



## 环状RNA：胃癌诊治的新星\*

马亦波<sup>1,2)</sup> 马东南<sup>1,2)</sup> 郭俊明<sup>1,2)\*\*</sup><sup>(1)</sup> 宁波大学医学院附属医院消化科, 宁波 315020;<sup>(2)</sup> 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) 是一类闭合环状结构的RNA分子, 广泛分布于各种组织中, 它比线性RNA更稳定。circRNA分为外显子circRNA、外显子-内含子circRNA和内含子circRNA等3类。circRNA的主要功能为充当微RNA海绵、与RNA结合蛋白结合、翻译成蛋白质和调节转录等。近年来, 大量研究表明, circRNA的异常表达在胃癌发生发展过程中起着至关重要的作用。circPTPN22、hsa\_circ\_0001772、circCYFIP2、hsa\_circ\_0017639和circPIP5K1A等的上调以及hsa\_circ\_002059、hsa\_circ\_0000190和circMTO1等的下调与胃癌的增殖和转移密切相关; 而hsa\_circ\_0001313等影响胃癌细胞的顺铂耐药性。组织、血浆及外泌体中circPTPN22、hsa\_circ\_102958、hsa\_circ\_0141633、hsa\_circ\_0065149和hsa\_circ\_0026344等是胃癌新型诊断标志物; 而hsa\_circ\_0005529、circ-RanGAP1、circPIP5K1A和circMAT2B等有望成为胃癌治疗的新靶点。这些胃癌相关circRNA的研究成果有助于认识胃癌发生机制, 并为胃癌的诊治提供基础。

**关键词** 环状RNA, 胃癌, 生物标志物, 治疗靶点**中图分类号** Q53, R5**DOI:** 10.16476/j.pibb.2021.0073

胃癌是世界上最常见的消化道恶性肿瘤之一<sup>[1]</sup>。2020年胃癌新发病例108.9万例, 死亡76.9万例, 分别占全部癌症病例和死亡人数的5.6%和7.7%; 胃癌发病率居世界各类肿瘤第5位, 死亡率居各类肿瘤第4位<sup>[2]</sup>。东亚是胃癌的高发地区, 2020年胃癌新发病例占全球新发病例总数的60.3%<sup>[2]</sup>。早期胃癌 (early gastric cancer, EGC) 通常没有特定的症状, 并且经常与其他消化系统疾病的症状相混淆。当症状明显时, 胃癌已进入后期阶段。因此, 寻找EGC标志物显得很有必要。

1979年, Hsu等<sup>[3]</sup>使用电子显微镜观察到真核生物细胞质中的环状RNA (circular RNA, circRNA)。circRNA最初被认为是mRNA剪接错误的副产品<sup>[4]</sup>。近年来, 研究人员已经证明了circRNA不是简单的错误剪接产生的, 而是在人类细胞中广泛存在的具有生物学功能的RNA分子<sup>[5]</sup>。此外, 许多研究表明, circRNA在肿瘤的发生和发展中起着至关重要的作用<sup>[6-8]</sup>。与传统标志物不同, circRNA作为一种潜在的诊断、预后或预测标志物, 因其高度特异性而备受关注。近些年来,

circRNA的合成机制与功能已逐渐被阐明, 关于circRNA与胃癌关系的研究也已展开, 许多circRNA被发现在胃癌患者组织和正常组织间存在较大差异, 一些胃癌相关circRNA在胃癌发生、发展过程中发挥重要的调控作用<sup>[7-8]</sup>。因此, circRNA可能成为胃癌的潜在诊断标志物和治疗新靶点。

## 1 circRNA生物合成的机制

目前, 大多数circRNA是通过前体mRNA (pre-mRNA) 进行反向剪接而产生的, 它们没有3'端和5'端<sup>[9]</sup>。根据其组成, circRNA可分为外显子-内含子circRNA (exon-intron circular RNA, EIciRNA)<sup>[10]</sup>、外显子circRNA (exonic circular RNA, ecircRNA)<sup>[9, 11]</sup>和内含子circRNA (circular intronic RNA, ciRNA)<sup>[12]</sup>。ecircRNA和EIciRNA

\* 国家自然科学基金(81772279)和宁波大学王宽诚基金资助项目。

\*\* 通讯联系人。

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

收稿日期: 2021-05-14, 接受日期: 2021-07-26

的形成方式包括 (图 1): a. 内含子配对驱动的环化<sup>[11]</sup>: pre-mRNA 上游和下游的内含子通过互补的碱基序列形成包含外显子的 ecircRNA 或包含外显子与内含子的 EIciRNA; b. 套索驱动中环化或外显子跳跃<sup>[13]</sup>: pre-mRNA 被剪接时, 下游外显子的 3' 剪接受体和上游 5' 剪接供体之间形成反向共价连接的套索结构, 其中包含外显子和内含子, 通过进一步移除内含子后外显子通过磷酸二酯键形成 ecircRNA; c. RNA 结合蛋白 (RNA binding protein, RBP) 依赖的环化<sup>[14]</sup>: pre-mRNA 外显子两端的上下游内含子通过可供 RBP 识别的序列来

与 RBP 特异性结合形成二聚体, 环化形成 EIciRNA; 若移除内含子后, 则最终可形成 ecircRNA。d. ciRNA 不同于 ecircRNA, 它包含一个独特的 2'-5' 链接, 它的形成与内含子两端 7 nt 的 GU 丰富元件和 11 nt 的 C 丰富元件相关。内含子 GU 丰富元件和 C 丰富元件的两端环化形成一个不包含外显子的、拥有不同长度尾巴的套索 RNA 结构, 去除尾部分支后生成 ciRNA。另外, Schmidt 等<sup>[15]</sup> 最近在后生动物中发现了一种古老、保守的 RNA 环化机制, 涉及 tRNA 内含子的剪接。这种剪接机制完全独立于前述 mRNA 的剪接机制。

