

环状 RNA 在胃癌中的研究进展

刘帅臣 李玉明

摘要 环状 RNA(circRNA)是一类广泛存在于真核细胞中的非编码 RNA,不同于线性 RNA,circRNA 通过反式剪接的方式形成一个共价闭合的环状结构,该结构使其具有高度稳定性和生物保守性。近期研究显示,circRNA 在多种肿瘤组织中异常表达,主要通过作为 miRNA 的海绵调控癌细胞的增殖、侵袭和凋亡,并有望成为新型诊断标志物及潜在的治疗靶点。然而其在胃癌中的作用却知之甚少。文章就近年来有关 circRNA 在胃癌中的研究进展进行综述,以期探索 circRNA 与胃癌发生、发展之间的关系,并为胃癌的临床诊断和治疗提供新的思路。

关键词 胃癌 环状 RNA 异常表达

中图分类号 R73

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2018.09.005

胃癌严重威胁着人类生活与健康。根据最新的 GLOBOCAN 数据库显示,胃癌是全球第 5 大常见癌症及第 3 大癌症死亡原因^[1]。同时我国又是胃癌的高发地区,发生率正呈现出年轻化趋势。大量研究已证实环状 RNA(circular RNA, circRNA)参与了多种疾病包括癌症的进展过程,部分 circRNA 具有微小 RNA(miRNA)结合位点,能够通过海绵功能调控 miRNA 下游靶基因的表达,进而影响疾病的发生与发展。

早在 1970 年 circRNA 就在病毒中所发现。最初由于其表达水平很低,circRNA 一直被认为是错误拼接的副产物而未得到广泛重视。近年来随着生物信息学和二代测序技术的迅猛发展,人们发现它在真核细胞中广泛表达。迄今为止,已在多种组织和细胞中鉴定出了数万种 circRNA,其中一部分还具有表达特异性。这些都预示着这一类新型非编码 RNA 分子拥有着特殊的功能和作用。circ-RNA 是一类具有闭环结构特殊形式的非编码 RNA。不同于传统的线性 RNA,它不具有 5'末端帽子和 3'末端多聚 A 尾巴结构,而是由 3'和 5'末端连接形成共价闭合的环状结构,该结构使其在细胞内表达更加稳定,且不易被核酸外切酶降解^[2]。由于 circRNA 的高度保守性和较强的稳定性,其对于恶性肿瘤的诊断性优于其他类型的非编码 RNA,具有极大诊断疾病的潜能。同时,

circRNA 还被发现通过多种生物学功能来调控疾病的发生、发展。研究显示 circRNA 能够通过海绵作用解除 miRNA 对其靶基因的抑制作用,上调靶基因的表达,并且在调控亲代基因的表达、与蛋白质结合形成复合物和作为反转录转座子介导假基因的产生等方面发挥着独特的作用^[2-6]。

之前的大量研究已证实 circRNA 在食管癌、肝癌、结直肠癌等消化道肿瘤中能够稳定存在且异常表达,并与肿瘤的增殖、侵袭和凋亡等生理活动密切相关^[3,4,7,8]。例如,hsa_circ_0020397 已被发现通过靶向 miR-138 来促进结直肠癌细胞的增殖和侵袭并抑制其凋亡,circRNA_000839 通过作为 miR-200b 的海绵来抑制肝癌细胞的侵袭转移^[3,4]。随着对胃癌发病机制研究的深入,研究者们发现在胃癌组织和细胞中同样也存在着多种差异表达的 circRNA,其中大部分是下调的,这些差异表达的 circRNA 最终会导致生物遗传信息的改变,进而导致胃癌的发生和发展,并且其表达水平与肿瘤的直径、淋巴转移、远处转移、TNM 分期等临床病理特征密切相关^[2,9-12]。例如肿瘤越大,hsa_circ_0000190 的表达水平越低^[10]。这些均证明了 circRNA 在胃癌的发生、发展中扮演重要角色。

一、circRNA 与胃癌增殖侵袭

细胞的异常增殖和侵袭性增强是肿瘤细胞的特征性改变,胃癌细胞的增殖与侵袭是一个涉及多因素、多基因、多步骤的复杂过程,目前其机制不是非常明确。最近有学者发现一些 circRNA 可以作为 miRNA 的海绵,竞争性地抑制 miRNA 的功能,间接影响胃癌的发生、发展。Zhang 等^[5]发现 miR-424-5p

基金项目:山东省医药卫生科技发展计划项目(2015WS0483);滨州医学院科研计划与科研启动基金资助项目(BY2014KYQD37)

