

# CircRNA在鼻咽癌中的研究进展

张扬帆<sup>1</sup> 黄心怡<sup>2</sup> 陈传本<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>福建省天然免疫生物学重点实验室, 福建师范大学南方生物医学研究中心, 福州 350117;

<sup>2</sup>福建医科大学附属肿瘤医院, 福建省肿瘤医院放疗科, 福州 350014)

**摘要** 鼻咽癌作为头颈癌中的重要成员, 其地域分布极不平衡, 广泛分布于东非和亚洲, 在中国南方地区尤为常见。据国际癌症研究机构统计, 2018年全球鼻咽癌新发病例约12.9万例, 死亡病例约7.3万例。由于鼻咽癌早期诊断特异性不强, 多数鼻咽癌患者首诊时已处于癌症中晚期。因此研究鼻咽癌的发生发展机制是当务之急, 迫切需要寻找有效的诊断和预后的生物标志物, 为鼻咽癌的早期诊断与治疗提供新思路。随着全转录组测序技术的不断发展, 环状RNA逐渐成为肿瘤研究领域的热点。大部分环状RNA可竞争性结合miRNA, 调控下游靶基因的表达, 在癌症的进展中起到关键作用。环状RNA相对于线性RNA更为稳定, 使其具有成为鼻咽癌早期诊断和预后生物标志物的潜力。该文总结了鼻咽癌中环状RNA的研究现状, 探讨环状RNA对鼻咽癌增殖、转移和侵袭等的影响, 为鼻咽癌的诊断、靶向治疗和预后提供理论依据。

**关键词** 鼻咽癌; 环状RNA; 生物标志物; 早期诊断; 靶向治疗

## Research Progress of CircRNA in Nasopharyngeal Carcinoma

ZHANG Yangfan<sup>1</sup>, HUANG Xinyi<sup>2</sup>, CHEN Chuanben<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Fujian Key Laboratory of Innate Immune Biology, Biomedical Research Center of South China, Fujian Normal University, Fuzhou 350117, China; <sup>2</sup>Department of Radiation Oncology, Fujian Medical University Cancer Hospital, Fujian Cancer Hospital, Fuzhou 350014, China)

**Abstract** NPC (nasopharyngeal carcinoma), an important member of head and neck carcinoma with an unbalanced geographical distribution that is prevalent in East Africa and Asia, especially in South China. According to the IARC (International Agency for Research on Cancer), there were about 129 000 new cases and 73 000 deaths of NPC in 2018. Since the specificity of early diagnosis in patients is not obvious, most NPC patients were in advanced stages at the first diagnosis. Therefore, it is urgent to do in-depth research on the pathogenesis of NPC and find effective diagnostic and prognostic biomarkers, thus to provide better treatments. With the continuous development of full transcriptome sequencing technology, circRNAs have gradually become the focus of tumor research. Most circRNAs can bind miRNAs competitively, regulating the expression of downstream target genes, and play important roles in cancer development. Compared with linear RNAs, circRNAs are more stable, making them become possible biomarkers for the early diagnosis and prognosis of NPC. This paper summarized the research status of circRNAs in NPC, and discussed the influence of circRNAs on the phenotypes of NPC cells, such as proliferation, metastasis and invasion, as well as might provide theoretical basis for the diagnosis, targeted therapy and prognosis of NPC.

**Keywords** nasopharyngeal carcinoma; circRNA; biomarker; early diagnosis; targeted therapy

收稿日期: 2020-12-16 接收日期: 2021-03-03

福建师范大学校创新团队(批准号: IRTL1703)资助的课题

\*通讯作者。Tel: 0591-83928767, E-mail: chenchuanben2010@126.com

Received: December 16, 2020 Accepted: March 3, 2021

This work was supported by the Innovative Research Teams Program II of Fujian Normal University in China (Grant No.IRTL1703)

\*Corresponding author. Tel: +86-591-83928767, E-mail: chenchuanben2010@126.com

URL: <http://www.cjcb.org/arts.asp?id=5545>

鼻咽癌(nasopharyngeal carcinoma, NPC)是一种发生在鼻咽黏膜上皮的恶性肿瘤,常见于鼻咽顶部、侧壁和咽隐窝。在医学上将其划分为三种病理亚型:角化性鳞状细胞癌、非角化性癌和基底样鳞状细胞癌,其中非角化性癌占流行地区的大多数(>95%)<sup>[1]</sup>。据国际癌症研究机构(International Agency for Research on Cancer, IARC)统计,2018年鼻咽癌新发病例约12.9万例,占当年确诊癌症总数的0.7%,死亡病例约为7.3万例,占因癌症死亡总人数的0.8%<sup>[2]</sup>。鼻咽癌发病分布具有明显的区域性,主要分布在东非和亚洲地区,我国南部地区如广东、福建等为鼻咽癌高发区,每年发病率为3人/10万人<sup>[3]</sup>,其可能与Epstein-Barr病毒(EBV)感染、遗传易感性和环境因素有关<sup>[4]</sup>。鼻咽癌发病位置隐蔽,早期症状不明显,极易造成误诊或被患者忽视,许多癌症患者首诊时已进入中晚期<sup>[5]</sup>。尽管早期鼻咽癌采用单纯放疗其5年生存率可达90%以上<sup>[6]</sup>,但中晚期鼻咽癌患者的5年生存率仅68.9%~78.6%<sup>[7-8]</sup>。因此,研究鼻咽癌发生发展的分子机制,寻找合适的早期诊断和预后的生物标志物,制定有效的治疗方案迫在眉睫。随着全转录组测序及生物信息技术的迅猛发展,人们对于鼻咽癌的发生发展机制有了更深入的认识。大量的研究发现环状RNA(circular RNA, circRNA)可作为miRNA(mi-croRNA)的“分子海绵”,调控下游靶基因的表达,间接调控鼻咽癌的发生发展,具有成为新型生物标志物和治疗靶点的潜力。本文对环状RNA在鼻咽癌中的研究现状进行总结,旨在阐述环状RNA对鼻咽癌细胞的增殖、转移和侵袭等的影响,深入理解鼻咽癌的发生发展机制,为发现新的治疗靶点以及开发新的靶向药物提供理论依据。