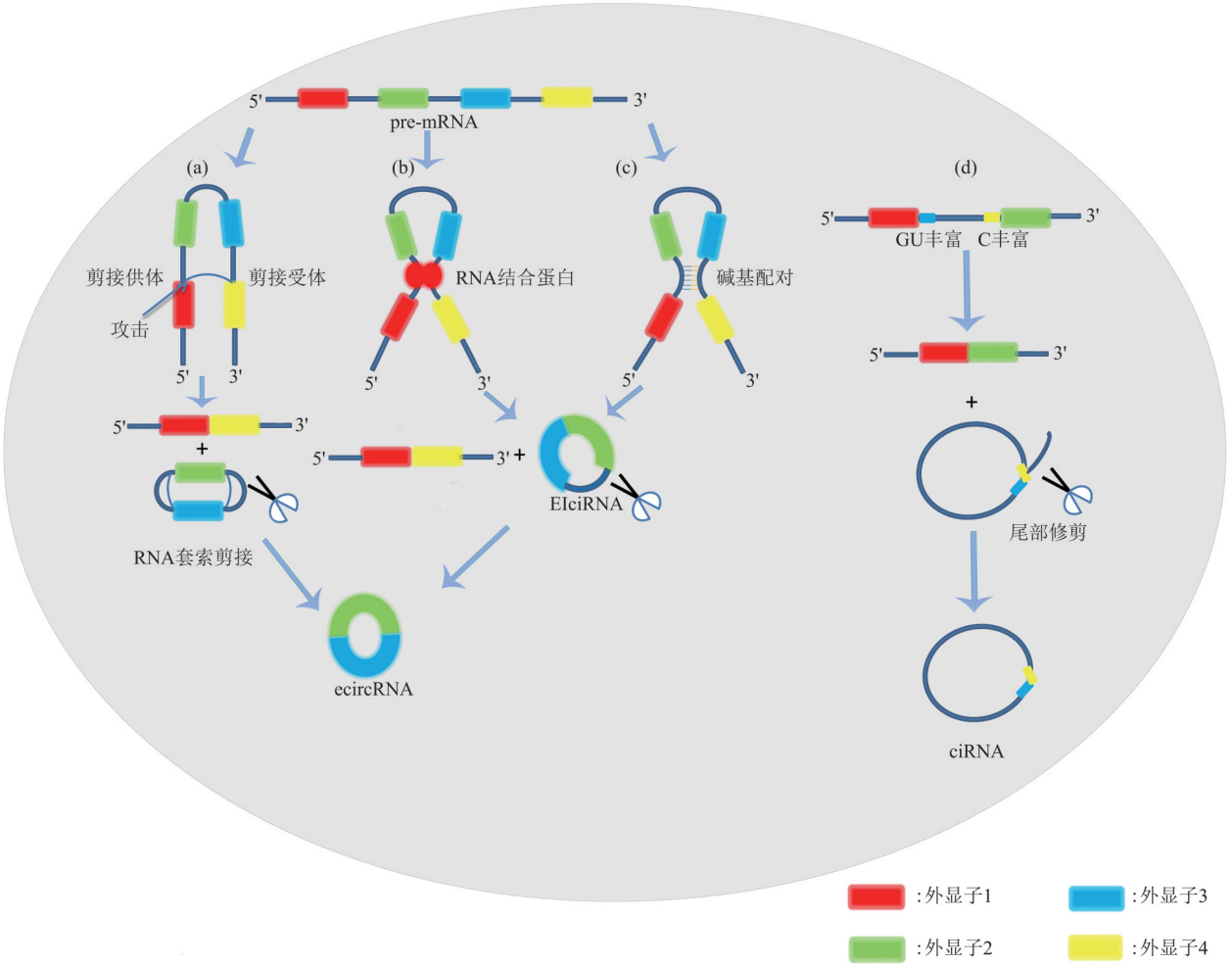


Fig. 1 The models of circRNAs' circularization  
图1 circRNA的环化模型

(a) 套索驱动中环化: ecircRNA 由外显子跳跃产生。外显子4的5'端攻击外显子1的3'剪接位点以形成由外显子1和4组成的mRNA和由外显子2和3组成的RNA套索, 然后进一步剪接去除内含子形成 ecircRNA。(b) RNA结合蛋白 (RNA binding protein, RBP) 驱动中环化: RBP 将两个侧翼内含子紧密连接在一起, 促进RNA的环化, 然后去除内含子形成 ecircRNA。(c) 内含子配对驱动环化: 外显子1和外显子2之间的内含子, 外显子3和外显子4之间的内含子通过碱基配对形成环结构, 然后除去或保留内含子以形成 ecircRNA 或 EIciRNA。(d) 环状内含子 RNA 环化: 靠近内含子5'剪接位点的GU丰富序列和靠近分支点的C丰富序列分别作为剪接供体和剪接受体, 然后修剪分支点下游的3'尾以形成 ciRNA。