作者单位:256603 滨州医学院附属医院胃肠外科

通讯作者:李玉明,教授,电子信箱:Lym110204@126.com

与 LATS1 的表达量在胃癌组织中呈负相关,且 miR - 424 - 5p 表达越高,所对应的胃癌预后越差。最终通过细胞增殖和 Transwell 侵袭实验证明 circRNA - LARP4 可通过海绵作用竞争性结合 miR - 424 - 5p 进而调控 LATS1 基因的表达,最终抑制胃癌细胞的增殖和侵袭。类似的是,Zhang 等^[11]通过实时定量 PCR 的研究方法发现, circRNA_100269 在 112 例胃癌组织中有 79 例(70.5%)表达显著下调,多种胃癌细胞株中也得到了一致的结果,且通过双荧光素酶报告实验发现 circRNA_100269 与 miR - 630 表达量呈明显的负相关。通过 CCK8 和克隆形成实验发现 circRNA_100269 能够明显抑制胃癌细胞株 AGS 和 MKN - 28 的增殖,并最终确定 circRNA_100269 - miR - 630 轴在调控胃癌细胞生长增殖方面起重要作用。Chen 等^[2]通过二代测序技术发现了定位于 8 号染色体长臂的一种 circRNA,命名为“circPVT1”。不同于大多数 circRNA, circPVT1 由于其基因组位点的扩增,使其表达量在胃癌组织中频繁上调。circPVT1 主要位于细胞质内,能耐受核酸外切酶的消化处理,并且其转录半衰期超过 24h,具有较强的稳定性。通过细胞增殖实验证实 circPVT1 能显著增强胃癌细胞株 MGC - 803 和 AGS 的生长与增殖,并最终证实该过程是通过其作为 miR - 125b 的海绵体来上调其靶基因 E2F2 的表达,进而增强胃癌细胞的增殖。

二、circRNA 与胃癌诊断标志物

虽然目前 90% 的早期胃癌患者可以通过手术治愈,但是由于缺乏可靠有效的早期诊断技术,大多数胃癌患者在确诊时已经是癌症晚期,失去了最佳的手术治疗时机。目前临床上常用的血清肿瘤标志物如 CEA、CA19 - 9 和 CA72 - 4 等,它们在早期胃癌筛查中的阳性率很低^[13]。内镜检查是目前胃癌诊断的黄金标准,然而这种侵入性技术对于患者来说是极其痛苦的,并且其结果取决于内镜医生的技能和经验。随着测序技术和生物技术的不断发展,现已在人类唾液、胃液、血液等人体成分中发现与疾病相关的 RNA,有的已经作为诊断标志物^[14-16]。这些发现均暗示着 circRNA 具有作为新型生物学标志物的巨大潜能,为早期无创检测提出了新思路。Chen 等^[10]对 104 例胃癌患者的血清进行检测,与健康对照组相比,血清中 hsa_circ_0000190 的表达量显著下调,其特异性明显优于 CEA 和 CA19 - 9,且血清中 CEA 阳性的患者 hsa_circ_0000190 具有较高水平。类似的

是,Huang 等^[12]研究发现 hsa_circ_0000745 在胃癌组织和血清中显著降低,且血清中 hsa_circ_0000745 的表达水平与患者 TNM 分期显著相关。相比于 CEA, hsa_circ_0000745 有着更高的敏感度和特异性,且将两者结合起来拥有更高的诊断价值。Shao 等^[17]首次证实了 circRNA 在胃液中是稳定存在的。通过对不同人群组(健康人群组、慢性萎缩性胃炎组、胃溃疡组和胃癌组)的胃液进行检测,经过 8 个循环的反复冻融以及 4℃ 环境下不同时间点(0、2、4 和 8h)的储存,胃液中 hsa_circ_0014717 的表达量无明显差异。慢性萎缩性胃炎被认为是独立的胃癌危险因素,通过对比发现,慢性萎缩性胃炎组中患者胃液中 hsa_circ_0014717 的表达量显著减少,而健康人群组中的表达量最多^[18]。