## 1 CircRNA概述

1976年,SANGER等<sup>[9]</sup>首次在类病毒中发现了单链共价闭合环状的RNA分子。但当时人们一度认为circRNA只是错误剪接的产物,直到1993年,CAPEL等<sup>[10]</sup>发现小鼠Sry(sex-determining region Y)表达circRNA,并且可能在小鼠睾丸发挥特定功能,人们才逐渐意识到circRNA是许多真核生物蛋白质编码基因的共同产物。CircRNA是一种不具有5'末端帽子和3'末端polyA尾的共价闭合RNA分子。相较于线性RNA,circRNA不易被核糖核酸酶降解。大多数circRNA具有普遍性、稳定性和保守性,它们

通常在不同的组织和发育阶段特异表达,可作为诊断和预后的生物标志物或治疗靶标。

### 1.1 CircRNA的形成机制及生物学功能

CircRNA的形成机制主要有以下四种模型<sup>[11]</sup>(图1)。(1)套索驱动环化机制(lariat-driven circularization):在外显子剪切过程中形成,如外显子1的3'端的剪接供体与外显子4的5'端的剪接受体共价剪接,通过外显子跳跃形成套索并移除内含子成环;(2)内含子配对驱动环化机制(intron-pairing-driven circularization):通过内含子碱基配对形成,如内含子1和内含子3通过碱基配对形成环状结构;(3)内含子自结合环化机制(circular intronic RNA):内含子套索是由剪接反应产生的,5'剪接点附近的富GU序列(图1中黄框)和分支点附近的富C序列(图1中红框)结合,3'端的“尾巴”从分支点下游被修剪,以产生稳定的环状结构;(4)RNA结合蛋白或反式因子驱动的环化机制(RBP or trans-factor driven circularization):RNA结合蛋白或转移因子(图1中绿色)可以连接两个侧翼内含子,然后除去内含子成环。其多样的形成机制,导致其产生的circRNA的类型也多种多样,包括:外显子环状RNA(exonic circRNA, ecircRNA)、内含子环状RNA(circular intronic RNA, ciRNA)、外显子内含子环状RNA(exon-intron circRNA, EICIcRNA)和基因间环状RNA(intergenic circRNA)四种类型<sup>[12]</sup>。

### 1.2 CircRNA的生物学功能

CircRNA的生物学功能可分成五个方面<sup>[13]</sup>:

(1)作为miRNA的“分子海绵”,circRNA可竞争性地结合某些miRNA,保护下游靶mRNA不被miRNA降解,进而间接调控靶mRNA的表达;

(2)CircRNA能与某些靶蛋白相互作用,从而影响靶蛋白的功能;

(3)CircRNA可与mRNA形成双链稳定结构,从而调节mRNA的稳定性;

(4)CircRNA与小核糖核蛋白粒子(snRNP)结合,其复合物可进一步与RNA聚合酶(RNA polymerase)相互作用,调控基因转录;

(5)部分circRNA可翻译成蛋白质,行使宿主基因的部分功能或其他功能。

## 2 CircRNA与鼻咽癌

最新研究表明,circRNA与肿瘤、动脉粥样硬化、阿尔茨海默病等多种疾病的发生、发展有密切

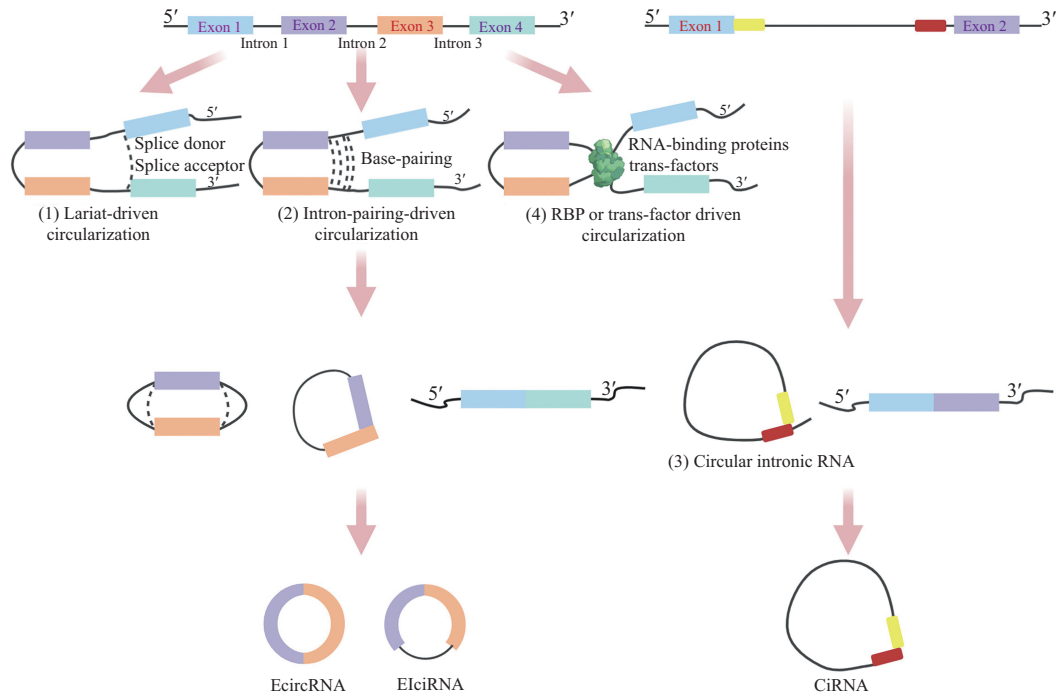


图1 CircRNA生物发生

Fig.1 The biogenesis of circRNA

关系<sup>[14-15]</sup>, 而它在鼻咽癌中的作用机制尚未完全阐明。下文将详细探讨circRNA对鼻咽癌细胞的增殖、转移和侵袭等的影响(表1)。

## 2.1 CircHIPK3

CircHIPK3源于HIPK3的2号外显子, 该外显子附近存在大量的长内含子互补重复元件, 是circHIPK3形成的关键。CircHIPK3参与了多种癌症进展的调控, 包括肺癌、胃癌与结肠癌等。SHUAI等<sup>[16]</sup>揭示了鼻咽癌中circHIPK3的表达水平与肿瘤大小、分化程度、淋巴结转移、远处转移和肿瘤-淋巴结转移分期等显著相关。KE等<sup>[17]</sup>发现, circHIPK3在鼻咽癌细胞系和组织中高表达, 且细胞实验表明circHIPK3的沉默抑制了鼻咽癌细胞的增殖、迁移和侵袭。CircHIPK3可作为调控miR-4288的内源性竞争RNA(competing endogenous RNAs, ceRNA), 保护ELF3(E74 like ETS transcription factor 3)免受miR-4288的沉默, 而间接促进鼻咽癌的恶性发展。