## 2 circRNA的生物学功能

被揭示, 以下分5个方面分别阐述 (图2)。

随着研究的深入, circRNA的生物学功能逐渐

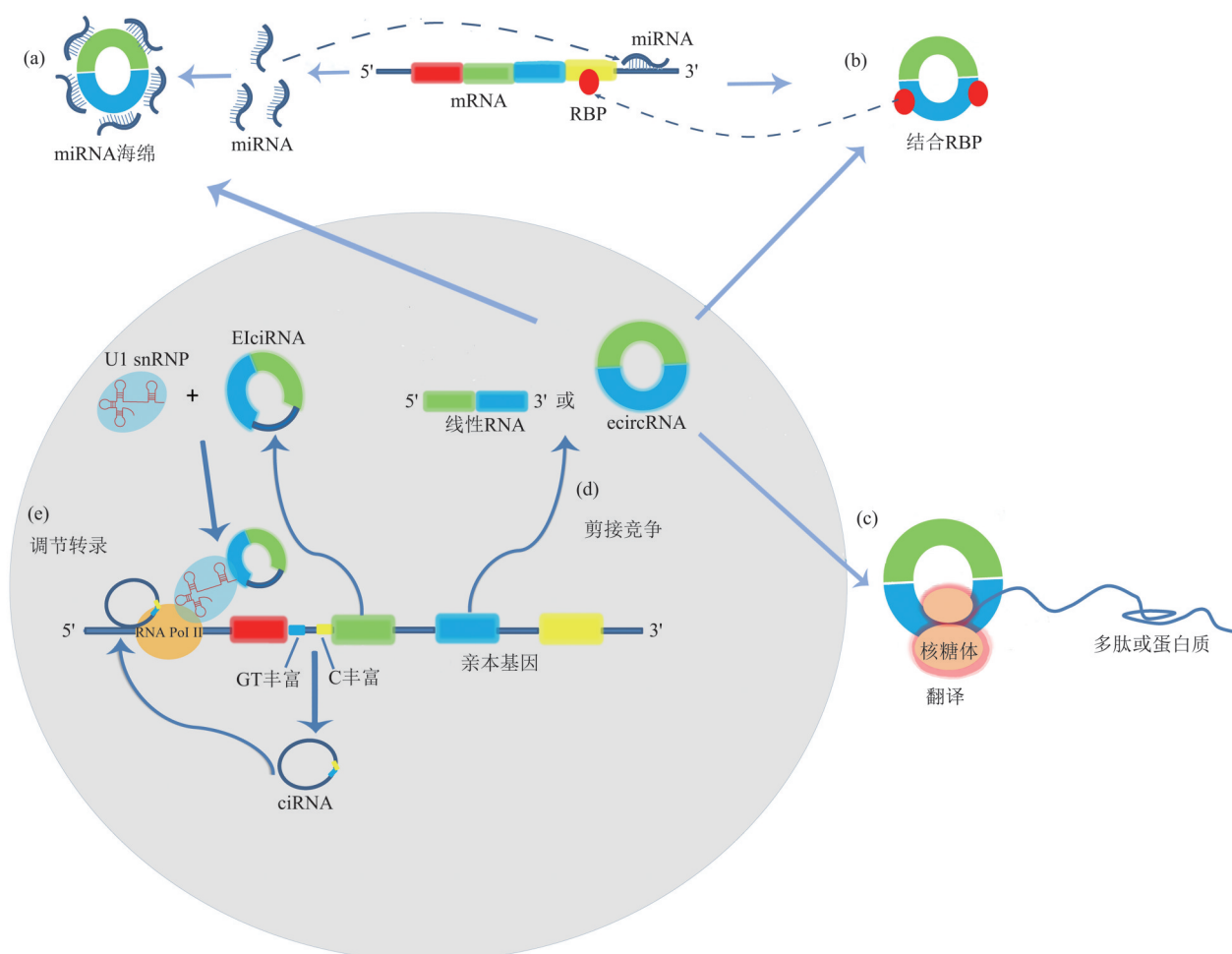


Fig. 2 Biological functions of circRNAs

图2 circRNA的生物学功能

(a) miRNA海绵: circRNA与微RNA (microRNA, miRNA) 结合, 与mRNA竞争miRNA靶向结合位点, 抑制miRNA对mRNA的影响。(b) 与RNA结合蛋白 (RBP) 结合: circRNA与RBP相互作用以防止其对mRNA的促进或抑制。(c) 翻译功能: circRNA翻译成多肽或蛋白质, 从而通过它们发挥其生物学功能。(d) 剪接竞争: 在前体mRNA剪接过程中, circRNA影响环状剪接和线性剪接之间的竞争, 形成线性RNA或circRNA, 导致基因表达产物的变化。(e) 调节转录: EICiRNA和U1小核糖核蛋白 (small nuclear ribonucleoprotein, snRNP) 与RNA聚合酶II (polymerase II, Pol II) 形成复合物, 或ciRNA直接与Pol II相互作用形成复合物。复合物位于亲本基因的启动子上以增强宿主基因的转录。

### 2.1 circRNA充当miRNA海绵

大部分的circRNA主要存在于细胞质中。已有大量的研究发现, 定位于细胞质中的circRNA可以与mRNA竞争微RNA (microRNA, miRNA) 的靶向结合位点, 充当miRNA海绵, 从而调控mRNA的表达<sup>[9, 16]</sup>。在可充当miRNA海绵的circRNA中, 最典型的是ciRS-7 (circular RNA sponge for

miR-7)<sup>[16]</sup>。ciRS-7含有超过70个保守的miR-7结合位点; 并且在细胞中高丰度表达, 在每个细胞中大概能吸附两万多个miR-7, 因此可以与mRNA竞争miR-7的结合位点, 从而影响其表达水平<sup>[9]</sup>。另一个作为miRNA海绵的circRNA是雄性性别决定基因 (sex-determining region Y, Sry) 的睾丸特异性转录物, 它含有miR-138的16个保守结合位

点<sup>[16]</sup>。胃癌相关 circRNA 和 miRNA 之间的相互作用是近年来的研究热点, 不过由于大多数 circRNA 在体内表达较低, 所以它们作为 miRNA 分子海绵的影响有限。

## 2.2 circRNA与RBP结合

许多 circRNA 可以与 RBP 形成复合物, 从而调节特定的蛋白质发挥功能<sup>[17-20]</sup>。研究表明, circFoxo3 能够与多种 RBP (如缺氧诱导因子和局部黏着斑激酶等) 结合影响细胞应激和衰老进程<sup>[17]</sup>。circFoxo3 可以通过与周期蛋白依赖性激酶 2 (cyclin-dependent kinase 2, CDK2) 和 P21 相互作用来抑制细胞周期, 将细胞阻滞在 G1/S 期<sup>[18]</sup>。另外, 研究人员发现, 胃癌相关 circRNA circAGO2 表达上调, 与患者预后不良有关。circAGO2 与人类抗原 R (human antigen R, Hur) 蛋白相互作用, 促进 Hur mRNA 3'端非翻译区的激活和富集, 从而减少与 AGO2 的结合, 抑制 AGO2/miRNA 介导的与胃癌进展相关基因的沉默<sup>[19]</sup>。相关 circRNA 表达的增强会促进胃癌的发生发展。例如, Wang 等<sup>[20]</sup> 实验证明, 在胃癌细胞核中 circ\_SMAD4 可以与 T 细胞因子 4 (T cell factor 4, TCF4) 相互作用, 然后将 TCF4 募集到  $\beta 1$  连环素 (catenin beta 1, CTNNB1) 基因的启动子上, 增强 CTNNB1 的转录, 而  $\beta 1$  连环素具有调节细胞生长和细胞黏附的作用, 该基因突变可能是导致胃癌的重要原因之一。

## 2.3 circRNA参与调控转录

定位于细胞核的一些 circRNA 可以调控转录。例如, circ-EIF3J 和 circ-PAIP2 与 U1 小核核糖核蛋白 (small nuclear ribonucleoprotein, snRNP) 结合, 进一步与 RNA 聚合酶 II 相互作用, 促进亲本基因的转录<sup>[10]</sup>。另外, Zhang 等<sup>[12]</sup> 发现有些 ciRNA 可反馈调控其亲本基因的表达, 如: ci-ankrd52 堆积到其转录位点, 激活 RNA 聚合酶 II 发挥正调控转录作用。这表明 ciRNA 对其亲本编码基因具有顺式调控作用。最近还有研究发现, 胃癌相关 circRNA 也具有调控转录的作用, 如: Ding 等<sup>[21]</sup> 发现沉默 circ-DONSON 抑制胃癌细胞的增殖、迁移和侵袭。具体机制是 circ-DONSON 通过与核小体重塑因子 (nucleosome-remodeling factor, NURF) 复合物相互作用, 将复合物募集到 SRY 框转录因子 4 (SRY-box transcription factor 4, SOX4) 基因启动子上, 并启动其转录, 而 SOX 4 能促进胃癌的增殖和转移。

## 2.4 circRNA影响同源线性mRNA的形成

Ashwal-Fluss 等<sup>[22]</sup> 发现在 pre-mRNA 的剪接过程中, 有些 circRNA 通常是通过剪接竞争即 circRNA 的反向剪接机制和 mRNA 的常规线性剪接的互相竞争, 以牺牲典型的 mRNA 为代价产生的, 从而降低同源线性 mRNA 的表达。这表明 circRNA 的生物发生可能是 mRNA 产生的重要调节因素之一。

## 2.5 circRNA发挥翻译作用

Yang 等<sup>[23]</sup> 研究发现, N-6-腺苷甲基修饰 (指在 RNA 分子的 A 碱基的第 6 位 N 上加上一个甲基基团, m<sup>6</sup>A) 作为 RNA 最丰富的碱基修饰, 可启动人体细胞中一些 circRNA 翻译成蛋白质。在深入研究后发现, 这种 m<sup>6</sup>A 驱动的翻译需要真核翻译起始因子 4G2 (eukaryotic translation initiation factor 4 gamma 2, eIF4G2) 和 m<sup>6</sup>A 读码器——含 YTH 结构域蛋白 3 (YTH domain-containing protein 3, YTHDF3), 并被甲基转移酶样 3 和 14 (methyltransferase-like 3 and 14, METTL3/14) 增强; 而被去甲基化酶——肥胖相关蛋白 (fat mass and obesity-associated protein, FTO) 抑制。另外, 有研究发现, 参与肌肉发生过程中的 circ-ZNF609 也可直接翻译成蛋白质<sup>[24]</sup>。circ-ZNF609 通过内部核糖体插入元件、以帽子非依赖方式翻译成蛋白质。这些最近的发现不仅拓展了人们对 circRNA 功能的认识, 而且为 circRNA 在疾病诊治中的应用提供了新思路。因此, 根据是否具有翻译功能, circRNA 可分为编码 circRNA 和非编码 circRNA<sup>[25]</sup>。