三、circRNA 与胃癌预后标志物

在大多数国家胃癌 5 年总体生存率低于 30%^[19]。虽然我国胃癌的发生率和病死率呈逐年稳步下降趋势,但是胃癌患者的预后仍然很差^[20]。胃癌根治术是治疗Ⅲ期胃癌最有效的方法,但是术后肿瘤的早期复发和转移严重影响患者的预后。研究发现 circRNA_100269 不仅与胃癌增殖密切相关,同样也可用来预测患者术后早期的复发。Zhang 等^[21]首次确立了 circRNA 与Ⅲ期胃癌患者术后早期复发的相关性。首先采用基因芯片和实时定量 PCR 的方法筛选出了 4 种与患者术后早期复发密切相关的 circRNA (circRNA_101308、circRNA_104423、circRNA_104916 和 circRNA_100269),然后创建了一个基于这 4 种 circRNA 的用来评估Ⅲ期胃癌根治术后早期复发的风险评分公式,该公式可以将术后的患者分为早期复发的高风险组和低风险组。相比于传统的分类指标如 TNM 分期,该公式可以更准确地预测术后患者的早期复发率,以更科学地制定术后患者的个体化治疗方案。另外,通过对 187 例胃癌标本的不同临床病理特征与 circPVT1 的表达量进行相关性分析,Chen 等^[2]发现与肿瘤直径和 TNM 分期的一样, circPVT1 的表达量也可以作为胃癌患者的独立预后指标。低表达 circPVT1 的胃癌患者总体生存期(中位生存期 20 个月:46 个月)和无病生存期(中位生存期 17 个月:36 个月)比高表达 circPVT1 的患者明显缩短。并且将 circPVT1 表达量和 TNM 分期的结合起来具有更好的预测价值。Zhang 等^[5]通过单变量和多变量分析发现, circRNA_LARP4 的表达水平与肿瘤直径和淋巴结转移呈明显的负相关。与其他指标

相同, circRNA_LARP4 的表达量也可以作为胃癌患者的一个独立预后因素。相比于低表达的胃癌患者, 高表达 circRNA_LARP4 的胃癌患者具有更长的总体生存期和更佳的化疗效果。

四、circRNA 与胃癌治疗新靶点

近年来, 肿瘤的靶向治疗随着分子生物学技术的发展和细胞、分子水平发病机制的深入研究, 已经进入到了一个新时期^[19]。部分成果已投入到临床上使用并取得了令人欣喜的治疗效果。近期研究发现, circRNA 参与了多种与胃癌密切相关的代谢途径和信号转导通路, 并能特异性调控肿瘤相关基因的表达。这些研究不仅提高了我们对于胃癌分子特征的认识, 而且还为以 circRNA 为靶标的胃癌分子靶向治疗提供了新思路^[22]。通过微阵列芯片分析, Dang 等^[23]发现在胃癌组织和癌旁正常组织之间共有 207 种差异表达的 circRNA, 其中大多数是下调的 (150/207)。通过基因本体和 KEGG 信号通路分析发现, 这些差异表达的 circRNA 参与了细胞外基质降解、结合细胞黏附分子、与转化生长因子 β 反应等几种重要的生理学过程, 并且与肿瘤增殖相关的 PI₃K - AKT 信号通路密切相关。类似的是, Sui 等^[24]使用微阵列技术对胃癌组织进行分析发现, 共有 467 种显著差异表达的 circRNA 和 3309 种差异表达的基因。通过对差异表达的 circRNA 和基因进行分析, 发现它们主要参与细胞代谢、DNA 合成、细胞生成等重要生物过程, 并且涉及了细胞粘连、Rap1 信号通路、RNA 转移和细胞周期等与肿瘤增殖侵袭密切相关的代谢途径和信号通路。同时还发现了 circRNA 通过与 miRNA 及 mRNA 之间相互作用影响 CD44、CXXC5、MYH9、MALAT1 等基因的表达, 进而调控胃癌的发生、发展。c - Myc 作为一种重要的原癌基因, 在超过半数的人类癌症中被激活。已有研究发现 miRNA 和 lncRNA 能够调控其表达。近期的研究表明 circ - Amotl1 不仅能够促进细胞的增殖和抑制凋亡, 而且还能通过诱导 c - Myc 的入核进而促进肿瘤生成。此外, circPVT1 也被证实可以通过直接作用来增加胃癌细胞中 c - Myc 的蛋白水平, 进而调控胃癌的发生、发展^[2]。

五、展 望

胃癌是一个多步骤、多因素的综合疾病, 具体发病机制至今仍未完全清楚。与正常胃组织相比, 在胃癌组织中异常表达的 circRNA 能够影响 LATS1、E2F2、c - Myc 等众多肿瘤相关基因的表达, 进而调控

胃癌的增殖、侵袭和转移。虽然目前 circRNA 的研究尚处于初级阶段, 从实验研究到实际临床应用还面临着许多挑战, 但是相信随着生物技术的广泛应用以及科研工作者的不断探索, circRNA 有望成为胃癌早期诊断、靶向治疗及预测转归的重要指标, 为胃癌的临床诊疗提供新思路。

