤诊断

学科分类号 Q5, Q7, R735

DOI: 10.16476/j.pibb.2017.0443

过去几十年, 研究者在真核细胞中发现越来越多的具有功能的非编码 RNA (non-coding RNA, ncRNA)^[1]. 随着高通量 RNA 测序和单细胞 RNA 测序技术的发展, ncRNA 家族在不断扩大. 环状 RNA(circular RNA, circRNA)是一类通过套索驱动环化或内含子配对驱动环化形成的环形 RNA 分子. 与线性 RNA 不同, circRNA 由于具有稳固的环形结构而不易被核酸酶降解. 虽然第一个 circRNA 早在 1976 年就已在植物病毒中被发现^[2], 但它们一直被认为是转录的副产品, 误以为没有重要的生物学功能. 然而, 近年研究表明, circRNA 可通过充当微小 RNA(microRNA, miRNA)海绵等多种方式来调节基因的表达, 在维持正常细胞功能和疾病(包括肿瘤)的发生发展中起着重要作用.

胃肠肿瘤是中国常见的恶性肿瘤, 占有所有肿瘤的近 30%(男)或近 20%(女)^[3]. 胃癌(gastric cancer, GC)是中国第 2 大常见癌症, 居癌症死亡原因中第 2 位, 其 5 年生存率低于 30%. 结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是中国第 5 大常见癌症, 排在中国癌

症死亡原因中的第 5 位, 其 5 年生存率不到 50%^[4-5]. 早期胃肠癌患者的临床症状不典型、难于筛查. 因此, 揭示胃肠肿瘤发生的关键分子机制, 发现相关的新型分子标志物对于早期诊断、实施精准治疗和判断预后均有重要意义.

本文综述了 circRNA 的形成机制和生物学功能, 并结合国内外及本课题组胃肠肿瘤相关 circRNA 的最新研究进展, 对 circRNA 在胃肠肿瘤发生中的作用及诊治价值作一综述.

1 circRNA 的形成机制

真核生物的结构基因基本上是断裂基因(split

* 浙江省公益技术研究社会发展项目(2016C33177), 宁波市科技创新团队项目(2017C110019), 国家自然科学基金(81772279)和宁波大学王宽诚基金资助.

** 通讯联系人.

Tel: 0574-87600758, E-mail: guojunming@nbu.edu.cn

收稿日期: 2017-12-03, 接受日期: 2018-03-01

gene). 转录生成的前体 mRNA(precursor messenger RNA, pre-mRNA)一般需通过剪接反应将内含子序列切除并将外显子序列连接起来,从而生成成熟 mRNA. 如果在剪接反应中上游 5'剪切位点与下游 3'剪切位点连接在一起,便可形成一个环形的转录产物,即 circRNA^[6-7]. 在很长一段时间里, circRNA

被认为是错误剪接的副产物,是转录噪音.

大多数 circRNA 来源于 pre-mRNA, 是通过反向剪接反应形成^[8]. 研究发现, pre-mRNA 反向剪接形成不同的 circRNA 需要通过不同的形成机制, 其形成机制可以归结为 4 类(图 1).

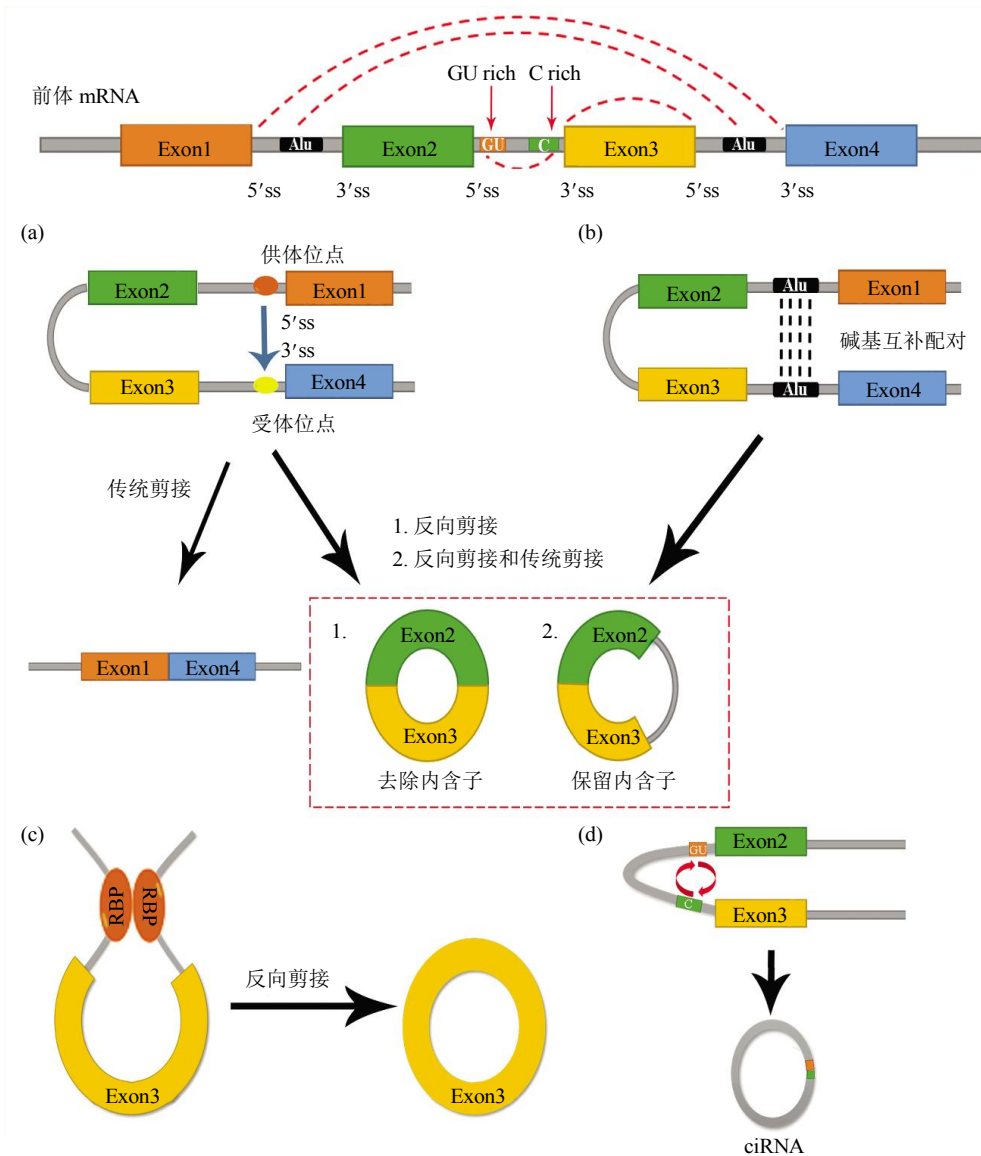


Fig. 1 Schematic biogenesis of circRNAs

图 1 circRNAs 的生成示意图

(a) 套索驱动的内含子驱动机制: pre-mRNA 在转录过程中发生了部分折叠,使得上游内含子的 5'剪接位点(5' splicing site, 5' ss)靠近并攻击下游内含子的 3'剪接位点(3' splicing site, 3' ss),继而反向剪接被折叠的区域形成 circRNA,余下的外显子形成线性 mRNA. (b) 内含子配对驱动的内含子驱动机制: 位于侧翼的内含子反向互补序列(如 Alu 序列)介导了反向剪接形成了 circRNA. (c) RNA 结合蛋白(RNA binding protein, RBP)通过与侧翼的内含子结合,拉近供体位点和受体位点的距离,从而促进外显子的环化. (d) ciRNA 的形成: 靠近 5'剪切位点的一段长度为 7nt 的富含 GU 碱基序列和靠近分支位点的一段长度为 11nt 的富含 C 碱基序列促进 ciRNA 的形成.