## 2.2 CircRNA\_000543

CHEN等<sup>[18]</sup>发现, 抗放射和放射敏感的鼻咽癌组织与邻近正常组织相比, circRNA\_000543的表达升高, 且耐放射的鼻咽癌组织中circRNA\_000543的表达高于放射敏感的鼻咽癌组织。作者利用miRNA文库进行荧光素酶筛选, 进一步表明cir-

cRNA\_000543为miR-9的“分子海绵”, 通过抑制miR-9促进了鼻咽癌细胞的增殖和侵袭能力。生物信息学分析发现, *PDGFRB*(platelet derived growth factor receptor beta)为miR-9的靶基因, 且敲除*PDGFRB*可逆转miR-9抑制剂介导的放射抗性, 表明circRNA\_000543可通过靶向miR-9/*PDGFRB*信号进而减弱鼻咽癌细胞对放射的敏感性。此外, circRNA\_000543在肺腺癌中的高表达与肿瘤大小、区域淋巴结状况和分化程度相关, 是细胞增殖和迁移的正调控因子, 并且也是凋亡的负调控因子<sup>[16]</sup>。

## 2.3 CircMAN1A2

FAN等<sup>[19]</sup>在大量临床样本中发现, 鼻咽癌患者血清中circMAN1A2的表达水平明显高于正常对照组。同时, circMAN1A2在口腔癌、甲状腺癌和卵巢癌患者血清中也显著高表达。受试者工作特征曲线(receiver operating characteristic curve, ROC)分析显示, circMAN1A在鼻咽癌、口腔癌、甲状腺癌和卵巢癌患的ROC曲线下方的面积大小(area under curve, AUC)分别为0.911、0.779、0.734和0.694, 表明circMAN1A2可能作为这些癌症的有效诊断生物标志物。此外, circMAN1A2能通过海绵机制吸附miR-1236-3p, 间接调控靶基因*MTA2*(metastasis associated 1 family member 2)表达, 促进胃癌细胞的增

表1 已发表的与NPC相关的circRNA  
Table 1 Published circRNA related to NPC

环状RNA CircRNA	宿主基因 Host genes	miRNA“海绵” miRNA “sponges”	靶向蛋白或通路 Targeted proteins or pathways	表达水平 Expression levels	参考文献 References
CircHIPK3/BCRC-3	<i>HIPK3</i>	miR-4288	ELF3	Up	[16-17]
CircRNA_000543	<i>TCONS_12_00004572</i>	miR-9	PDFGRB	Up	[18]
CircMAN1A2	<i>MAN1A2</i>	-	-	Up	[19]
Circ_0008450	<i>CMTM3</i>	miR-577	CXCL9	Up	[22]
CircRNA CDR1as	<i>CDR1</i>	miR-7-5p	E2F3	Up	[29]
Has_circ_0028007	<i>NUAK1</i>	-	-	Up	[33]
CircCRIM1/Hsa_Circ_0002346	<i>CRIM1</i>	miR-422a	FOXQ1	Up	[34]
CircCTDP1	<i>CTDP1</i>	miR-320b	HOXA10	Up	[38]
CircRNA ZNF609	<i>ZNF609</i>	miRNA-150-5p, miR-188	SP1, ELF2	Up	[40-41]
CircSERPINA3	<i>SERPINA3</i>	miR-944	MDM2	Up	[42]
Hsa_circRNA_001387	<i>WHSC1</i>	-	-	Up	[45]
Hsa_circ_0066755	<i>CIP2A</i>	miR-651	-	Up	[47]
Hsa_circ_0002375	<i>KITLG</i>	-	-	Up	[49]
CircRPMS1	<i>RPMS1</i>	-	-	Up	[50]
Hsa_circRNA_006660	-	miR-1276	EGFR	Up	[51]
CircCALN1	<i>CALN1</i>	miR-143-3p	BCL2	Up	[52]
CircRNA-ITCH	<i>ITCH</i>	-	TET1, Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway	Down	[53]
CircRNA BCRC-3	<i>BCRC-3</i>	-	DKNIB, PI3K/Akt signaling pathway	Down	[54]
CircFIP1L1	<i>FIP1L1</i>	miR-1253	SNF, p53 signaling pathway	Up	[55]

殖、迁移及侵袭,在胃癌发生发展中起到至关重要的调节作用<sup>[20]</sup>。

#### 2.4 Circ\_0008450

Circ\_0008450首次于肝细胞癌组织中被发现<sup>[21]</sup>,来源于CMTM3。研究表明, circ\_000845在肝癌组织标本和肝癌细胞系中表达上调,高表达患者的5年生存率较低。Circ\_000845在肝细胞癌组织中可能促进了细胞增殖、迁移和侵袭,并可抑制细胞凋亡。WEI等<sup>[22]</sup>分析了70对鼻咽癌及癌旁正常组织,发现鼻咽癌组织中circ\_000845的表达水平较正常组织升高了3.09倍。通过RNAinter和Starbase V2.0数据库分析并结合荧光素酶报告基因检测证明鼻咽癌组织中circ\_000845和miR-577的表达呈负相关。miR-577与结肠癌、乳腺癌和宫颈癌等众多癌症相关。进一步研究发现, circ\_000845结合miR-577,减少miR-577对CXCL9(C-X-C motif chemokine ligand 9)的抑制,促进了鼻咽癌的进展<sup>[22]</sup>。CXCL9又称MIG,是趋化因子 $\gamma$ 亚家族的成员。CXCL9主要由淋巴细胞、单核/巨噬细胞和成纤维细胞产生,与多种恶性肿瘤的发