## 3 circRNA在胃癌诊治中的价值

目前胃癌研究的首要目标是建立早期诊断和有效治疗的新方法以提高胃癌患者的生存率。circRNA 在胃癌发生发展中发挥重要作用, 已被证明其是胃癌的潜在诊断标志物、治疗靶点, 以及与胃癌耐药有关。

### 3.1 circRNA作为胃癌诊断的生物标志物

circRNA 具有稳定性和半衰期长等特点, 可作为胃癌诊断的分子标志物<sup>[26]</sup>。现已发现许多 circRNA 在胃癌组织、患者血浆和外泌体中的水平异常变化 (表 1)。Ma 等<sup>[27]</sup> 研究发现, circPTPN22 在胃癌组织、胃癌细胞和胃癌患者血浆中表达上调, 并与肿瘤转移呈正相关, 可作为胃癌诊断的生物标志物。Xu 等<sup>[28]</sup> 研究证明, 血浆

circ\_0004771在胃癌患者和复发患者中均有不同程度的上调,提示血浆circ\_0004771可作为胃癌诊断的一种新的生物标志物。最近还有研究进一步发现了包括hsa\_circ\_0007766<sup>[29]</sup>、hsa\_circ\_0141633<sup>[30]</sup>、hsa\_circ\_102958<sup>[31]</sup>、hsa\_circ\_0067582<sup>[32]</sup>和hsa\_circ\_0065149<sup>[33]</sup>在内的一些circRNA在胃癌组织和患者血液中都有不同程度的变化,且受试者操作特性曲线(receiver operating curve, ROC)下面积(area under ROC, AUC)值较大,其中hsa\_circ\_0141633的AUC值达到0.835,且灵敏度(0.845)和特异度(0.936)较高,明显高于临床上常用的癌胚抗原(carcinoembryonic antigen, CEA)和糖类抗原19-9(carbohydrate antigen 19-9, CA19-9)<sup>[34]</sup>; hsa\_circ\_0007766和hsa\_circ\_102958的AUC值分别为0.704和0.74,均高于CEA和CA19-9的AUC值<sup>[29, 31]</sup>; 另外hsa\_circ\_0067582的

AUC值为0.694,且其灵敏度(0.667)和特异度(0.613)高于CA19-9的灵敏度和特异度<sup>[32]</sup>。这些实验数据提示, circRNA可能是潜在的胃癌诊断标志物。另外,本课题组首次研究发现, hsa\_circ\_0065149的表达在胃癌中显著下调,与肿瘤直径、神经侵袭和胃癌患者总生存期显著相关<sup>[33]</sup>。更重要的是,早期胃癌患者血浆外泌体中hsa\_circ\_0065149比传统的胃癌标志物具有更高的敏感性和特异性,提示可作为早期胃癌的筛查标志物。Zhang等<sup>[35]</sup>的研究结果显示,胃癌组织中hsa\_circ\_0026344水平与肿瘤大小、淋巴结转移和肿瘤-淋巴结-转移(tumor node metastasis, TNM)分期等临床病理因素显著相关;此外, hsa\_circ\_0026344低表达患者的总体生存率明显低于高表达患者,是胃癌预后的一个潜在的生物标志物。

Table 1 circRNAs may be used in the diagnosis of gastric cancer

表1 有希望用于诊断胃癌的circRNA

| circRNA          | 来源    | 表达 | AUC   | 灵敏度   | 特异度   | 参考文献 |
|------------------|-------|----|-------|-------|-------|------|
| circPTPN22       | 组织/血浆 | 上升 | 0.857 | 0.780 | 0.840 | [27] |
| hsa_circ_0004771 | 组织/血浆 | 上升 | 0.733 | 0.675 | 0.792 | [28] |
| hsa_circ_0007766 | 组织    | 上升 | 0.704 | 0.533 | 0.833 | [29] |
| hsa_circ_0141633 | 组织/血浆 | 上升 | 0.835 | 0.845 | 0.936 | [30] |
| hsa_circ_102958  | 组织    | 上升 | 0.740 | 0.610 | 0.860 | [31] |
| hsa_circ_0067582 | 组织    | 下降 | 0.694 | 0.667 | 0.613 | [32] |
| hsa_circ_0065149 | 外泌体   | 下降 | 0.640 | 0.487 | 0.902 | [33] |

### 3.2 circRNA作为胃癌治疗新靶点

circRNA与胃癌细胞增殖、分化、侵袭和迁移相关,有希望成为胃癌治疗的潜在新靶点(表2)。例如:胃癌组织中过表达的hsa\_circ\_0000467通过miR-326-3p海绵作用在胃癌的发生、发展中起调控作用<sup>[36]</sup>。Wang等<sup>[37]</sup>研究发现, hsa\_circ\_0001772(circRBM33)通过miR-149/IL-6轴上调白介素-6(interleukin-6, IL-6)的水平,进而调控胃癌细胞的增殖。转录因子特异性蛋白1(specificity protein 1, Sp1)参与调节肿瘤进展相关信号通路相关基因的表达,在胃癌中过表达,其表达与胃癌的转移潜能和预后不良有关。Zhang等<sup>[38]</sup>发现, miR-527可与Sp1 mRNA相互作用,抑制Sp1表达;而作为miR-527海绵的hsa\_circ\_0005529在胃癌组织中上调,通过miR-527/Sp1信号轴上调Sp1的水平,促进胃癌的生长和转移。Li等<sup>[39]</sup>研究发现,泛素特异性蛋白酶3(ubiquitin-

specific protease 3, USP3)过表达促进了胃癌细胞的迁移和增殖, miR-224-5p与USP3 mRNA相互作用可降低USP3的表达,而胃癌细胞中hsa\_circ\_0017639表达上调,通过miR-224-5p/USP3轴调节USP3表达水平,参与胃癌的进展。另外,有一些研究发现, hsa\_circ\_0001947、hsa\_circ\_0004104、circCYFIP2、circPIP5K1A、circ-RanGAP1、circ-MAT2B和hsa\_circ\_0001829均可通过circRNA-miRNA-mRNA轴来调控胃癌的发生、发展<sup>[40-46]</sup>。这说明,如果有效抑制这些致癌性circRNA的高表达,可能是未来胃癌分子治疗一种新的方法。