a. 套索驱动的环化机制(图 1a), 也称为外显子跳跃机制(exon skipping). pre-mRNA 在转录过程中发生了部分折叠, 使得上游内含子的 5'剪接位点(供体位点)靠近并攻击下游内含子的 3'剪切位点(受体位点), 继而通过反向剪接被折叠的区域形成 circRNA, 而余下的外显子形成线性 mRNA^[9-10]. 这是大多数 circRNA 形成的机制. 例如: Kelly 等^[9]发现, 经肿瘤坏死因子 α 或肿瘤生长因子 β 刺激的人脐静脉内皮细胞中含有大量由套索驱动环化形成的 circRNA.

b. 内含子配对驱动的环化机制(图 1b), 也可称直接反向剪接机制. 位于侧翼的内含子反向互补序列介导了反向剪接形成 circRNA. 侧翼互补序列(尤其是 Alu 序列)在外显子环化过程中起着重要的作用, 并且完美配对的互补序列可以促进 circRNA 的表达^[11-12]. 在此过程中, 根据是否保留部分内含子序列, 可以将形成的 circRNA 分为 2 种类型, 分别为外显子来源 circRNA(exonic circular RNA, ecircRNA)或者内含子和外显子序列共存的 circRNA(exon-intron circular RNA, EIciRNA)^[13]. Hsa_circ_POLR2A 是代表性的内含子配对驱动的 circRNA^[12].

c. RNA 结合蛋白(RNA binding protein, RBP)驱动的环化机制(图 1c). RBP 通过与侧翼的内含子结合, 拉近供体位点和受体位点的距离, 从而促进外显子的环化. muscleblind 蛋白和 quaking 蛋白是已知的 2 种 RNA 结合蛋白, 分别促进 circMbl 和 circQKI 这 2 种 circRNA 的形成^[14-15]. 因此, RBP 在一些 circRNA 的形成过程中发挥重要作用.

d. 内含子形成的 circRNA(circular intronic RNA, ciRNA). ciRNA 的形成需要通过几段保守的序列进行驱动, 包括靠近 5'剪切位点的一段长度为 7 个核苷酸(nucleotide, nt)的富含 GU 碱基的序列和靠近分支位点的一段长度为 11 nt 的富含 C 碱基的序列(图 1d). 这几段序列可以促使内含子形成套索结构避免被降解, 从而形成结构稳定的 ciRNA^[16-17]. ci-ankrd52 是目前研究较多的一种代表性 ciRNA.

circRNA 形成机制的揭示促进了人类转录组研究的深入. 然而, circRNA 形成机制的研究仍处于起步阶段, circRNA 生成的许多具体细节仍需要进一步解析.

2 circRNA 的生物学功能

基于高通量测序技术和实验手段的发展, 大量具有生物学功能的 circRNA 被发现. circRNA 缺乏开放阅读框(open reading frame, ORF)无法翻译蛋白质, 曾被认为是 ncRNA. 但最近的研究发现, 一些 circRNA 具有 AUG 位点和内部核糖体进入位点(internal ribosome entry site, IRES)^[11]. IRES 具有招募核糖体进行翻译的功能. 与此同时, 有研究者发现, 一些 circRNA 在特定条件下能够在特定组织中被翻译^[18-19]. 这些发现不仅说明有些 circRNA 具有潜在的翻译功能, 而且提示 circRNA 仍有大量重要生物学功能值得探究.

2.1 circRNA 充当 miRNA 海绵

miRNA 是一类长约 22 nt 的短链 ncRNA 分子, 能够与目标 mRNA 的 3'非翻译区(untranslated region, UTR)结合, 继而抑制目标 mRNA 翻译或者诱导目标 mRNA 降解, 起到在转录后水平调节基因表达的作用^[20]. miRNA 可以调节与它结合的 RNA 的水平, 这一调节过程也可称为 miRNA 的分子海绵作用^[21-22]. 大量的研究说明, circRNA 具有 miRNA 海绵作用(图 2a). Hansen 等^[23]发现的 ciRS-7(circular RNA sponge for miR-7)是第一个被报道的具有 miRNA 海绵作用的 circRNA. 由于 ciRS-7 包含约 70 个 miR-7 结合位点, 所以它能够同时结合大量的 miR-7 并强烈地抑制 miR-7 的活性. 此后, 大量的研究发现 circRNA-miRNA 这一调节轴与疾病的发生发展有着密不可分的关系.

miRNA 参与正常生理活动, 并在疾病发生发展过程中起着重要作用, 而 circRNA 作为 miRNA 分子海绵, 能够调节体内 miRNA 的活性, 无疑是调控疾病发生的重要参与者. 相比于其他竞争内源性 RNA, 因为 circRNA 结构稳定, 所以其 miRNA 海绵作用较为持久. 因此, 深入研究 circRNA 的 miRNA 海绵作用或许能有助于更好地了解人类疾病的发病机制.

2.2 circRNA 调节转录

调节基因表达是 ncRNA 最突出的生物学作用之一. circRNA 作为 ncRNA 家族的成员之一, 也被发现具有类似的调节基因表达的生物学功能(图 2b). Li 等^[13]在胞核中发现 2 种 EIciRNA(circEIF3J 和 circPAIP2)含有 U1 小核 RNA(small

nuclear RNA, snRNA)结合位点, 通过 RNA-RNA 相互作用形成 EICIcRNA-U1 snRNA 复合体, 继而促进亲本基因的表达. 核仁蛋白 PES1 (pescadillo homolog 1)是 60S 前核糖体亚基必不可少的装配因子, Holdt 等^[24]发现, circANRIL 通过结合 PES1 来破坏核酸外切酶介导的前体 rRNA 加工和核糖体合成过程. 此外, ciRNA 也具有调节亲本基因转录的能力. ci-ankrd52 能够与 RNA 聚合酶 II 的转录位点结合并促进其催化的转录过程^[16]. 这些发现表明, 一些含有内含子的 circRNA(如: ciRNA 和

eiciRNA)可能通常在胞核内发挥调节亲本基因转录的作用, 而另一些外显子来源的 circRNA 可能通常在胞浆中发挥 miRNA 海绵作用. 这些差异将为研究不同类型 circRNA 的生物学功能提供参考.