生发展密切相关。

#### 2.5 CircRNA CDR1as

CircRNA CDR1as被认为是一种细胞过程的调节因子,含70多个miR-7的结合位点<sup>[23-24]</sup>,因此,CDR1as也被称为CIRS-7。根据ceRNA假说,CDR1as作为miR-7的负调控因子,影响多个关键基因的表达<sup>[25-26]</sup>。由于miR-7已被广泛研究并被确定为多种癌症的肿瘤抑制因子,CDR1as迅速成为癌症研究的热点<sup>[27]</sup>。ZOU等<sup>[28]</sup>对CDR1as进行了生物信息学分析,其中功能富集分析表明,CDR1as与血管生成、细胞外基质(extracellular matrix, ECM)组织、整合素结合和胶原结合相关;通路分析表明,其可能调节转化生长因子- $\beta$ 信号通路和细胞外基质-受体的相互作用。CDR1as可能在肿瘤组织的免疫和间质细胞浸润中发挥特殊作用,尤其是在CD8<sup>+</sup> T细胞、活化的NK细胞、M2巨噬细胞、肿瘤相关成纤维细胞和内皮细胞中。ZHONG等<sup>[29]</sup>首次发现,CDR1as在鼻咽癌组织和细胞系中的高表达可能与鼻咽癌患者的预后不良有关,进一步探讨CDR1as在鼻咽癌中的分子

机制, 预测并验证了CDR1as通过结合miR-7-5p上调E2F3(E2F transcription factor 3)的表达促进鼻咽癌细胞的生长和糖代谢。动物实验也证实了上述结论, 表明CircRNA CDR1as是治疗鼻咽癌的潜在靶点。

## 2.6 Hsa\_circ\_0028007

Hsa\_circ\_0028007来源于NUAK1(NUAK family kinase 1)。NUAK1在被LKB1或Akt激酶磷酸化后才能发挥其生物学功能<sup>[30-31]</sup>, 与鼻咽癌的恶化密切相关<sup>[32]</sup>。几十年来, 以NUAK1为中心的信号先后被证实参与细胞生长、细胞凋亡和血管生成等生物过程, 这些信号与肿瘤的发生密切相关。其中, 一般认为, NUA1通过IGF-1/Akt依赖的方式增强肿瘤的侵袭性<sup>[30]</sup>。DONG等<sup>[33]</sup>观察到, 沉默hsa\_circ\_0028007可提高低分化鼻咽癌细胞系对紫杉醇和顺铂的敏感性, 表明靶向hsa\_circ\_0028007可能提高鼻咽癌的治疗疗效。

## 2.7 CircCRIM1

Hsa\_circ\_0002346是第一个被报道的由CRIM1产生的circRNA的异构体, 又称circCRIM1。HONG等<sup>[34]</sup>临床数据表明在鼻咽癌组织中, circCRIM1表达上调。在有远处转移的鼻咽癌患者中, circCRIM1的表达极为显著, 其过表达促进了鼻咽癌细胞的转移和上皮-间充质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)。同时实验证明, circCRIM1能与miR-422a竞争性结合, 阻断miR-422a对靶基因FOXQ1(forkhead box Q1)的抑制作用, 最终导致鼻咽癌转移、EMT和对多西紫杉醇耐药。新的证据也表明, miR-422a和FOXQ1两者在结肠癌、乳腺癌、胃癌等癌症中起着关键性作用。与鼻咽癌相反, WANG等<sup>[35]</sup>通过定量PCR验证了在40例经病理诊断的肺腺癌(lung adenocarcinoma, LUAC)标本中, 与其周围正常肺组织相比, circCRIM1下调了约6.47倍。体外实验表明, circCRIM1通过与miR-182和miR-93相互作用, 抑制LUAC细胞的侵袭和转移。ZHANG等<sup>[36]</sup>研究表明, circCRIM1作为miR-125b-5p的海绵, 促进BTG2的表达。在LUAC组织和细胞中, circCRIM1上调可抑制LUAC细胞迁移、侵袭、EMT、糖酵解和肿瘤生长。

## 2.8 CircCTDP1

CircCTDP1的宿主基因为CTDP1, 该基因编码蛋白质与转录起始因子TFIIIF的RAP74亚基的羧基末端相互作用, 抑制POLR2A的C末端去磷酸

化, 促进CircCTDP1表达。HUANG等<sup>[37]</sup>研究表明, circCTDP1通过竞争miR-29a-3p来调控DNMT3B(DNA methyltransferase 3 beta)、HAS3(hyaluronan synthase 3)、VEGFA(vascular endothelial growth factor A)和ITGB1(integrin subunit beta 1)的表达, 从而导致膀胱癌的生长和转移。LI等<sup>[38]</sup>实验证明, circCTDP1敲除细胞的增殖、迁移和侵袭受到抑制, 且促进了细胞凋亡。进一步的研究表明, circCTDP1通过竞争miR-320b靶向调节HOXA10(homeobox A10)的表达, 进而通过HOXA10调控了TGFβ2(transforming growth factor beta 2)的表达, 影响了鼻咽癌的进展。

## 2.9 CircRNA ZNF609

CircZNF609在小鼠和人类基因组中高度保守, 宿主基因是锌指蛋白家族的ZNF609。与大部分circRNA相比, CircZNF609包含一个开放阅读框, 从起始密码子开始, 终止于环化时产生的框内终止密码子。CircZNF609与重多聚体相关, 它以剪接依赖和帽不依赖的方式翻译蛋白质, 为真核生物中蛋白质编码的circRNA提供了一个例子<sup>[39]</sup>, 也为circRNA的作用机制提供了新的理解。ZHU等<sup>[40]</sup>研究发现, 敲除circZNF609显著抑制了鼻咽癌细胞的增殖、迁移和侵袭行为, 蛋白质印迹结果显示circZNF609可以稳定SP1的表达, 而miRNA-150-5p则降低SP1的表达。SP1的敲除逆转了circZNF609在鼻咽癌细胞中的致癌作用。LI等<sup>[41]</sup>在临床样本检测中发现在鼻咽癌中, CircZNF609和ELF2(E74 like ETS transcription factor 2)水平升高, miR-188水平降低, circZNF609可介导miR-188水平来调节ELF2表达。CircZNF609的敲除抑制了鼻咽癌细胞的增殖和周期转变, 并加速细胞凋亡。