另外,一些胃癌相关的抑癌性circRNA也被发现。例如,肿瘤转移抑制因子1(metastasis suppressor 1, MTSS1)在许多癌症中起抑癌作用, Li等<sup>[47]</sup>实验发现沉默MTSS1基因促进胃癌细胞增殖和迁移,而hsa\_circ\_002059通过抑制miR-182和诱导MTSS1表达抑制胃癌细胞增殖和迁移。

Hu 等<sup>[48]</sup>发现 miR-3200-5p 可以直接与磷脂酰乙醇胺结合蛋白 1 (phosphatidylethanolamine binding protein 1, PEBP1) mRNA 结合, 而 PEBP1 已被认为是参与胃癌增殖和侵袭的主要调控因子之一; circMTO1 通过 miR-3200-5p/PEBP1 轴调控 PEBP1 水平发挥抗癌作用。P21 活化激酶 3 (P21-activated kinase 3, PAK3) 作为一种丝氨酸/苏氨酸激酶, 是小 Rho GTP 酶的主要下游效应因子<sup>[49]</sup>。Wang 等<sup>[50]</sup>发现, PAK3 的表达增加会导致胃癌细胞增殖和转移能力下降, 并证实了 hsa\_circ\_0000190 通过 miR-1252 海绵作用, 上调 PAK3 水平从而抑制胃癌的进展。

有趣的是, 国际上关于 circRNA 调控胃癌的发生发展也有广泛的研究。例如, 最近美国的一项研究利用酶连接步骤合成了第一个抗核酸酶酶解的含有多个 miR-21 结合位点的人工 circRNA 海绵<sup>[51]</sup>。

miR-21 有多个下游靶分子, 其中死亡域相关蛋白 (death domain associated protein, DAXX) 是关键

的肿瘤抑制蛋白, 可以抑制胃癌细胞增殖; 这些人工 circRNA 海绵通过抑制 miR-21 对其下游靶蛋白的活性从而抑制胃癌细胞增殖。另外, 有研究发现, 沉默 circNF1 可抑制胃癌细胞增殖和迁移<sup>[52]</sup>。circNF1 与 miR-16 结合, 从而调节其下游的目标蛋白——微管相关蛋白 7 (microtubule-associated protein 7, MAP7) 和 AKT 丝氨酸/苏氨酸激酶 3 (AKT serine/threonine kinase 3, AKT3) 的翻译水平<sup>[52]</sup>。MAP7 是一种微管相关蛋白, 主要在上皮细胞中表达, 是细胞分裂、增殖和分化所必需的; 磷酸化 AKT3 信号途径参与细胞增殖和分化等过程, 所以, circNF1 可以通过 miR-16 海绵作用调控胃癌细胞的增殖和分化<sup>[52]</sup>。上述这些研究强调了 circRNA 作为胃癌治疗靶点的潜力。

Table 2    circRNAs may be used in the treatment of gastric cancer

表2    有希望用于治疗胃癌的circRNA

| circRNA          | 来源    | 表达 | 机制                             | 参考文献 |
|------------------|-------|----|--------------------------------|------|
| hsa_circ_0000467 | 组织    | 上升 | 调控miR-326-3p                   | [36] |
| hsa_circ_0001772 | 组织    | 上升 | 调控miR-149/IL-6轴                | [37] |
| hsa_circ_0005529 | 组织    | 上升 | 调控miR-527/Sp1轴                 | [38] |
| hsa_circ_0017639 | 组织    | 上升 | 调控miR-224-5p/USP3轴             | [39] |
| hsa_circ_0001947 | 组织    | 上升 | 调控miR-6894-5p/ANTXR 1轴         | [40] |
| circ_0004104     | 组织    | 上升 | 调控miR-539-3p/RNF2轴             | [41] |
| circCYFIP2       | 组织    | 上升 | 调控miR-1205/E2F1轴               | [42] |
| circPIP5K1A      | 组织    | 上升 | 调控miR-671-5p/KRT80轴和PI3K/AKT通路 | [43] |
| circ-RanGAP1     | 组织/血浆 | 上升 | 靶向miR-877-3p调节VEGFA的表达         | [44] |
| circ-MAT2B       | 组织    | 上升 | 调控miR-515-5p/HIF-1 α轴          | [45] |
| hsa_circ_0001829 | 组织    | 上升 | 调控miR-155-5p/SMAD2通路           | [46] |
| hsa_circ_002059  | 组织    | 下降 | 调控miR-182/MTSS1轴               | [47] |
| circMTO1         | 组织    | 下降 | 调控miR-3200-5p/PEBP1轴           | [48] |
| hsa_circ_0000190 | 组织    | 下降 | 抑制miR-1252/PAK3通路              | [50] |
| circNF1          | 组织    | 上升 | 调控miR-16/MAP7和AKT3轴            | [52] |

3.3    circRNA影响胃癌细胞的耐药性

顺铂 (cisplatin) 是临床应用最为广泛的一种抗癌药物, 但近年来顺铂耐药性的产生降低了顺铂的实际疗效, 甚至导致胃癌化疗的失败<sup>[53-54]</sup>。因此研究顺铂耐药机制是目前胃癌研究领域的重点之一。现已发现, 有多种 circRNA 调控胃癌细胞对顺铂的耐药性 (表 3)。Yes 相关蛋白 1 (Yes-associated protein, YAP1) 的高表达与胃癌的不良预后和胃癌顺铂耐药有关, 而 Yao 等<sup>[55]</sup>发现, 降

低 YAP1 表达可抑制胃癌细胞对顺铂的抗性, 顺铂耐药的胃癌患者血清和胃癌细胞的外泌体 circ-PVT1 通过 miR-30a-5p/YAP1 轴调节胃癌细胞的自噬、侵袭和凋亡, 促进胃癌细胞对顺铂耐药。Peng 等<sup>[56]</sup>通过基因敲除和过表达实验发现, 胃癌细胞对顺铂耐药与 circCUL2 调控 miR-142-3p/ROCK2 轴有关。Rho 相关激酶 2 (Rho-associated kinase 2, ROCK2) 与胃癌细胞增殖和迁移有关, 而 ROCK2 过表达抑制胃癌细胞自噬可增强胃癌细胞对顺铂的

敏感性。Zhang 等<sup>[57]</sup>通过体内和体外实验发现, hsa\_circ\_0001313 在胃癌细胞对顺铂耐药中的机制是调控 miR-618/BCL2 影响细胞凋亡。另有研究发现, circ\_0110805 影响胃癌细胞对顺铂敏感与其通过 miR-299-3p 调控内皮蛋白-二硫键异构酶 (endothelial protein-disulfide isomerase, ENDOPDI) 表达有关<sup>[58]</sup>。ENDOPDI 在胃癌组织和细胞中高表达, 具有抑制胃癌细胞凋亡并促进细胞增殖、迁移和侵袭等作用, 此外还可抑制胃癌细胞对顺铂的敏感性。Deng 等<sup>[59]</sup>最新研究发现, 胃癌组织中 circVAPA 的表达较正常组织明显上调, circVAPA