2.3 circRNA 充当 RBP 海绵

RBP 参与多种生命活动, 如 RNA 可变剪接和细胞增殖等. 研究表明, 一些 circRNA 具有 RBP 结合位点, 可充当 RBP 海绵(图 2c). Du 等^[25]发现, circ-FOXO3 与细胞周期蛋白依赖的蛋白激酶 2 (cyclin dependent kinase 2, CDK2)以及细胞周期蛋

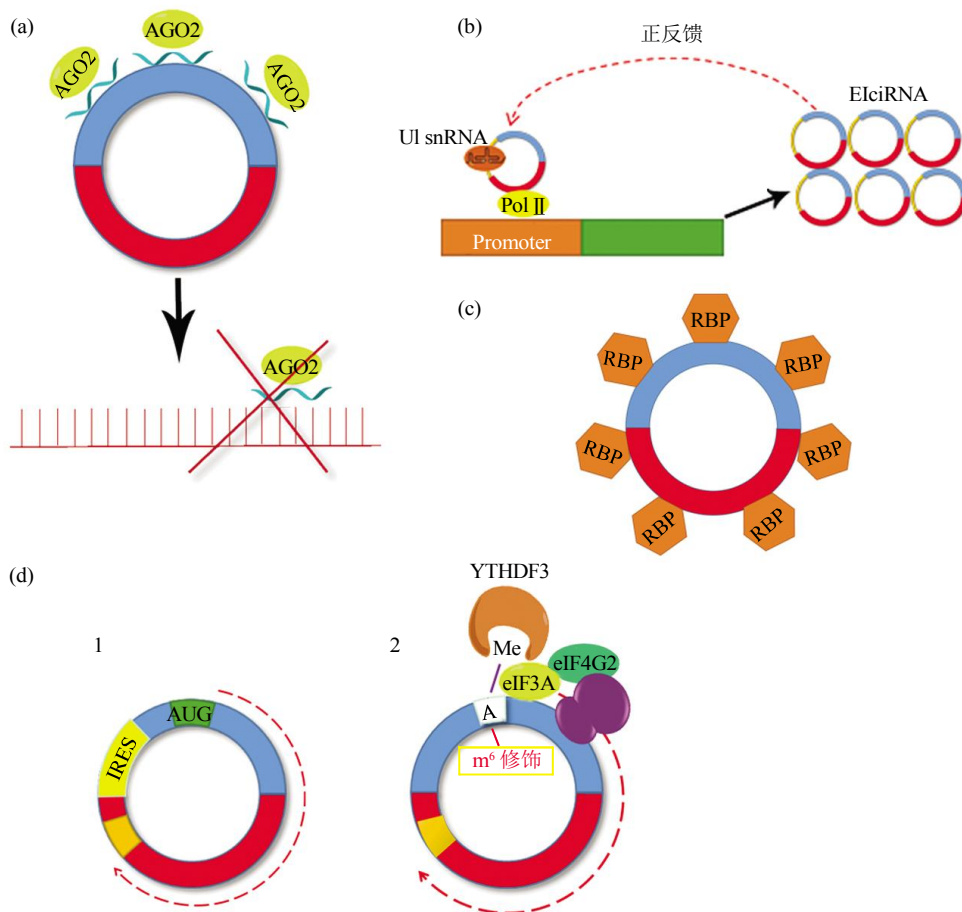


Fig. 2 Functions of circRNAs

图 2 circRNA 的生物学功能

(a) 充当 microRNA(miRNA)海绵: circRNA 结合 miRNA, 然后抑制其与阿格蛋白 2(argonaute 2, AGO2)形成的复合体靶向调节其他 RNA. (b) 调节转录: EICIcRNA 通过 RNA-RNA 相互作用形成 EICIcRNA-U1 snRNA 复合体, 然后与 RNA 聚合酶 II (Pol II) 一起结合到亲本基因的启动子(promoter)区, 正调节自身表达. (c) 充当 RNA 结合蛋白(RNA binding protein, RBP)海绵: circRNA 具有 RBP 结合位点可与 RBP 结合, 从而影响 RBP 结合其他 RNA. (d) 翻译蛋白质: 1. 具有内部核糖体进入位点(internal ribosome entry site, IRES)元件和起始密码子(AUG)的 circRNA 在特定条件下能够作为翻译的模板. 2. m⁶A 修饰驱动 circRNA 翻译过程: YTH N6 甲基腺苷酸 RNA 结合蛋白 3(YTH N6-methyladenosine RNA binding protein 3, YTHDF3)识别 m⁶A 修饰的 circRNA, 继而与起始因子 eIF4G2 和 eIF3A 结合推动 circRNA 翻译过程的起始.

白依赖性激酶抑制剂 p21 蛋白结合可抑制细胞周期进程. Abdelmohsen 等^[26]发现, circ-PABPN1 能够竞争性抑制 HuR 这种 RBP 与核内 poly(A)结合蛋白 1 [poly(A) binding protein nuclear 1, PABPN1] mRNA 的结合, 从而降低 PABPN1 mRNA 的翻译水平. RNA 的可变剪切在癌症发生中扮演重要角色, 而细胞无限增殖是癌细胞的主要特征之一. 通过研究 circRNA 的 RBP 海绵作用不仅能更好地了解 circRNA 的生物学功能, 还为研究 circRNA 在肿瘤发生中的作用提供新线索.

2.4 circRNA 翻译蛋白质

目前有研究证明, 一些 ncRNA 能够在体内产生功能性肽^[27-29]. 大多数的 circRNA 来源于具有编码蛋白质功能的基因, 且其结构中可包含外显子序列, 这不禁让人思考 circRNA 是否具有编码蛋白质的功能.

Kos 等^[30]在丁型肝炎病毒 (hepatitis D virus, HDV) 中发现了一段具有编码蛋白质功能的单链 circRNA 分子, 这是第一个被发现具有编码蛋白功能的 circRNA. 随后的研究发现, 具有 IRES 元件的 circRNA 可以启动蛋白质翻译作用^[31-32]. IRES 元件是一种能够招募核糖体并实现核糖体组装和阅读框翻译的 RNA 调控元件. 人工构建携带 IRES 元件的 circRNA 能够正确地翻译多肽. 如: Wang 等^[31]构建的含有 IRES 元件的由反向剪接形成的 circRNA 可以在细胞内表达完整的绿色荧光蛋白; Chen 等^[32]构建的 circRNA 也能够是在试管内翻译蛋白质. 大多数线性 mRNA 的 3' 端都有 poly(A) 尾巴, 它能促进线性 mRNA 的翻译; 而与线性 mRNA 不同, IRES 元件介导的 circRNA 翻译过程会因 poly(A) 受到抑制^[31]. 这间接证明了 IRES 元件介导的 circRNA 翻译过程并非是依赖 3' 端加尾方式进行.

还有一些研究表明, 真核细胞内的内源性 circRNA 能够编码蛋白质. Pamudurti 等^[19]在果蝇大脑组织中发现了能够翻译蛋白质的 circRNA, 而这些具备翻译功能的 circRNA 相对于其他的 circRNA 分子更长, 可以满足蛋白质翻译调控序列的空间需求. Legnini 等^[18]在鼠和人的肌母细胞中发现了具有蛋白质编码潜力的 circ-ZNF609. 这一 circRNA 是由锌指蛋白 609 (zinc finger protein 609, ZNF609) 基因的第 2 外显子独自环化形成的一种

ecircRNA, 其序列中含有长度约为 753 nt 的 ORF, 以剪接依赖方式翻译蛋白质^[18]. 新近的研究发现, 有些 circRNA 编码的蛋白质能够抑制肿瘤发生. 例如: Yang 等^[33]最近证实, 由 circ-FBXW7 翻译的蛋白质 FBXW7-185aa 可以协同其母基因编码的 FBXW7 (F-box and WD repeat domain containing 7) 调控癌蛋白 c-Myc 的稳定性, 从而抑制恶性胶质瘤的发生.