参考文献

- 1 Torre LA, Bray F, Siegel RL, *et al.* Global cancer statistics, 2012 [J]. CA, 2015, 65(2):87 - 108
- 2 Chen J, Li Y, Zheng Q, *et al.* Circular RNA profile identifies circPVT1 as a proliferative factor and prognostic marker in gastric cancer [J]. Cancer Lett, 2017, 388:208 - 219
- 3 Zhang XL, Xu LL, 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 [J]. Cell Biol Int, 2017, 41(9):1056 - 1064
- 4 Wang BG, Li JS, Liu YF, *et al.* MicroRNA - 200b suppresses the invasion and migration of hepatocellular carcinoma by downregulating RhoA and circRNA_000839 [J]. Tumour Biol, 2017, 39(7):1010428317719577
- 5 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 [J]. Mol Cancer, 2017, 16(1):151
- 6 李乐, 吴金亮, 徐明, 等. 环状 RNA 的生物特征及其功能研究进展 [J]. 医学研究杂志, 2017, 46(2):10 - 13, 62
- 7 Xia W, Qiu M, Chen R, *et al.* Circular RNA has_circ_0067934 is upregulated in esophageal squamous cell carcinoma and promoted proliferation [J]. Sci Rep, 2016, 6:35576
- 8 吕玲双, 王建明. 环状 RNA 与人类疾病研究进展 [J]. 医学研究杂志, 2017, 46(1):18 - 21
- 9 Lai ZY, 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 [J]. Cell Cycle, 2017, 16(23):2301 - 2311
- 10 Chen S, Li T, Zhao Q, *et al.* Using circular RNA hsa_circ_0000190 as a new biomarker in the diagnosis of gastric cancer [J]. Int J Clin Chem, 2017, 466:167 - 171
- 11 Zhang Y, Liu H, Li W, *et al.* CircRNA_100269 is downregulated in gastric cancer and suppresses tumor cell growth by targeting miR - 630 [J]. Aging, 2017, 9(6):1585 - 1594
- 12 Huang M, He YR, Liang LC, *et al.* Circular RNA hsa_circ_0000745 may serve as a diagnostic marker for gastric cancer [J]. World J Gastroenterol, 2017, 23(34):6330 - 6338
- 13 Liang Y, Wang W, Fang C, *et al.* Clinical significance and diagnostic value of serum CEA, CA19 - 9 and CA72 - 4 in patients with gastric cancer [J]. Oncotarget, 2016, 7(31):49565 - 49573
- 14 Lin X, Lo HC, Wong DT, *et al.* Noncoding RNAs in human saliva as potential disease biomarkers [J]. Frontiers Gene, 2015, 6:175

(下转第 101 页)

直径变大后其总面积也随之增加,国外学者研究认为上消化道出血患者静脉总面积、直径增大,可根据其变化程度预测消化道出血量^[17,18]。本研究 ROC 结果显示血管面积的预测价值较高,分析其原因可能为上消化道出血与 GCVD、血管截面数量、血管面积相关,且静脉血主要有冠状静脉供给,但由于不同患者冠状静脉解剖结构的差异,并且可能受到其他侧支循环的影响,因此胃冠状静脉的诊断价值仍低于血管面积。

本研究也存在一定的不足,出血者一般均在止血后进行 CT 检测,血管检测指标以及血流动力学状态可能已发生改变,且样本数量较少,可能会导致对预测分析数据出现一定的误差。后续研究应扩大样本量进一步验证。总之,肝硬化门静脉高压者可通过 CT 检测 GCVD、胃底-脾门血管截面数量、血管截面面积预测肝硬化门静脉高压并上消化道出血,其中血管面积预测价值最高。

参考文献

- 1 庄焱,谢青.乙型肝炎肝硬化抗病毒治疗的新观点[J].中华消化杂志,2012,32(8):567-570
- 2 贺加星,阴继凯,刘凡,等.肝硬化门静脉高压并发上消化道出血的相关危险因素分析[J].中国普通外科杂志,2015,24(1):127-130
- 3 林元为,陈伟建,黄求理,等.门静脉高压症血流动力学的 CT 灌注成像研究[J].中华外科杂志,2012,50(7):664-665
- 4 Omagari K, Ohba K, Kadokawa Y, *et al.* Comparison of the grade evaluated by "liver damage" of liver cancer study group of Japan and Child-Pugh classification in patients with hepatocellular carcinoma[J]. *Hepatol Res.* 2006,34(4):266-272
- 5 卢翔,赵青川,韩国宏,等.肝硬化门静脉高压症术后门静脉血栓形成危险因素研究[J].中国实用外科杂志,2013,8(3):205-207