## 2.10 CircSERPINA3

CircSERPINA3来源于SERPINA3, 该基因编码的蛋白质是血浆蛋白酶抑制剂, 是丝氨酸蛋白酶抑制蛋白成员。LIU等<sup>[42]</sup>发现circSERPINA3在鼻咽癌中显著上调, 并证明了其与晚期临床特征的相关性, 而circSERPINA3通过靶向miR-944/MDM2(MDM2 proto-oncogene)促进了鼻咽癌的发展。众证据表明, miR-944在肿瘤的进展中发挥重要作用<sup>[42-44]</sup>。LÜ等<sup>[43]</sup>发现, miR-944能够通过使PI3K/Akt失活和调节IGF-1R(insulin like growth factor 1 receptor)来抑制肝细胞癌的进展。PAN等<sup>[44]</sup>证明, miR-944作用于MACC1/Met/Akt, 通过抑制EMT, 阻止胃癌转移。同时, MDM2是p53最

关键的负调控因子,MDM2与p53结合并泛素化p53以进行蛋白酶体降解。

### 2.11 Hsa\_circRNA\_001387

Hsa\_circRNA\_001387由*WHSC1*外显子反向剪接衍生而来,又被称为circWHSC1。SHUAI等<sup>[45]</sup>大量临床样本研究发现,hsa\_circRNA\_001387在鼻咽癌手术患者肿瘤组织、鼻咽癌放疗患者外周血标本和鼻咽癌细胞系中的表达均显著增加。在高分化肿瘤、淋巴结转移和远处转移、临床III~IV期、EB病毒阳性或有鼻咽癌家族史的患者中,hsa\_circRNA\_001387的表达也显著升高,高表达患者的总生存期和无进展生存期较短。单因素和多因素分析表明,hsa\_circRNA\_001387是影响鼻咽癌患者预后的独立因素。此外,ZONG等<sup>[46]</sup>发现,hsa\_circRNA\_001387在卵巢癌中高表达,能够吸附miR-145和miR-1182,从而上调*MUC1*(mucin 1, cell surface associated)和*hTERT*(human telomerase reverse transcriptase)的表达。更重要的是,hsa\_circRNA\_001387能够形成外泌体(exosome),以外泌体的形式被腹膜间皮细胞吸收,促进EMT,从而触发肿瘤在腹腔内的分布,促进卵巢上皮癌的发展。

### 2.12 Hsa\_circ\_0066755

Hsa\_circ\_0066755由*CIP2A*的编码外显子产生,拼接长度为345 nt。*CIP2A*编码一种致癌蛋白,在人类恶性肿瘤中抑制PP2A和稳定MYC,促进了细胞增殖和肿瘤形成。WANG等<sup>[47]</sup>首次发现,鼻咽癌患者血浆和组织中的hsa\_circ\_0066755显著增加,其水平与临床分期呈正相关。ROC分析显示,组织和血浆的AUC分别为0.853 7和0.904 4,可用于区分鼻咽癌和非癌对照。关于组织和血浆hsa\_circ\_0066755的测试显示了与磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)相当的诊断准确性。Hsa\_circ\_0066755通过结合miR-651促进CNE-1鼻咽癌细胞的增殖、侵袭和迁移,显著增强CNE-1细胞在小鼠体内致瘤的能力。

### 2.13 Hsa\_circ\_0002375

Hsa\_circ\_0002375由*KITLG*剪接形成。*KITLG*是酪氨酸激酶受体的配体,能够抑制结直肠癌细胞生长和侵袭<sup>[48]</sup>。YANG等<sup>[49]</sup>通过高通量深度测序分析发现,共有170个circRNA显著差异表达,GO和KEGG分析表明,差异表达基因可能与肿瘤信号通路和免疫信号通路有关。其中,hsa\_circ\_0002375在

qRT-PCR验证中上调倍数最高,且体外实验表明,敲除hsa\_circ\_0002375可抑制鼻咽癌细胞的增殖、迁移和侵袭。

### 2.14 CircRPMS1

CircRPMS1由EBV的*RPSM1*编码,定位于细胞质和细胞核中。在EBV阳性的癌症中,circRPMS1是一种病毒致癌基因。通过特定的RNA-RNA相互作用调节基因转录。LIU等<sup>[50]</sup>通过文库筛选并证实了circRPMS1直接靶向miR-203、miR-31和miR-451。抑制miR-203、miR-31和miR-451可逆转circRPMS1敲除对鼻咽癌细胞的影响。这些miRNA已被证明在包括鼻咽癌在内的多种癌症中是肿瘤抑制因子,同时在食管鳞状细胞癌、肝癌和肺癌中充当EMT抑制剂。这些发现表明,circRPMS1有可能作为潜在的治疗靶标。

### 2.15 Hsa\_circRNA\_006660

QIN等<sup>[51]</sup>研究表明,鼻咽癌细胞系CNE-2经放射后促进了hsa\_circRNA\_006660的表达,导致细胞对放射敏感性降低。姜黄素因其抗氧化和抗癌作用而作为一种放射增敏剂。作者进一步研究发现,姜黄素能抑制经放射后CNE-2细胞中hsa\_circRNA\_006660的表达,调节hsa\_circRNA\_006660/miR-1276/EGFR相互作用网络,从而提高CNE-2的放射敏感性。