除上述 circRNA 翻译蛋白质的机制外, Yang 等^[34]发现, m⁶A 修饰是 circRNA 翻译蛋白质的另一种机制. m⁶A 修饰是 RNA 甲基化中较为常见的一种修饰方式, 具有调控基因表达的重要作用. circRNA 中普遍存在着丰富的 m⁶A 修饰, 且单一的 m⁶A 修饰就足以驱动翻译的开始. YTH N6 甲基腺苷酸 RNA 结合蛋白 3 (YTH N6-methyladenosine RNA binding protein 3, YTHDF3) 可识别 m⁶A 修饰的 circRNA, 继而与起始因子 eIF4G2 和 eIF3A 结合推动 circRNA 翻译过程的起始. 另外, 持续的热休克刺激会促进 circRNA 的翻译活动. Zhou 等^[35]还发现, circRNA 的 m⁶A 修饰呈现细胞特异性.

以上研究 (图 2d) 极大地挑战了 circRNA 的 ncRNA 身份, 但同时促使我们进一步发现具有编码蛋白质潜能的 circRNA. 此外, 从上述发现中可以推测, 由 circRNA 翻译出的蛋白质或多肽可能在细胞内具有生物功能.

3 胃肠肿瘤相关 circRNA

3.1 胃肠肿瘤中差异表达的 circRNA

研究者在胃肠肿瘤中发现大量差异表达的 circRNA (表 1). 一些 circRNA 的表达水平明显下降, 而另一些则与之相反. 本课题组在胃癌组织中分别发现了 107 种上调和 201 种下调的 circRNA^[50]; 我们还在胃癌患者血浆中分别发现了 172 种上调和 171 种下调的 circRNA^[36]. 我们进一步发现, hsa_circ_0014717 在胃癌患者组织中显著下调^[50], 而 hsa_circ_0001017 和 hsa_circ_0061276 在胃癌患者血浆中显著下降^[36]. 在结直肠癌中, 其他研究者发现 hsa_circ_0000069 和 hsa_circ_001988 等存在着差异表达^[57-58]. 这些差异表达 circRNA 的发现为揭示胃肠肿瘤发生的机制提供了新线索, 也为胃肠肿瘤的诊治提供了新方向.

Table 1 Dysregulated circRNAs in gastric cancer and colorectal cancer
表 1 胃癌和结直肠癌相关中 circRNAs 的特异表达

circRNA 类型	样本类型	表达变化	用途或功能	肿瘤类型	参考文献
hsa_circ_0001017, hsa_circ_0061276	121 对组织及血浆	下调	诊断标志物	胃癌	[36]
hsa_circ_0047905, hsa_circ_0138960, hsa-circRNA7690-15	31 对组织	上调	诊断标志物、促进癌细胞增殖和侵袭	胃癌	[37]
hsa_circ_0000745	60 对组织及血浆	下调	诊断标志物	胃癌	[38]
hsa_circ_0000181	115 对组织及 102 对血浆	下调	诊断标志物	胃癌	[39]
hsa_circ_00001649	76 对组织及 20 对全血	下调	早期诊断标志物	胃癌	[40]
hsa_circ_002059	101 对组织及 36 对血浆	下调	诊断标志物	胃癌	[41]
hsa_circ_0000190	104 对组织及血浆	下调	诊断标志物	胃癌	[42]
hsa_circ_0000026	3 对组织	下调	诊断标志物	胃癌	[43]
hsa_circ_100269	112 对组织	下调	抑制癌细胞增殖	胃癌	[44]
hsa_circ_LARP4	组织	下调	独立预后指标; 抑制癌细胞增殖和侵袭	胃癌	[45]
ciRS-7	102 对组织	上调	预测预后; 促进癌细胞增殖	胃癌	[46]
hsa_circ_104916	70 对组织	下调	抑制癌细胞增殖、迁移和侵袭	胃癌	[47]
hsa_circ_0000096	101 对组织	下调	促进癌细胞增殖、迁移	胃癌	[48]
hsa_circ_PVT1	187 对组织	上调	独立的预后指标; 促进癌细胞增殖	胃癌	[49]
hsa_circ_0014717	96 对组织	下调	诊断标志物	胃癌	[50]
hsa_circ_0058246	43 对组织	上调	诊断标志物	胃癌	[51]
hsa_circ_0001895	257 对组织	下调	诊断标志物	胃癌	[52]
hsa_circ_0006633	338 对组织	下调	诊断标志物	胃癌	[53]
hsa_circ_BANP	35 对组织	上调	促进癌细胞增殖	结直肠癌	[54]
ciRS-7	组织	上调	预后指标和靶向治疗目标; 促进癌细胞增殖	结直肠癌	[55]
circ-ITCH	45 对组织	下调	抑制癌细胞增殖	结直肠癌	[56]
hsa_circ_0000069	30 对组织	上调	促进癌细胞增殖、迁移和侵袭	结直肠癌	[57]
hsa_circ_001988	31 对组织	下调	诊断标志物	结直肠癌	[58]
hsa_circ_001569	30 对组织	上调	促进癌细胞增殖和侵袭	结直肠癌	[59]
hsa_circ_0020397	癌细胞株	上调	提高癌细胞生存能力、抑制凋亡和促进侵袭	结直肠癌	[60]
hsa_circ_CCDC66	12 对组织	上调	促进癌细胞增殖、侵袭和迁移	结肠癌	[61]
hsa_circ_0125965	细胞系中外泌体	上调	诊断标志物	结直肠癌	[62]
hsa_circ_KLDHC10	血清中外泌体	上调	诊断标志物	结直肠癌	[63]
hsa_circRNA_103809, hsa_circRNA_104700	170 对组织	下调	诊断标志物	结直肠癌	[64]
hsa_circ_HIPK3	组织	上调	促进癌细胞增殖	结直肠癌	[65]

3.2 circRNA 调控胃肠肿瘤细胞增殖

ciRS-7 是小脑变性相关蛋白 1 转录物的反义转录产物, 它包含超过 70 个保守的 miR-7 结合位点. Memczak 等^[66]敲除人胚肾 HEK293 细胞中的 ciRS-7 后, 发现 miR-7 靶向基因的表达被下调. 这说明 ciRS-7 能够结合 miR-7 并抑制其活性. 多项研究表明, miR-7 在肿瘤中低表达并具有抑癌作

用^[67, 69]. 可见, ciRS-7/miR-7 调节轴或许与肿瘤的发生发展相关.

ciRS-7/miR-7 调节轴与胃肠肿瘤细胞增殖也有着密不可分的关系. Pan 等^[70]在研究胃癌发病机制的过程中发现, 过量表达 ciRS-7 能够干扰 miR-7 介导的抑癌作用并加强 PTEN/PI3K/AKT 通路, 从而促进胃癌细胞的增殖. 有趣的是, Weng 等^[71]在

结直肠癌中也发现了过表达 ciRS-7 导致下调 miR-7, 并通过增强 EGFR/RAF1/MAPK 通路来促进结直肠癌细胞的增殖. 这些研究的共同结论是, 过高表达 ciRS-7 将导致胃肠肿瘤的不良预后.

最近本课题组研究了 circRNA 导致胃癌发生的分子机制, 发现 hsa_circ_0000096 通过抑制 cyclin D1 和 CDK6 的表达抑制胃癌细胞增殖, 而它影响胃癌转移的机制是调控基质金属蛋白酶 2 (matrix metalloproteinase-2, MMP-2) 和 MMP-9 的表达^[48].