缺失抑制了胃癌细胞的增殖、迁移和侵袭, 增加了细胞凋亡。在顺铂耐药 SGC-7901/DDP 细胞株中 circVAPA、STAT3 和 STAT3 下游基因的表达上调。STAT3 基因敲除可阻断 circVAPA 过表达诱导的顺铂处理 SGC-7901/DDP 细胞的增殖, 而 circVAPA 基因敲除可减弱胃癌细胞对顺铂的耐药性。从机制上来说, circVAPA 能够通过 miR-125b-5p/STAT3 信号通路促进胃癌的化疗耐药和恶性进展。上述这些研究结果为今后胃癌顺铂耐药的研究提供了新方向。

Table 3 circRNAs associated with drug resistance in gastric cancer

表3 与胃癌耐药相关的circRNA

| circRNA          | 来源  | 表达 | 机制                    | 参考文献 |
|------------------|-----|----|-----------------------|------|
| circPVT1         | 外泌体 | 上升 | 调控miR-30a-5p/YAP1轴    | [55] |
| circCUL2         | 组织  | 下降 | 调控miR-142-3p/ROCK2轴   | [56] |
| hsa_circ_0001313 | 组织  | 上升 | 调控miR-618/BCL2轴       | [57] |
| hsa_circ_0110805 | 组织  | 上升 | 调控miR-299-3p/EndoPDI轴 | [58] |
| circVAPA         | 组织  | 上升 | 调控miR-125b-5p/STAT3轴  | [59] |

## 4 总结和展望

如上所述, circRNA 具有稳定性好、半衰期长等特点, 作为 miRNA 海绵、亲本基因转录调控作用以及与 RBP 结合等参与胃癌的发生、发展和转移等过程, 已展现出作为胃癌标志物和治疗靶点的潜力。目前, 临床中使用的胃癌标志物的诊断效率不够理想。如果将 circRNA 作为胃癌的标志物用于临床, 可能有助于解决现有标志物的灵敏度低、不稳定和低特异性等问题。但是, circRNA 在胃癌诊断上也具有一些缺点。首先, 检测 circRNA 比现有检测方法更昂贵, 这限制了 circRNA 作为生物标志物的广泛使用; 其次, 使用 circRNA 进行胃癌诊断的可靠性仍然需要被大样本实验验证。同时, circRNA 作为胃癌治疗靶点也存在一些问题。在探索 circRNA 与胃癌的关系中, 大部分研究关注的还是相关 circRNA 的海绵作用上。然而, 并不是所有 circRNA 都具有海绵作用, 只有少数 circRNA 对某些 miRNA 具有丰富的结合位点, 而且其调控胃癌的可靠性还亟需更多的实验数据来验证。另外, 目前发现的关于胃癌相关 circRNA 的转录调控作用和翻译作用还较少。

虽然目前对 circRNA 功能有了初步的了解, 但仍需要深入地研究其分子机制, 特别是有关

circRNA 应用于胃癌治疗的临床前研究的结果非常少见。未来还需要明确 circRNA 与胃癌发生发展的联系, 进一步阐明 circRNA 与 miRNA 或 RBP 的调控网络, 深入挖掘 circRNA 的作用机制。显然, 要做到真正地把 circRNA 应用于临床, 还有很长的路要走。但是, 相信在不久的将来, 随着研究的深入, 无论是胃癌的早期诊断、治疗还是预后评估, circRNA 将会得到广泛的应用。

## 参 考 文 献

- [1] 周自华, 岳春雪, 梁琳, 等. CD90 过表达影响胃癌细胞 AGS 的干性特征. 生物化学与生物物理进展, 2021, **48**(5): 580-589  
Zhou Z H, Yue C X, Liang L, *et al.* Prog Biochem Biophys, 2021, **48**(5): 580-589
- [2] Sung H, Ferlay J, Siegel R L, *et al.* Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. CA Cancer J Clin, 2021, **71**(3): 209-249
- [3] Hsu M T, Coca-Prados M. Electron microscopic evidence for the circular form of RNA in the cytoplasm of eukaryotic cells. Nature, 1979, **280**(5720): 339-340
- [4] Nigro J M, Cho K R, Fearon E R, *et al.* Scrambled exons. Cell, 1991, **64**(3): 607-613
- [5] Gokool A, Anwar F, Voineagu I. The landscape of circular RNA expression in the human brain. Biol Psychiatry, 2020, **87**(3): 294-304
- [6] 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
- Zou Y, Liu L M, Qin F X, *et al.* Prog Biochem Biophys, 2019, **46**(2): 138-143
- [7] Wang Y, Li Z, Xu S, *et al.* Novel potential tumor biomarkers: circular RNAs and exosomal circular RNAs in gastrointestinal malignancies. J Clin Lab Anal, 2020, **34**(7): e23359
- [8] Xia Y, Lv J, Jiang T, *et al.* CircFAM73A promotes the cancer stem cell-like properties of gastric cancer through the miR-490-3p/HMGA2 positive feedback loop and HNRNP-mediated beta-catenin stabilization. J Exp Clin Cancer Res: CR, 2021, **40**(1): 103
- [9] 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
- [10] 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
- [11] Zhang X, Wang H, Zhang Y, *et al.* Complementary sequence-mediated exon circularization. Cell, 2014, **159**(1): 134-147
- [12] Zhang Y, Zhang X, Chen T, *et al.* Circular intronic long noncoding RNAs. Mol Cell, 2013, **51**(6): 792-806
- [13] Kelly S, Greenman C, Cook P R, *et al.* Exon skipping is correlated with exon circularization. J Mol Biol, 2015, **427**(15): 2414-2417
- [14] Conn S J, Pillman K A, Toubis J, *et al.* The RNA binding protein quaking regulates formation of circRNAs. Cell, 2015, **160**(6): 1125-1134
- [15] Schmidt C A, Noto J J, Filonov G S, *et al.* A method for expressing and imaging abundant, stable, circular RNAs *in vivo* using tRNA splicing. Method Enzymol, 2016, **572**: 215-236
- [16] 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
- [17] Du W W, Yang W, Chen Y, *et al.* Foxo3 circular RNA promotes cardiac senescence by modulating multiple factors associated with stress and senescence responses. Eur Heart J, 2017, **38**(18): 1402-1412
- [18] 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
- [19] Chen Y, Yang F, Fang E, *et al.* Circular RNA circAGO2 drives cancer progression through facilitating HuR-repressed functions of AGO2-miRNA complexes. Cell Death Differ, 2019, **26**(7): 1346-1364
- [20] Wang L, Li B, Yi X, *et al.* Circ\_SMAD4 promotes gastric carcinogenesis by activating Wnt/beta-catenin pathway. Cell Prolif, 2021, **54**: e129813
- [21] Ding L, Zhao Y, Dang S, *et al.* Circular RNA circ-DONSON facilitates gastric cancer growth and invasion *via* NURF complex dependent activation of transcription factor SOX4. Mol Cancer, 2019, **18**(45): 45
- [22] Ashwal-Fluss R, Meyer M, Pamudurti N R, *et al.* circRNA biogenesis competes with pre-mRNA splicing. Mol Cell, 2014, **56**(1): 55-66
- [23] Yang Y, Fan X, Mao M, *et al.* Extensive translation of circular RNAs driven by N<sup>6</sup>-methyladenosine. Cell Res, 2017, **27**(5): 626-641
- [24] Legnini I, Di Timoteo G, Rossi F, *et al.* Circ-ZNF609 is a circular RNA that can be translated and functions in myogenesis. Mol Cell, 2017, **66**(1): 22
- [25] Li Z, Ruan Y, Zhang H, *et al.* Tumor-suppressive circular RNAs: mechanisms underlying their suppression of tumor occurrence and use as therapeutic targets. Cancer Sci, 2019, **110**(12): 3630-3638
- [26] Wu W, Zhen T, Yu J, *et al.* Circular RNAs as new regulators in gastric cancer: diagnosis and cancer therapy. Front Oncol, 2020, **10**: 1526
- [27] Ma S, Kong S, Gu X, *et al.* As a biomarker for gastric cancer, circPTPN22 regulates the progression of gastric cancer through the EMT pathway. Cancer Cell Int, 2021, **21**(1): 44
- [28] Xu Y, Kong S, Qin X, *et al.* Comprehensive assessment of plasma circ\_0004771 as a novel diagnostic and dynamic monitoring biomarker in gastric cancer. Oncotargets Ther, 2020, **13**: 10063-10074
- [29] Xu W, Zhou B, Wu J, *et al.* Circular RNA hsa-circ-0007766 modulates the progression of gastric carcinoma *via* miR-1233-3p/GDF15 axis. Int J Med Sci, 2020, **17**(11): 1569-1583
- [30] Yin G, Zheng S, Shan Y, *et al.* Circulating circRNA hsa\_circ\_0141633 serves as a potential biomarker for gastric cancer. Clin Lab, 2020, **66**(9): 1717-1723
- [31] Wei J, Wei W, Xu H H, *et al.* Circular RNA hsa\_circRNA\_102958 may serve as a diagnostic marker for gastric cancer. Cancer Biomark, 2020, **27**(2): 139-145
- [32] Yu X, Ding H, Yang L, *et al.* Reduced expression of circRNA hsa\_circ\_0067582 in human gastric cancer and its potential diagnostic values. J Clin Lab Anal, 2020, **34**(3): e230803
- [33] Shao Y, Tao X, Lu R, *et al.* Hsa\_circ\_0065149 is an indicator for early gastric cancer screening and prognosis prediction. Pathol Oncol Res, 2020, **26**(3): 1475-1482
- [34] Wu J, Li G, Wang Z, *et al.* Circulating microRNA-21 is a potential diagnostic biomarker in gastric cancer. Dis Markers, 2015, **2015**: 435656
- [35] Zhang X, Zhang L, Cui L, *et al.* Expression of circRNA circ\_0026344 in gastric cancer and its clinical significance. Int J Clin Exp Pathol, 2020, **13**(5): 1017-1023
- [36] Mo W L, Jiang J T, Zhang L, *et al.* Circular RNA hsa\_circ\_0000467 promotes the development of gastric cancer by competitively binding to microRNA miR-326-3p. Biomed Res Int, 2020, **2020**: 4030826
- [37] Wang N, Lu K, Qu H, *et al.* CircRBM33 regulates IL-6 to promote gastric cancer progression through targeting miR-149. Biomed Pharmacother, 2020, **125**: 109876
- [38] Zhang X, Yang H, Jia Y, *et al.* circRNA\_0005529 facilitates growth and metastasis of gastric cancer *via* regulating miR-527/Sp1 axis. BMC Mol Cell Biol, 2021, **22**(1): 6
- [39] Li B, Jin M, Cao F, *et al.* Hsa\_circ\_0017639 expression promotes gastric cancer proliferation and metastasis by sponging miR-224-