- 6 杨秋辉,王俊岭,江智龙,等.肝硬化患者无创心脏血流动力学指标变化及意义[J].山东医药,2014,54(48):42-44
- 7 茹东跃,朱安东,陈德兴,等.胃镜、腹腔镜联合治疗门静脉高压症[J].中国微创外科杂志,2011,11(8):731-732
- 8 马琳,梁陶媛,张晓.肝硬化门静脉高压患者 B 超与胃镜特点相关性分析 76 例[J].世界华人消化杂志,2016,24(6):933-937
- 9 匡大鹏.奥曲肽联合普萘洛尔治疗肝硬化上消化道出血及其对血流动力学的影响[J].山东医药,2011,51(44):96-97
- 10 刘文娜,戴光荣,宁涛.肝硬化门静脉高压症血流动力学变化的研究进展[J].实用医学杂志,2013,29(20):3431-3433
- 11 张潭,宇雪豹,秦艳娟,等.肝硬化患者门静脉血流动力学彩色多普勒超声检测分析[J].中国中西医结合消化杂志,2013,21(5):257-259
- 12 杨一林,段云友,迪丽,等.超声检测脾脏自发性血液分流对肝硬化患者门静脉血流动力学的影响[J].中国医学影像技术,2010,26(1):96-98
- 13 余杨红,丁山,邓克学.多层螺旋 CT 门静脉成像对食管胃底静脉曲张出血的评价[J].安徽医科大学学报,2013(11):1376-1379
- 14 吕毅,李慕行,刘学民,等.门静脉高压症脾切除联合贲门周围血管离断术后消化道再出血的危险因素分析[J].中华消化外科杂志,2013,12(11):827-831
- 15 张铠,赵卫.TIPS 联合胃冠状静脉栓塞治疗肝硬化门静脉高压伴上消化道出血[J].介入放射学杂志,2017,26(7):601-606
- 16 Adithan S, Venkatesan B, Sundarajan E, *et al.* Color Doppler evaluation of left gastric vein hemodynamics in cirrhosis with portal hypertension and its correlation with esophageal varices and variceal bleed[J]. *Indian J Radiol Imaging*,2010,20(4):289-293
- 17 Cúrdia GT, Rosa B, Cotter J. New insights on an old medical emergency: non-portal hypertension related upper gastrointestinal bleeding[J]. *Rev Esp Enferm Dig*,2016,108(10):648-656
- 18 Li C, Li R, Zhang W. Progress in non-invasive detection of liver fibrosis[J]. *Cancer Biol Med*,2018,15:124-136

(收稿日期:2017-10-17)

(修回日期:2017-10-26)

(上接第 19 页)

- 15 Shao J, Fang PH, He B, *et al.* Downregulated MicroRNA-133a in Gastric Juice as a Clinicopathological Biomarker for Gastric Cancer Screening[J]. *Asian Pac J Cancer P*, 2016,17(5):2719-2722
- 16 Zhao Z, Li X, Jian D, *et al.* Hsa_circ_0054633 in peripheral blood can be used as a diagnostic biomarker of pre-diabetes and type 2 diabetes mellitus[J]. *Acta Diabetol*, 2017,54(3):237-245
- 17 Shao Y, Li J, Lu R, *et al.* Global circular RNA expression profile of human gastric cancer and its clinical significance[J]. 2017,6(6):1173-1180
- 18 Park YM, Kim JH, Baik SJ, *et al.* Clinical risk assessment for gastric cancer in asymptomatic population after a health check-up: An individualized consideration of the risk factors[J]. *Medicine*, 2016,95(44):e5351
- 19 Farran B, Muller S, Montenegro RC. Gastric cancer management: Kinases as a target therapy[J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*,2017,44

(6):613-622

- 20 Chen W, Zheng R, Zhang S, *et al.* Cancer incidence and mortality in China, 2013[J]. *Cancer Lett*, 2017,401:63-71
- 21 Zhang Y, Li J, Yu J, *et al.* Circular RNAs signature predicts the early recurrence of stage III gastric cancer after radical surgery[J]. *Oncotarget*, 2017,8(14):22936-22943
- 22 Lee SY, Oh SC. Changing strategies for target therapy in gastric cancer[J]. *World J Gastroenterol*, 2016,22(3):1179-1189
- 23 Dang Y, Ouyang X, Zhang F, *et al.* Circular RNAs expression profiles in human gastric cancer[J]. *Sci Rep*, 2017,7(1):9060
- 24 Sui W, Shi Z, Xue W, *et al.* Circular RNA and gene expression profiles in gastric cancer based on microarray chip technology[J]. *Oncol Reports*, 2017,37(3):1804-1814

(收稿日期:2017-11-16)

(修回日期:2017-11-30)