3.3 circRNA 调控胃肠肿瘤转移

circLARP4 来源于 La 核糖核蛋白结构域家族成员 4 (La ribonucleoprotein domain family member 4, LARP4) 基因位点内的第 9、10 外显子区域, 在胃癌组织中表达明显下降^[45]. 侵袭实验显示, 过表达 circLARP4 减弱了胃癌细胞的侵袭能力, 而下调 circLARP4 的表达则呈现完全相反的结果^[45]. 这意味着 circLARP4 能够抑制胃癌细胞的侵袭. 进一步的研究证实, circLARP4 通过抑制 miR-424 活性并解除其对大肿瘤抑制基因激酶 1 (large tumor suppressor kinase 1, LATS1) 的抑制, 从而抑制胃癌细胞的侵袭能力^[45].

在肠癌研究方面, Zhang 等^[60]发现, hsa_circ_0020397 在结直肠癌细胞株中表达显著上升; 细胞功能实验表明, 高表达 hsa_circ_0020397 促进结直肠癌细胞侵袭; 而分子机制研究发现, hsa_circ_0020397 通过调节 miR-138 的活性及其靶基因——端粒酶逆转录酶基因 (telomerase reverse transcriptase, *TERT*) 和程序性细胞死亡 1 配体 1 基因 (programmed cell death 1 ligand 1, *PD-L1*) 的表达水平来促进结肠癌细胞转移. 另一研究发现, miR-138 能与高迁移率族 AT 钩蛋白 1 (high mobility group AT-hook, *HMGA1*) mRNA 的 3'UTR 区域结合并抑制其表达; 而 *HMGA1* 在结直肠癌中高表达, 具有促进癌细胞增殖和转移的作用^[72]. 可见, hsa_circ_0020397/miR-138 这一调控轴在结直肠癌转移过程中起着较为重要的作用.

3.4 circRNA 调控胃肠肿瘤代谢

与正常组织细胞相比较, 肿瘤组织细胞即便在有氧的情况下也倾向于通过糖酵解途径维持生存, 这种现象称为 Warburg 效应^[73-74]. 除了 Warburg 效应, 肿瘤组织中还存在脂肪酸代谢和氨基酸代谢的异常, 而这一系列的代谢异常是由肿瘤细胞代谢重编程导致的. 最近研究发现, circRNA 与肿瘤代谢

重编程之间具有密切联系. Yang 等^[75]发现, miR-214 通过抑制腺苷 A2A 受体 (adenosine A2A receptor, A2AR) 和 PR 结构域蛋白 16 (PR domain-containing 16, PRDM16) 表达从而加强胃癌细胞的 Warburg 效应. 如上文所述, circRNA 具有 miRNA 海绵作用, 能够结合并调节 miRNA 的活性, 所以 circRNA 可能借助 miRNA 来调节胃肠肿瘤代谢.

Pan 等^[70]发现 ciRS-7 能够干扰 miR-7 对于 PTEN/PI3K/AKT 通路的抑制作用, 从而促进胃癌细胞的增殖. 先前的研究表明, PTEN/PI3K/AKT 通路能够刺激有氧糖酵解^[76], 因而 ciRS-7 可能通过此途径来调节胃癌细胞的代谢. 可见, circRNA/miRNA 调控轴可能在调控胃肠肿瘤代谢方面也起着重要的作用.

3.5 circRNA 调控胃肠肿瘤微环境

肿瘤微环境由肿瘤细胞外的细胞和分子组成, 能够影响肿瘤细胞的行为和状态. 肿瘤微环境受多种因素调控, 而肿瘤细胞来源的外泌体 (exosome) 是其中重要的调控因素之一. 外泌体中包含许多生物活性物质, 如 mRNA、miRNA 和蛋白质等. 最近研究发现, 结肠癌细胞来源的外泌体中含有大量的 circRNA, 外泌体中 circRNA 的种类还会随着细胞中 miRNA 的变化而变化^[62-63].

如前所述, circRNA 具有 miRNA 海绵作用, 而外泌体中的 miRNA 在调控肿瘤微环境中起着重要的作用. 例如: 外泌体中的 miR-210 可通过促进上皮间质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT) 来介导结肠癌转移^[81]. 因而, 外泌体中的 circRNA 可通过 miRNA 来间接调节肿瘤微环境.

除了外泌体来源的 circRNA 可调控胃肠肿瘤微环境外, 肿瘤细胞自身的 circRNA 与胃肠肿瘤微环境也有密切联系. 肿瘤细胞 EMT 的发生与微环境中 E-钙黏蛋白减少和波形蛋白增多有关. Li 等^[47]发现, 过表达 circ-104916 能够下调胃癌微环境中的波形蛋白的含量, 并上调 E-钙黏蛋白的含量, 最终抑制胃癌细胞的 EMT 过程. 因此, 利用 circRNA 调节胃肠肿瘤微环境将具有潜在应用价值.

3.6 circRNA 调控胃肠肿瘤干细胞

肿瘤干细胞具有自我更新、无限增殖和多向分化潜能, 被认为是肿瘤发生、发展、转移和复发的主要根源. 大量的实验研究表明, miRNA 与肿瘤干细胞有密切关系. 例如: Wu 等^[78]发现 miR-19b/20a/92a 具有调节胃癌干细胞自我更新和增殖的作用; Bu 等^[79]发现 miR-34a 能抑制结肠癌干细胞自

我更新并能阻止裸鼠移植瘤形成。目前, circRNA 在肿瘤干细胞中作用的研究仍处于起步阶段, 尚未见有关 circRNA 调控胃肠肿瘤干细胞的报道。尽管如此, circRNA 应该可以直接或通过 miRNA 间接调控胃肠肿瘤干细胞。

4 circRNA 在胃肠肿瘤诊疗中的价值

4.1 circRNA 与液体活检

液体活检是一种非侵入性的体外诊断方法, 能够检测体液(包括血液、尿液、唾液和脑脊液)中来自肿瘤原发病灶或转移灶释放的循环肿瘤细胞(circulating tumor cell, CTC)、血浆游离肿瘤 DNA (cell-free circulating tumor DNA, ctDNA)、血浆游离肿瘤 RNA (cell-free circulating tumor RNA, ctRNA)、外泌体或者其他物质, 辅助肿瘤诊断。最近研究发现, circRNA 能够在体液中被检测。Memczak 等^[80]在人外周血中发现数以千计的 circRNA, 并认为血液中的 circRNA 可被用作分子标记物。Dou 等^[62]报道, circRNA 能够分泌到外泌体中。Li 等^[63]发现外泌体中的 circRNA 含量丰富、结构稳定并且能够被检测出。这些发现意味着 circRNA 有望被应用于液体活检。

数字聚合酶链反应(digital polymerase chain reaction, dPCR)技术是第三代 PCR 技术, 能够对初始样本中的核酸分子进行绝对定量, 常常被用于检测基因突变、缺失或拷贝数变异等。微滴数字聚合酶链反应(droplet digital polymerase chain reaction, ddPCR)包括 PCR 扩增和荧光信号分析 2 步骤。在 PCR 扩增过程中, 反应体系为单个独立的纳升级的微滴, 在每个微滴中分别对目标分子进行 PCR 扩增; 在扩增结束后, 对每个微滴进行荧光信号采集, 根据阈值确定微滴中是否包含目标分子, 并将高于阈值的记为阳性微滴; 最后通过统计阳性微滴数计算检测的靶分子的拷贝数。ddPCR 真正实现了绝对定量检测核酸, 不仅节约样本和反应试剂, 还显著地提高了灵敏度。本课题组采用该技术对胃癌相关 circRNA 表达水平进行了检测, 结果发现它能对血浆样本中微量 circRNA 进行精确定量^[36]。hsa_circ_0001017 和 hsa_circ_0061276 联合诊断的受试者工作特征曲线(receiver operating curve, ROC)下面积达 0.966, 特异度和灵敏度分别为 95.7%和 95.5%^[36]。这说明 ddPCR 具有较高的灵敏度和精确度。