- 5p and upregulating USP3. *Gene*, 2020, **750**: 144753
- [40] Bu X, Chen Z, Zhang A, *et al.* Circular RNA circAFF2 accelerates gastric cancer development by activating miR-6894-5p and regulating ANTXR 1 expression. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*, 2021: 101671
- [41] Yue F, Peng K, Zhang L, *et al.* Circ\_0004104 accelerates the progression of gastric cancer by regulating the miR-539-3p/RNF2 axis. *Dig Dis Sci*, 2021, **66**(12): 4290-4301
- [42] Lin J, Liao S, Li E, *et al.* circCYFIP2 acts as a sponge of miR-1205 and affects the expression of its target gene E2F1 to regulate gastric cancer metastasis. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2020, **21**: 121-132
- [43] Song H, Xu Y, Xu T, *et al.* CircPIP5K1A activates KRT80 and PI3K/AKT pathway to promote gastric cancer development through sponging miR-671-5p. *Biomed Pharmacother*, 2020, **126**: 109941
- [44] Lu J, Wang Y, Yoon C, *et al.* Circular RNA circ-RanGAP1 regulates VEGFA expression by targeting miR-877-3p to facilitate gastric cancer invasion and metastasis. *Cancer Lett*, 2020, **471**: 38-48
- [45] Liu J, Liu H, Zeng Q, *et al.* Circular RNA circ-MAT2B facilitates glycolysis and growth of gastric cancer through regulating the miR-515-5p/HIF-1 alpha axis. *Cancer Cell Int*, 2020, **20**(1): 171
- [46] Niu Q, Dong Z, Liang M, *et al.* Circular RNA hsa\_circ\_0001829 promotes gastric cancer progression through miR-155-5p/SMAD2 axis. *Clin Cancer Res*, 2020, **39**(1): 280
- [47] Li T, Zuo X, Meng X. Circ\_002059 suppresses cell proliferation and migration of gastric cancer *via* miR-182/MTSS1 axis. *Acta Biochim Biophys Sini*, 2021, **53**(4):454-462
- [48] Hu K, Qin X, Shao Y, *et al.* Circular RNA MTO1 suppresses tumorigenesis of gastric carcinoma by sponging miR-3200-5p and targeting PEBP1. *Mol Cell Probes*, 2020, **52**: 101562
- [49] Tse E Y T, Ching Y P. The role of p21-activated kinases in hepatocellular carcinoma metastasis. *J Mol Signal*, 2014, **9**: 7
- [50] Wang G, Yu T, Li Y, *et al.* Circ\_0000190 suppresses gastric cancer progression potentially *via* inhibiting miR-1252/PAK3 pathway. *Cancer Cell Int*, 2020, **20**(1): 351
- [51] Liu X, Abraham J M, Cheng Y, *et al.* Synthetic circular RNA functions as a miR-21 sponge to suppress gastric carcinoma cell proliferation. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2018, **13**: 312-321
- [52] Wang Z, Ma K, Pitts S, *et al.* Novel circular RNA circNF1 acts as a molecular sponge, promoting gastric cancer by absorbing miR-16. *Endocr Relat Cancer*, 2019, **26**(3):265-277
- [53] Silberman H. Perioperative adjunctive treatment in the management of operable gastric cancer. *J Surg Oncol*, 2005, **90**(3): 174-186
- [54] Galluzzi L, Vitale I, Michels J, *et al.* Systems biology of cisplatin resistance: past, present and future. *Cell Death Dis*, 2014, **5**: e1257
- [55] Yao W, Guo P, Mu Q, *et al.* Exosome-derived circ-PVT1 contributes to cisplatin resistance by regulating autophagy, invasion, and apoptosis *via* miR-30a-5p/YAP1 axis in gastric cancer cells. *Cancer Biother Radiopharm*, 2021, **36**(4):347-359
- [56] Peng L, Sang H, Wei S, *et al.* circCUL2 regulates gastric cancer malignant transformation and cisplatin resistance by modulating autophagy activation *via* miR-142-3p/ROCK2. *Mol Cancer*, 2020, **19**(1): 561
- [57] Zhang Q, Miao Y, Fu Q, *et al.* CircRNACCDC66 regulates cisplatin resistance in gastric cancer *via* the miR-618/BCL2 axis. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, **526**(3): 713-720
- [58] Yang X, Zhang Q, Guan B. Circ\_0110805 knockdown enhances cisplatin sensitivity and inhibits gastric cancer progression by miR-299-3p/ENDOPDI axis. *Oncotargets Ther*, 2020, **13**: 11445-11457
- [59] Deng P, Sun M, Zhao W, *et al.* Circular RNA circVAPA promotes chemotherapy drug resistance in gastric cancer progression by regulating miR-125b-5p/STAT3 axis. *World J Gastroenterol*, 2021, **27**(6): 487-500