### 2.16 CircCALN1

CircCALN1来源于*CALN1*(calneuron 1),定位于chr7:71,571,135-71,571,279。江浩等<sup>[52]</sup>研究表明,circCALN1和BCL2(BCL2 apoptosis regulator)在临床样本和鼻咽癌细胞系中显著表达,且miR-143-3p低表达。生物信息学预测表明,circCALN1/miR-143-3p/BCL2三者组成了调控通路。实验表明,circCALN1通过竞争miR-143-3p靶向调节BCL2的表达,进而影响了鼻咽癌细胞的增殖和侵袭。其中,BCL2蛋白家族通过控制线粒体膜通透性来调节细胞凋亡,其功能直接或间接地影响着肿瘤细胞发生发展,与人类多种肿瘤发生发展密切相关。

### 2.17 CircRNA-ITCH

CircRNA-ITCH是一种强大的肿瘤抑制因子,在结直肠癌、食管鳞状细胞癌和肺癌等肿瘤中表达显著降低,通过阻断下游的Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路,从而阻止肿瘤进展。常昆鹏等<sup>[53]</sup>实验证明,circRNA-ITCH在鼻咽癌组织及细胞系中表达显著

降低, 过表达circRNA-ITCH可明显抑制鼻咽癌CNE-2Z细胞的增殖和侵袭能力, 其分子机制可能是促进TET1的表达, 抑制Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路的活化。

### 2.18 CircRNA BCRC-3

侯彬等<sup>[54]</sup>观察到, circRNA BCRC-3在鼻咽癌组织和细胞株中低表达, 且抑制鼻咽癌细胞的增殖和迁移能力。过表达BCRC-3后, Western blot结果显示, PI3K/Akt信号通路蛋白如PIP3、PDK1、p-Akt和AS160表达显著降低, 表明PI3K/Akt信号通路转导可能被抑制; DKNIB蛋白表达提高, 其表达可抑制肿瘤细胞的生长和转移, 是一种潜在的肿瘤抑制因子。

### 2.19 CircFIP1L1

目前, circFIP1L1在癌症中鲜有报道。姜涛等<sup>[55]</sup>通过高通量测序分析获得鼻咽癌患者放疗前后血清中的差异circRNA表达谱, 其中circFIP1L1在鼻咽癌患者放疗后血清中显著上调。进一步研究表明, circFIP1L1可能发挥ceRNA的作用, 海绵吸附miR-1253调控SFN(stratifin)的表达。SFN所编码的14-3-3 $\sigma$ 蛋白是一个肿瘤抑制基因蛋白, 能被p53转录激活, 可与p53相互作用, 增加p53的生物活性, 而p53能参与细胞的放射反应过程, 增加细胞的放疗敏感性<sup>[56]</sup>, 使鼻咽癌5-8F细胞周期阻滞在G<sub>2</sub>/M期。

## 3 讨论

随着RNA测序和生物信息学的广泛应用, 环状RNA受到越来越多的关注。它们的结构和功能也越来越为人所知。环状RNA在肿瘤发生中的作用已成为肿瘤学研究的热点。环状RNA被认为是一种新的诊断和预测预后的生物标志物和潜在的治疗靶点。本文综述了circRNA在鼻咽癌细胞中的增殖、侵袭和转移等机制, 为circRNA在鼻咽癌的诊断、治疗和预后中的潜在临床应用提供了理论依据。然而, 许多问题亟待解决。大多数circRNA仅在分子水平上被检测, 尚未在大规模临床试验中被验证和评估; 尚无针对circRNA开发的药物; 部分circRNA并非鼻咽癌所特有的, 它们在癌症中是否起到了相关的作用呢? 因此, circRNA在鼻咽癌中的作用还需要大量实验和临床数据来证明, 这个难题也需要更多的时间和精力去攻克。

鼻咽癌研究的下一个十年将集中在探索其发病的生物学机制, 完善筛查和分期策略, 识别与预后风

险分层相关的生物标记物, 针对不同的患者亚群提供个性化治疗策略, 以及开发新的治疗方法。相信随着新技术的应用和科研人员的不断探索, 更多的circRNA也将被发现并应用于鼻咽癌的诊断和治疗。

### 参考文献 (References)

- [1] CHEN Y P, CHAN A T, LE Q T, et al. Nasopharyngeal carcinoma [J]. *Lancet*, 2019, 394(10192): 64-80.
- [2] BRAY F, FERLAY J, SOERJOMATARAM I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. *CA Cancer J Clin*, 2018, 68(6): 394-424.
- [3] TORRE L A, BRAY F, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics, 2012 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2015, 65(2): 87-108.
- [4] FENG R M, ZONG Y N, CAO S M, et al. Current cancer situation in China: good or bad news from the 2018 Global Cancer Statistics [J]? *Cancer Commun*, 2019, 39(1): 1-12.
- [5] PETERSSON F. Nasopharyngeal carcinoma: a review [J]. *Semin Diagn Pathol*, 2015, 32(1): 54-73.
- [6] SU S F, HAN F, ZHAO C, et al. Long-term outcomes of early-stage nasopharyngeal carcinoma patients treated with intensity-modulated radiotherapy alone [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2012, 82(1): 327-33.
- [7] ZHANG M X, LI J, SHEN G P, et al. Intensity-modulated radiotherapy prolongs the survival of patients with nasopharyngeal carcinoma compared with conventional two-dimensional radiotherapy: a 10-year experience with a large cohort and long follow-up [J]. *Eur J Cancer*, 2015, 51(17): 2587-95.
- [8] CHEN L, MAO Y P, XIE F Y, et al. The seventh edition of the UICC/AJCC staging system for nasopharyngeal carcinoma is prognostically useful for patients treated with intensity-modulated radiotherapy from an endemic area in China [J]. *Radiation Oncol*, 2012, 104(3): 331-7.
- [9] 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 [J]. *Proc Natl Acad Sci*, 1976, 73(11): 3852-6.
- [10] CAPEL B, SWAIN A, NICOLIS S, et al. Circular transcripts of the testis-determining gene Sry in adult mouse testis [J]. *Cell*, 1993, 73(5): 1019-30.
- [11] QU S, YANG X, LI X, et al. Circular RNA: a new star of non-coding RNAs [J]. *Cancer Lett*, 2015, 365(2): 141-8.
- [12] FENG J, XIANG Y, XIA S, et al. CircView: a visualization and exploration tool for circular RNAs [J]. *Brief Bioinform*, 2019, 20(3): 745-51.
- [13] MENG S, ZHOU H, FENG Z, et al. CircRNA: functions and properties of a novel potential biomarker for cancer [J]. *Mol Cancer*, 2017, 16(1): 1-8.
- [14] LI P F, CHEN S C, CHEN H L, et al. Using circular RNA as a novel type of biomarker in the screening of gastric cancer [J]. *Clinica Chimica Acta*, 2015, 444(1): 132-6.
- [15] ZHAO Y, ALEXANDROV P N, JABER V, et al. Deficiency in the ubiquitin conjugating enzyme UBE2A in Alzheimer's disease (AD) is linked to deficits in a natural circular miRNA-7 sponge (circRNA;ciRS-7) [J]. *Genes (Basel)*, 2016, 7(12): 116.