本课题组还证实 hsa_circ_0000181、

hsa_circ_002059 和 hsa_circ_0000190 在胃癌患者血浆中异常变化^[39, 41-42]; 其他研究者发现, hsa_circ_0000745 和 hsa_circ_00001649 在胃癌患者血浆中差异表达^[38, 40]。这些研究说明, circRNA 有望成为一种非侵袭性的胃癌诊断标志物。

Li 等^[63]检测了结直肠癌患者和健康人血浆中外泌体来源 circRNA (exo-circRNA) 的表达谱, 发现 hsa_circ_KLDHC10 在癌症患者血浆中的含量明显高于对照组, 能有效区别癌症患者与健康人。Dou 等^[62]在结直肠癌细胞株分泌的外泌体中检测到 hsa_circ_0125965 水平显著降低。这些研究结果说明, exo-circRNA 是一种潜在的分子标志物。

目前临床上使用的大多数肿瘤标志物的灵敏度和特异度均不够理想。circRNA 具有结构稳定、广泛分布和组织特异等特点, 这使 circRNA 有望成为一种理想的临床诊断、预后评估的新型肿瘤标志物。然而, 目前尚未发现单一的 circRNA 具备足够高的灵敏度和特异度, 发现一组胃肠肿瘤相关的 circRNA 并进行联合检测或许是未来胃肠肿瘤分子诊断的方向。

4.2 circRNA 与胃肠肿瘤治疗

circRNA 在肿瘤增殖、迁移和侵袭等过程中发挥促进或抑制作用, 将有希望为胃肠肿瘤的治疗提供新靶点。ciRS-7 在胃肠癌中表达量明显升高并能通过抑制 miR-7 的活性促进癌细胞的增殖, 其表达水平与癌细胞增殖有密切的关系^[81-82]。因此, 过表达 ciRS-7 能够促进癌细胞的增殖, 反之则相反。此外, 体内实验结果显示, ciRS-7 可能是潜在的治疗靶点。Pan 等^[70]通过人胃癌裸鼠转移实验证明, 下调 ciRS-7 可使胃癌生长速率减慢。Weng 等^[71]将下调 ciRS-7 的人结肠癌细胞注射至裸鼠体内观察到了相似的现象。这些结果说明, ciRS-7 是潜在的致癌性 circRNA, 敲除胃肠癌患者体内 ciRS-7 或许是一种潜在的治疗方法。虽然目前只见 circRNA 用于胃肠肿瘤治疗的体内、体外实验研究, 但鉴于 circRNA 在胃肠肿瘤发生中的重要性, 期待不久将见到它们应用于临床治疗的研究成果。

5 展 望

随着高通量测序技术的发展, 肿瘤相关 circRNA 被人们所重视。目前, 研究者已发现 circRNA 具有分布广泛、组织特异和功能多样等特点。circRNA 表达与胃肠肿瘤的大小、远处转移、浸润、TNM 分期等有着密切联系。circRNA 有望

应用于肿瘤的临床诊断与预后评估。然而, 我们也应该认识到, circRNA 在肿瘤发生发展过程中的分子机制并没有得到完全阐释。circRNA/miRNA 轴具有重要的基因表达调控作用, 有些 circRNA 具有蛋白质编码功能等新近发现, 为我们揭示 RNA 在调控生命活动中的作用, 以及对于肿瘤靶向治疗均提供了新思路。因此, circRNA 这一 ncRNA 家族的新星, 值得我们重视。

参 考 文 献

- [1] 朱林文, 谢 依, 郭俊明. tRNA 衍生片段和 tRNA 半分子的生物学功能及其在疾病发生中的作用. 生物化学与生物物理进展, 2017, **44**(7): 565-572
Zhu L W, Xie Y, Guo J M. Prog Biochem Biophys, 2017, **44**(7): 565-572
- [2] Sanger H L, Klotz G, Riesner D, *et al.* Viroids are single-stranded covalently closed circular RNA molecules existing as highly base-paired rod-like structures. Proc Natl Acad Sci USA, 1976, **73**(11): 3852-3856
- [3] Jemal A, Bray F, Center M M, *et al.* Global cancer statistics. CA Cancer J Clin, 2011, **61**(2): 69-90
- [4] Allemani C, Weir H K, Carreira H, *et al.* Global surveillance of cancer survival 1995-2009: analysis of individual data for 25,676,887 patients from 279 population-based registries in 67 countries (CONCORD-2). Lancet, 2015, **385**(9972): 977-1010
- [5] Chen W, Zheng R, Baade P D, *et al.* Cancer statistics in China, 2015. CA Cancer J Clin, 2016, **66**(2): 115-132
- [6] Salzman J. Circular RNA expression: its potential regulation and function. Trends Genet, 2016, **32**(5): 309-316
- [7] Cocquerelle C, Mascrez B, Hétiuin D, *et al.* Mis-splicing yields circular RNA molecules. FASEB J, 1993, **7**(1): 155-160
- [8] Chen L L. The biogenesis and emerging roles of circular RNAs. Nat Rev Mol Cell Biol, 2016, **17**(4): 205-211
- [9] Kelly S, Greenman C, Cook P R, *et al.* Exon skipping is correlated with exon circularization. J Mol Biol, 2015, **427**(15): 2414-2417
- [10] Starke S, Jost I, Rossbach O, *et al.* Exon circularization requires canonical splice signals. Cell Rep, 2015, **10**(1): 103-111
- [11] 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
- [12] Zhang X O, Wang H B, Zhang Y, *et al.* Complementary sequence-mediated exon circularization. Cell, 2014, **159**(1): 134-147
- [13] Li Z, Huang C, Bao C, *et al.* Exon-intron circular RNAs regulate transcription in the nucleus. Nat Struct Mol Biol, 2015, **22**(3): 256-264
- [14] AshwalFluss, Reut, Meyer, *et al.* circRNA biogenesis competes with pre-mRNA splicing. Mol Cell, 2014, **56**(1): 55-66
- [15] 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
- [16] Zhang Y, Zhang X O, Chen T, *et al.* Circular intronic long noncoding RNAs. Mol Cell, 2013, **51**(6): 792-806
- [17] Rearick D, Prakash A, Mcsweney A, *et al.* Critical association of ncRNA with introns. Nucleic Acids Res, 2011, **39**(6): 2357-2366
- [18] Legnini I, Timoteo G D, Rossi F, *et al.* Circ-ZNF609 is a circular RNA that can be translated and functions in myogenesis. Mol Cell, 2017, **66**(1): 22-37
- [19] Pamudurti N R, Bartok O, Jens M, *et al.* Translation of circRNAs. Mol Cell, 2017, **66**(1): 9-21
- [20] Pasquinelli A E, Hunter S, Bracht J. MicroRNAs: a developing story. Curr Opin Genet Dev, 2005, **15**(2): 200-205
- [21] Francozorrilla J M, Valli A, Todesco M, *et al.* Target mimicry provides a new mechanism for regulation of microRNA activity. Nat Genet, 2007, **39**(8): 1033-1037
- [22] Cesana M, Cacchiarelli D, Legnini I, *et al.* A long noncoding RNA controls muscle differentiation by functioning as a competing endogenous RNA. Cell, 2011, **147**(2): 358-369
- [23] Hansen T B, Jensen T I, Clausen B H, *et al.* Natural RNA circles function as efficient microRNA sponges. Nature, 2013, **495**(7441): 384-388
- [24] Holdt L M, Anika S, Kristina S, *et al.* Circular non-coding RNA ANRIL modulates ribosomal RNA maturation and atherosclerosis in humans. Nat Commun, 2016, **7**: 12429
- [25] Du W W, Yang W, Liu E, *et al.* Foxo3 circular RNA retards cell cycle progression *via* forming ternary complexes with p21 and CDK2. Nucleic Acids Res, 2016, **44**(6): 2846-2858
- [26] Abdelmohsen K, Panda A C, Munk R, *et al.* Identification of HuR target circular RNAs uncovers suppression of PABPN1 translation by CircPABPN1. RNA Biol, 2017, **14**(3): 361-369
- [27] Nelson B R, Makarewich C A, Anderson D M, *et al.* A peptide encoded by a transcript annotated as long noncoding RNA enhances SERCA activity in muscle. Science, 2016, **351**(6270): 271-275
- [28] Laressergues D, Couzigou J M, Clemente H S, *et al.* Primary transcripts of microRNAs encode regulatory peptides. Nature, 2015, **520**(7545): 90-93
- [29] Magny E G, Pueyo J I, Pearl F M, *et al.* Conserved regulation of cardiac calcium uptake by peptides encoded in small open reading frames. Science, 2013, **341**(6150): 1116-1620
- [30] Kos A, Dijkema R, Amberg A C, *et al.* The hepatitis delta (delta) virus possesses a circular RNA. Nature, 1986, **323**(6088): 558-560
- [31] Wang Y, Wang Z. Efficient back splicing produces translatable circular mRNAs. RNA, 2015, **21**(2): 172-179
- [32] Chen C Y, Sarnow P. Initiation of protein synthesis by the eukaryotic translational apparatus on circular RNAs. Science, 1995, **268**(5209): 415-417
- [33] Yang Y, Gao X, Zhang M, *et al.* Novel role of FBXW7 circular RNA in repressing glioma tumorigenesis. J Natl Cancer Inst, 2018, **110**(3). doi: 10.1093/jnci/djx166
- [34] Yang Y, Fan X, Mao M, *et al.* Extensive translation of circular RNAs driven by N(6)-methyladenosine. Cell Res, 2017, **27**(5): 626-641
- [35] Zhou C, Molinie B, Daneshvar K, *et al.* Genome-wide maps of