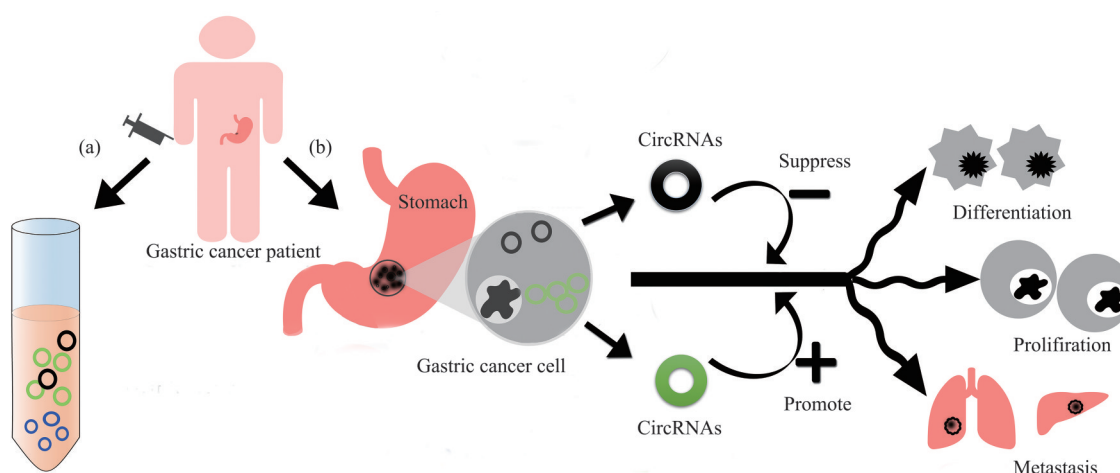
## Circular RNA: New Star in The Diagnosis and Treatment of Gastric Cancer\*

MA Yi-Bo<sup>1,2)</sup>, MA Dong-Nan<sup>1,2)</sup>, GUO Jun-Ming<sup>1,2)\*\*</sup>

<sup>(1)</sup>Department of Gastroenterology, The Affiliated Hospital of Ningbo University School of Medicine, Ningbo 315020, China;

<sup>(2)</sup>Department of Biochemistry and Molecular Biology, Zhejiang Key Laboratory of Pathophysiology, Ningbo University School of Medicine, Ningbo 315211, China)

### Graphical Abstract



#### Gastric cancer-associated circRNAs as new biomarkers and therapeutic targets of gastric cancer

(a) CircRNAs in plasma are new type of diagnostic biomarkers of gastric cancer. (b) The aberrant expression of circRNAs in gastric cancer cells play a crucial role in the occurrence and development of gastric cancer by regulating cell differentiation, proliferation, metastasis, etc. These tumor suppressing circRNAs and tumor promoting circRNAs may become new therapeutic targets of gastric cancer.

**Abstract** Circular RNAs (circRNAs) are RNA molecules with closed ring structure and are widely distributed in various tissues. circRNAs are more stable than linear RNAs. They can be divided into three categories: exonic circular RNA, exon-intron circular RNA, and circular intronic RNA. The main functions of circRNAs are acting as a sponge of microRNAs, binding to RNA binding proteins, affecting the formation of homologous linear mRNAs and regulating transcription. Besides, the latest research found that some circRNAs can directly code protein, which changed the impression that circRNAs only act as noncoding RNAs. This may provide a new idea for future studies of circRNAs. In recent years, a large number of studies have shown that the abnormal expression of circRNAs plays an important role in the occurrence and development of gastric cancer. The expression of circRNAs in tissues, plasma and exosomes is variable between healthy individuals and patients with gastric cancer. Some gastric cancer-associated circRNAs are more sensitive and more specific than traditional gastric cancer markers. For example, hsa\_circ\_0065149 level is significantly decreased in exosome of gastric

\* This work was supported by grants from 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: May 14, 2021 Accepted: July 26, 2021

cancer patient, while the levels of circPTPN22, hsa\_circ\_0004771, and hsa\_circ\_0141633 in the plasma of gastric cancer patients are increased, indicating the potential of circRNAs as novel diagnostic markers for gastric cancer. Studies on gastric cancer-associated drug resistance have found that some circRNAs including circ-PVT1, circCUL2, hsa\_circ\_0001313, hsa\_circ\_0110805, and circVAPA affect the chemoresistance of gastric cancer cells through the circRNA/miRNA/mRNA axis. The main functions of circRNAs are by acting as microRNA sponge to regulate the expression of targeted mRNAs, functioning as tumor promoter or suppressor, thereby affecting gastric cancer proliferation, differentiation and metastasis. The aberrant expression of circRNAs plays a crucial role in gastric carcinogenesis. For example, circRBM33, one of the gastric cancer-associated upregulated circRNAs, upregulates the expression of interleukin-6 (IL-6) through miR-149/IL-6 axis, which in turn promotes gastric cancer proliferation. Hsa\_circ\_002059 inhibits gastric cancer proliferation and migration by inhibiting the expression of miR-182 and inducing the expression of Metastasis suppressor 1 (MTSS1). In addition, hsa\_circ\_0005529, circRanGAP1, circPIP5K1A, circMAT2B, and circMTO1 may be promising as novel targets for the treatment of gastric cancer. The results of studies on gastric cancer-related circRNAs are helpful for us to understand the mechanism underlying gastric cancer occurrence and provide basics for the diagnosis and treatment of gastric cancer.

**Key words** circular RNA, gastric cancer, biomarkers, therapeutic target

**DOI:** 10.16476/j.pibb.2021.0073