- [16] SHUAI M, HONG J, HUANG D, et al. Upregulation of circRNA\_0000285 serves as a prognostic biomarker for nasopharyngeal carcinoma and is involved in radiosensitivity [J]. *Oncol Lett*, 2018, 16(5): 6495-501.
- [17] KE Z, XIE F, ZHENG C, et al. CircHIPK3 promotes proliferation and invasion in nasopharyngeal carcinoma by abrogating miR-4288-induced ELF3 inhibition [J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(2): 1699-706.
- [18] CHEN L, ZHOU H, GUAN Z. CircRNA\_000543 knockdown sensitizes nasopharyngeal carcinoma to irradiation by targeting miR-9/platelet-derived growth factor receptor B axis [J]. *Biochem Biophys Res Comm*, 2019, 512(4): 786-92.
- [19] FAN C M, WANG J P, TANG Y Y, et al. circMAN1A2 may serve as a novel serum biomarker for malignant tumors [J]. *Cancer Sci*, 2019, 110(7): 2180.
- [20] 郭瑞婷. CircMAN1A2在幽门螺杆菌介导的胃癌发生中的作用及机制研究[D]. 济南: 山东大学(GUO R T. The role of CircMAN1A2 in promoting the progression of gastric cancer induced by helicobacter pylori [D]. Jinan: Shandong University), 2019.
- [21] CAI H, HU B, JI L, et al. Hsa\_circ\_0103809 promotes cell proliferation and inhibits apoptosis in hepatocellular carcinoma by targeting miR-490-5p/SOX2 signaling pathway [J]. *Am J Transl Res*, 2018, 10(6): 1690-702.
- [22] WEI H, LIU D, SUN J, et al. Circular RNA circ\_0008450 up-regulates CXCL9 expression by targeting miR-577 to regulate cell proliferation and invasion in nasopharyngeal carcinoma [J]. *Exper Mol Pathol*, 2019, 110(1): 104288.
- [23] HANSEN T B, JENSEN T I, CLAUSEN B H, et al. Natural RNA circles function as efficient microRNA sponges [J]. *Nature*, 2013, 495(7441): 384-8.
- [24] MEMCZAK S, JENS M, ELEFSINIOTI A, et al. Circular RNAs are a large class of animal RNAs with regulatory potency [J]. *Nature*, 2013, 495(7441): 333-8.
- [25] SALMENA L, POLISENO L, TAY Y, et al. A ceRNA hypothesis: the Rosetta Stone of a hidden RNA language [J]? *Cell*, 2011, 146(3): 353-8.
- [26] TAY Y, RINN J, PANDOLFI P P. The multilayered complexity of ceRNA crosstalk and competition [J]. *Nature*, 2014, 505(7483): 344-52.
- [27] HANSEN T B, KJEMS J, DAMGAARD C K. Circular RNA and miR-7 in cancer [J]. *Cancer Res*, 2013, 73(18): 5609-12.
- [28] ZOU Y, ZHENG S, DENG X, et al. The role of circular RNA CDR1as/ciRS-7 in regulating tumor microenvironment: a pan-cancer analysis [J]. *Biomolecules*, 2019, 9(9): 429.
- [29] ZHONG Q, HUANG J, WEI J, et al. Circular RNA CDR1as sponges miR-7-5p to enhance E2F3 stability and promote the growth of nasopharyngeal carcinoma [J]. *Cancer Cell Inter*, 2019, 19(1): 1-13.
- [30] SUZUKI A, LU J, KUSAKAI G, et al. ARK5 is a tumor invasion-associated factor downstream of Akt signaling [J]. *Mol Cell Biol*, 2004, 24(8): 3526-35.
- [31] BANERJEE S, ZAGORSKA A, DEAK M, et al. Interplay between Polo kinase, LKB1-activated NUA1 kinase, PP1beta-MYPT1 phosphatase complex and the SCFbetaTrCP E3 ubiquitin ligase [J]. *Biochem J*, 2014, 461(2): 233-45.
- [32] LAN X, LIU X. LncRNA SNHG1 functions as a ceRNA to antagonize the effect of miR-145a-5p on the down-regulation of NUA1 in nasopharyngeal carcinoma cell [J]. *J Cell Mol Med*, 2019, 23(4): 2351-61.
- [33] DONG Q, ZHANG J, HAO Y, et al. Implication of hsa\_circ\_0028007 in reinforcing migration, invasion, and chemotolerance of nasopharyngeal carcinoma cells [J]. *J Clin Lab Anal*, 2020, 34(9): e23409.
- [34] HONG X, LIU N, LIANG Y, et al. Circular RNA CRIM1 functions as a ceRNA to promote nasopharyngeal carcinoma metastasis and docetaxel chemoresistance through upregulating FOXQ1 [J]. *Mol Cancer*, 2020, 19(1): 1-16.
- [35] WANG L, LIANG Y, MAO Q, et al. Circular RNA circCRIM1 inhibits invasion and metastasis in lung adenocarcinoma through the microRNA (miR)-182/miR-93-leukemia inhibitory factor receptor pathway [J]. *Cancer Sci*, 2019, 110(9): 2960-72.
- [36] ZHANG S, MA J, WU J, et al. Circular RNA circCRIM1 suppresses lung adenocarcinoma cell migration, invasion, EMT, and glycolysis through regulating miR-125b-5p/BTG2 axis [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2020, 24(7): 3761-74.
- [37] HUANG M, ZHONG Z, LÜ M, et al. Comprehensive analysis of differentially expressed profiles of lncRNAs and circRNAs with associated co-expression and ceRNA networks in bladder carcinoma [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(30): 47186-200.
- [38] LI H, YOU J, XUE H, et al. CircCTDP1 promotes nasopharyngeal carcinoma progression via a microRNA320b/HOXA10/TGFbeta2 pathway [J]. *Int J Mol Med*, 2020, 45(3): 836-46.
- [39] LEGNINI I, DI TIMOTEO G, ROSSI F, et al. Circ-ZNF609 is a circular RNA that can be translated and functions in myogenesis [J]. *Mol Cell*, 2017, 66(1): 22-37,e9.
- [40] ZHU L, LIU Y, YANG Y, et al. CircRNA ZNF609 promotes growth and metastasis of nasopharyngeal carcinoma by competing with microRNA-150-5p [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23(7): 2817-26.
- [41] LI M, LI Y, YU M. CircRNA ZNF609 knockdown suppresses cell growth via modulating miR-188/ELF2 axis in nasopharyngeal carcinoma [J]. *Onco Targets Ther*, 2020, 13: 2399.
- [42] LIU R, ZHOU M, ZHANG P, et al. Cell proliferation and invasion is promoted by circSERPINA3 in nasopharyngeal carcinoma by regulating miR-944/MDM2 axis [J]. *J Cancer*, 2020, 11(13): 3910-8.
- [43] LÜ L, WANG X, MA T. microRNA-944 inhibits the malignancy of hepatocellular carcinoma by directly targeting IGF-1R and deactivating the PI3K/Akt signaling pathway [J]. *Cancer Manag Res*, 2019, 11(1): 2531.
- [44] PAN T, CHEN W, YUAN X, et al. miR-944 inhibits metastasis of gastric cancer by preventing the epithelial-mesenchymal transition via MACC1/Met/AKT signaling [J]. *FEBS Open Bio*, 2017, 7(7): 905-14.
- [45] SHUAI M, HUANG L. High Expression of hsa\_circRNA\_001387 in nasopharyngeal carcinoma and the effect on efficacy of radiotherapy [J]. *Onco Targets Ther*, 2020, 13: 3965-73.
- [46] ZONG Z H, DU Y P, GUAN X, et al. CircWHSC1 promotes ovarian cancer progression by regulating MUC1 and hTERT through sponging miR-145 and miR-1182 [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2019, 38(1): 437.
- [47] WANG J, KONG J, NIE Z, et al. Circular RNA Hsa\_circ\_0066755 as an oncogene via sponging miR-651 and as a promising diagnostic biomarker for nasopharyngeal carcinoma