- m6A circRNAs identify widespread and cell-type-specific methylation patterns that are distinct from mRNAs. *Cell Rep*, 2017, **20**(9): 2262–2276
- [36] Li T, Shao Y, Fu L *et al.* Plasma circular RNA profiling of patients with gastric cancer and their droplet digital RT-PCR detection. *J Mol Med*, 2018, **96**(1): 85–96
- [37] Lai Z Y, Yang Y, Yan Y, *et al.* Analysis of co-expression networks for circular RNAs and mRNAs reveals that circular RNAs hsa_circ_0047905, hsa_circ_0138960 and has-circRNA7690-15 are candidate oncogenes in gastric cancer. *Cell Cycle*, 2017, **16**(23): 2301–2311
- [38] Huang M, He Y R, Liang L C, *et al.* Circular RNA hsa_circ_0000745 may serve as a diagnostic marker for gastric cancer. *World J Gastroenterol*, 2017, **23**(34): 6330–6338
- [39] Zhao Q, Chen S, Li T, *et al.* Clinical values of circular RNA 0000181 in the screening of gastric cancer. *J Clin Lab Anal*, 2017: e22333
- [40] Li W H, Song Y C, Zhang H, *et al.* Decreased expression of hsa_circ_00001649 in gastric cancer and its clinical significance. *Dis Markers*, 2017, **2017**: 4587698
- [41] 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
- [42] Chen S, Li T, Zhao Q, *et al.* Using circular RNA hsa_circ_0000190 as a new biomarker in the diagnosis of gastric cancer. *Clin Chim Acta*, 2017, **466**: 167–171
- [43] Huang Y S, Jie N, Zou K J, *et al.* Expression profile of circular RNAs in human gastric cancer tissues. *Mol Med Rep*, 2017, **16**(3): 2469–2476
- [44] Zhang Y, Liu H, Li W, *et al.* CircRNA_100269 is downregulated in gastric cancer and suppresses tumor cell growth by targeting miR-630. *Aging*, 2017, **9**(6): 1585–1594
- [45] Zhang J, Liu H, Hou L, *et al.* Circular RNA_LARP4 inhibits cell proliferation and invasion of gastric cancer by sponging miR-424-5p and regulating LATS1 expression. *Mol Cancer*, 2017, **16**(1): 151
- [46] Pan H, Tao L, Jiang Y, *et al.* Overexpression of circular RNA ciRS-7 abrogates the tumor suppressive effect of miR-7 on gastric cancer *via* PTEN/PI3K/AKT signaling pathway. *J Cell Biochem*, 2018, **119**(1): 440–446
- [47] Jin L, Li Z, Yan Z, *et al.* Circ-104916 is downregulated in gastric cancer and suppresses migration and invasion of gastric cancer cells. *Onco Targets Ther*, 2017, **10**: 3521–3529
- [48] Li P, Chen H, Chen S, *et al.* Circular RNA 0000096 affects cell growth and migration in gastric cancer. *Br J Cancer*, 2017, **116**(5): 626–633
- [49] Jie C, Yan L, Zheng Q, *et al.* Circular RNA profile identifies circPVT1 as a proliferative factor and prognostic marker in gastric cancer. *Cancer Lett*, 2017, **388**: 208–219
- [50] Shao Y, Li J, Lu R, *et al.* Global circular RNA expression profile of human gastric cancer and its clinical significance. *Cancer Med*, 2017, **6**(6): 1173–1180
- [51] Fang Y, Ma M, Wang J, *et al.* Circular RNAs play an important role in late-stage gastric cancer: circular RNA expression profiles and bioinformatics analyses. *Tumour Biol*, 2017, **39** (6): 1010428317705850
- [52] Shao Y, Chen L, Lu R, *et al.* Decreased expression of hsa_circ_0001895 in human gastric cancer and its clinical significances. *Tumour Biol*, 2017, **39**(4): 1010428317699125
- [53] Lu R, Shao Y, Ye G, *et al.* Low expression of hsa_circ_0006633 in human gastric cancer and its clinical significances. *Tumour Biol*, 2017, **39**(6): 1010428317704175
- [54] Zhu M, Xu Y, Chen Y, *et al.* Circular BANP, an upregulated circular RNA that modulates cell proliferation in colorectal cancer. *Biomed Pharmacother*, 2017, **88**: 138–144
- [55] Weng W, Wei Q, Toden S, *et al.* Circular RNA ciRS-7-A promising prognostic biomarker and a potential therapeutic target in colorectal cancer. *Clin Cancer Res*, 2017, **23**(14): 3918–3928
- [56] Huang G, Zhu H, Shi Y, *et al.* cir-ITCH plays an inhibitory role in colorectal cancer by regulating the Wnt/ β -Catenin pathway. *Plos One*, 2015, **10**(6): e0131225
- [57] Guo J, Jin L, Zhu C, *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. *Onco Targets Ther*, 2016, **9**: 7451–7458
- [58] Wang X, Zhang Y, Huang L, *et al.* Decreased expression of hsa_circ_001988 in colorectal cancer and its clinical significances. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, **8**(12): 16020–16025
- [59] Xie H, Ren X, Xin S, *et al.* Emerging roles of circRNA_001569 targeting miR-145 in the proliferation and invasion of colorectal cancer. *Oncotarget*, 2016, **7**(18): 26680–26691
- [60] Zhang X L, Xu L L, Wang F. Hsa_circ_0020397 regulates colorectal cancer cell viability, apoptosis, and invasion by promoting the expression of the miR-138 targets TERT and PD-L1. *Cell Biol Int*, 2017, **41**(9): 1056–1064
- [61] Hsiao K Y, Lin Y C, Gupta S K, *et al.* Noncoding effects of circular RNA CCDC66 promote colon cancer growth and metastasis. *Cancer Res*, 2017, **77**(9): 2339–2350
- [62] Dou Y, Cha D J, Franklin J L, *et al.* Circular RNAs are down-regulated in KRAS mutant colon cancer cells and can be transferred to exosomes. *Sci Rep*, 2016, **6**: 37982
- [63] Li Y, Zheng Q, Bao C, *et al.* Circular RNA is enriched and stable in exosomes: a promising biomarker for cancer diagnosis. *Cancer Res*, 2015, **25**(8): 981–984
- [64] Zhang P, Zuo Z, Shang W, *et al.* Identification of differentially expressed circular RNAs in human colorectal cancer. *Tumour Biol*, 2017, **39**(3): 1010428317694546
- [65] Zheng Q, Bao C, Guo W, *et al.* Circular RNA profiling reveals an abundant circHIPK3 that regulates cell growth by sponging multiple miRNAs. *Nat Commun*, 2016, **7**(11215): 11215
- [66] Memczak S, Jens M, Elefsinioti A, *et al.* Circular RNAs are a large class of animal RNAs with regulatory potency. *Nature*, 2013, **495**(7441): 333–338

- [67] Okuda H, Xing F, Pandey P R, *et al.* miR-7 suppresses brain metastasis of breast cancer stem-like cells by modulating KLF4. *Cancer Res*, 2013, **73**(4): 1434-1444
- [68] Fang Y, Xue J L, 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** (6): 1852-1862
- [69] Webster R J, Giles K M, Price K J, *et al.* Regulation of epidermal growth factor receptor signaling in human cancer cells by microRNA-7. *J Biol Chem*, 2009, **284**(9): 5731-5741
- [70] Pan H, Tao L, Jiang Y, *et al.* Overexpression of circular RNA ciRS-7 abrogates the tumor suppressive effect of miR-7 on gastric cancer *via* PTEN/PI3K/AKT signaling pathway. *J Cell Biochem*, 2017, **119**(1): 440-446
- [71] Weng W, Wei Q, Toden S, *et al.* Circular RNA ciRS-7-A promising prognostic biomarker and a potential therapeutic target in colorectal cancer. *Clin Cancer Res*, 2017, **23**(14): 3918-3928
- [72] Yang Q, Wang X, Tang C, *et al.* H19 promotes the migration and invasion of colon cancer by sponging miR-138 to upregulate the expression of HMGA1. *Int J Oncol*, 2017, **50**(5): 1801-1809
- [73] Warburg O. On the origin of cancer cells. *Science*, 1956, **123**(3191): 309-314
- [74] Warburg O, Wind F, Negelein E. The metabolism of tumors in the body. *J Gen Physiol*. 1927, **8**(6): 519 - 530
- [75] Yang L, Zhang W, Wang Y, *et al.* Hypoxia-induced miR-214 expression promotes tumour cell proliferation and migration by enhancing the Warburg effect in gastric carcinoma cells. *Cancer Lett*, 2018, **414**: 44-56
- [76] Robey R B, Hay N. Is Akt the "Warburg kinase"?-Akt-energy metabolism interactions and oncogenesis. *Semin Cancer Biol*, 2009, **19**(1): 25-31
- [77] Bigagli E, Luceri C, Guasti D, *et al.* Exosomes secreted from human colon cancer cells influence the adhesion of neighboring metastatic cells: role of microRNA-210. *Cancer Biol Ther*, 2016, **17**(10): 1062-1069
- [78] Wu Q, Yang Z, Wang F, *et al.* MiR-19b/20a/92a regulates the self-renewal and proliferation of gastric cancer stem cells. *J Cell Sci*, 2013, **126**(18): 4220-4229
- [79] Bu P, Chen K Y, Chen J H, *et al.* A microRNA miR-34a-regulated bimodal switch targets Notch in colon cancer stem cells. *Cell Stem Cell*, 2013, **12**(5): 602-615
- [80] Memczak S, Papavasileiou P, Peters O, *et al.* Identification and characterization of circular RNAs as a new class of putative biomarkers in human blood. *Plos One*, 2015, **10**(10): e0141214
- [81] Tang W, Ji M, He G, *et al.* Silencing CDR1as inhibits colorectal cancer progression through regulating microRNA-7. *Onco Targets Ther*, 2017, **10**: 2045-2056
- [82] Suto T, Yokobori T, Yajima R, *et al.* MicroRNA-7 expression in colorectal cancer is associated with poor prognosis and regulates cetuximab sensitivity *via* EGFR regulation. *Carcinogenesis*, 2015, **36**(3): 338-345

The Biological Functions of Circular RNAs and Their Roles in The Occurrence of Gastrointestinal Tumors*

ZHAO Qian-Fu, CHEN Shi-Jun, XIAO Bing-Xiu, GUO Jun-Ming**

(Department of Biochemistry and Molecular Biology, Zhejiang Key Laboratory of Pathophysiology, Medical School of Ningbo University, Ningbo 315211, China)

Abstract Circular RNAs (circRNAs) are endogenous non-coding RNAs that widely exist in eukaryotic transcriptomes. Unlike linear RNAs, circRNAs are not easily degraded for having a more stable structure. By acting as microRNA (miRNA) sponges, RNA-binding protein sponges, regulating transcription, or translating to proteins, circRNAs regulate gene expression at transcriptional or post-transcriptional levels. Recent studies have found that circRNAs play important roles in regulating cell proliferation, migration and invasion of tumor cells. Gastrointestinal tumors are common malignant tumors with high mortality in China. Researchers found a large number of abnormally expressed circRNAs (such as hsa_circ_0014717, hsa_circ_0001017, hsa_circ_0061276, hsa_circ_0125965, hsa_circ_0000181, hsa_circ_002059, hsa_circ_0000190, hsa_circ_0000096, hsa_circ_0014717, and hsa_circ_KLDHC10) in gastrointestinal tumors. This paper firstly describes the formation mechanisms and biological functions of circRNAs. Then, combining with the latest research progresses of gastrointestinal tumor-associated circRNAs and our group's related research results, we review the mechanisms of circRNAs affecting gastrointestinal tumorigenesis and hope to provide a new theory for the diagnosis and treatment of gastrointestinal tumors.

Key words circular RNAs, microRNAs, RNA-RNA interaction, gastrointestinal tumors, tumor diagnosis

DOI: 10.16476/j.pibb.2017.0443

* This work was supported by grants from The Applied Research Project on Nonprofit Technology of Zhejiang Province (2016C33177), the Scientific Innovation Team Project of Ningbo (2017C110019), The National Natural Science Foundation of China (81772279), and the K. C. Wong Magna Fund in Ningbo University.

**Corresponding author.

Tel: 86-574-87600758, E-mail: guojunming@nbu.edu.cn

Received: December 3, 2017 Accepted: March 1, 2018