- [J]. *Int J Med Sci*, 2020, 17(11): 1499.
- [48] YANG S, LI W S, DONG F, et al. KITLG is a novel target of miR-34c that is associated with the inhibition of growth and invasion in colorectal cancer cells [J]. *J Cell Mol Med*, 2014, 18(10): 2092-102.
- [49] YANG J, GONG Y, JIANG Q, et al. Circular RNA expression profiles in nasopharyngeal carcinoma by sequence analysis [J]. *Front Oncol*, 2020, 10(1): 601.
- [50] LIU Q, SHUAI M, XIA Y. Knockdown of EBV-encoded circRNA circRPMS1 suppresses nasopharyngeal carcinoma cell proliferation and metastasis through sponging multiple miRNAs [J]. *Cancer Manag Re*, 2019, 11(1): 8023.
- [51] YANG J, ZHU D, LIU S, et al. Curcumin enhances radiosensitization of nasopharyngeal carcinoma by regulating circRNA network [J]. *Mol Carcinog*, 2020, 59(2): 202-14.
- [52] 江浩, 廖金龙, 陈舒华, 等. circCALN1/miR-143-3p/BCL-2调控轴影响鼻咽癌细胞增殖与侵袭的分子机制研究[J]. *中国细胞生物学学报*(JIANG H, LIAO J L, CHEN S H, et al. Study on the molecular mechanism of the influence of circCALN1/miR-143-3p/BCL-2 regulatory axis on the proliferation and invasion of nasopharyngeal carcinoma cells [J]. *Chinese Journal of Cell Biology*), 2020, 42(10): 1782-90.
- [53] 常昆鹏, 魏珍星, 李斐, 等. circRNA-ITCH通过TET1基因抑制Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路对鼻咽癌细胞增殖和侵袭的影响[J]. *医学研究杂志*(CHANG K P, WEI Z X, LI F, et al. CircRNA-ITCH affects proliferation and invasion of nasopharyngeal carcinoma cells by Inhibiting Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway through TET1 gene [J]. *Journal of Medical Research*), 2020, 49(7): 156-60.
- [54] 侯彬, 黄维平, 尹中普, 等. 环状RNA BCRC-3对鼻咽癌细胞增殖和迁移的影响研究[J]. *中国耳鼻咽喉头颈外科*(HOU B, HUANG W P, YIN Z P, et al. Effect of circular RNABCRC-3 on the proliferation and migration of nasopharyngeal carcinoma cells [J]. *Chinese Archives of Otolaryngology-Head and Neck Surgery*), 2020, 27(11): 623-7.
- [55] 姜涛. circFIP1L1海绵吸附miR-1253调控SFN影响鼻咽癌放疗敏感性[D]. 衡阳: 南华大学(JIANG T. CircFIP1L1 sponge adsorption miR-1253 regulates SFN affects radiosensitivity of nasopharyngeal carcinoma [D], Hengyang: University of South China), 2019.
- [56] GUDKOV A V, KOMAROVA E A. The role of p53 in determining sensitivity to radiotherapy [J]. *Nat Rev Cancer*, 2003, 3(2): 117-29.