

circRNA 在甲状腺癌中的研究进展

circRNA Progress in thyroid cancer

鲁桂艳¹ 刘阁玲²

Lu Guiyan, 1, Liu Geling, 2

(1.华北理工大学 ; 2.唐山市工人医院内分泌一科 河北唐山 063000)

(1. Department of Endocrinology, Tangshan Workers' Hospital, Tangshan, Hebei 063000)

摘要: 甲状腺癌(thyroid cancer, TC)是一种起源于甲状腺滤泡上皮或滤泡旁上皮细胞的恶性肿瘤, 它的生存率明显高于其他类型的癌症, 这主要取决于 TC 的具体类型和分期。近年来, TC 在全球范围内的发病率逐年上升。但迄今为止, 其发病机制仍不清楚。环状 RNA (circular RNA, circRNA) 是一类新型的长链非编码 RNA (long non-coding RNA, lncRNA), 具有闭环结构, 在 TC 中可以调控基因的表达。此外, circRNA 的生物学功能还包括充当 miRNA 海绵、与蛋白质相互作用以及作为翻译模板。基于以上特征, 它被认为是多种疾病的功能性生物标志物和治疗靶点。在这篇综述中, 我们总结了 circRNA 的生物学功能, 并讨论了它在 TC 中潜在临床意义。

[Abstract] Thyroid cancer (TC) is a malignant tumor originating from thyroid follicular epithelial or para-follicular epithelial cells. Its survival rate is significantly higher than that of other types of cancer, which mainly depends on the specific type and stage of TC. In recent years, the incidence of TC has been increasing annually worldwide. But to date, its pathogenesis is still unclear. Circular RNA (circular RNA, circRNA) is a new class of long non-coding RNA (long non-coding RNA, lncRNA), with a closed-loop structure that can regulate the expression of the gene in TC. In addition, the biological functions of circRNA also include acting as a miRNA sponge, interacting with proteins, and serving as a template for translation. Based on the above features, it is considered to be a functional biomarker and therapeutic target for multiple diseases. In this review, we summarize the biological functions of circRNA and discuss its potential clinical implications in TC.

关键词: 甲状腺癌; 环状 RNA; 功能; 生物标志物

[Key words] Thyroid cancer; circular RNA; function; biomarker

TC 是临床上较常见的内分泌恶性肿瘤, 近年来, 随着诊断技术的不断提升, TC 的发病率也在持续增长。Megwalu UC 等^[1]统计了在 2000–2018 年期间美国 18 个地区的 TC 患者共有 197070 位, 在这期间其发病率从 7.25% 增长到 13.48%, 且未见下降趋势。Kang 等根据韩国国家癌症数据库计算证实, TC 在韩国的发病率一直居高不下, 且在 2019 年跃居男女合计恶性肿瘤发病的第 1 位。Wang 等汇总了 2005–2015 年 34–388 个中国癌症登记处的数据后分析得出, 我国 TC 的发病率呈快速上升趋势, 且中国年龄标准化发病率从 3.21/10 万增长到 9.61/10 万。此外, 《甲状腺癌诊疗指南》(2022 版) 中明确指出, 我国 TC 发病率将以每年 20% 的速度持续增长。因此, 早期诊断变得至关重要。目前有大量研究表明, circRNA 在 TC 中存在着差异表达, 对 TC 癌细胞的生长、凋亡、增殖及迁移等生物学进程均具有调控作用, 但其确切的作用机制仍未被完全阐明。在这篇综述中, 我们对 circRNA 与 TC 的作用关系进行了进一步阐述。

1、circRNA 的概述

在 1976 年, circRNA 在植物类病毒中被首次发现^[2], 1980 年, Arnberg AC 等在线粒体 RNA 中也发现了 circRNA 的存在。近年来, 许多专家证实了哺乳动物中存在着完整的、稳定的和受基因调控的 circRNA^[3–10]。随着测序技术及生物信息学的高速发展, 生物体中的 circRNA 被陆续发现。它作为一种新型的具有闭环结构的 lncRNA, 没有 3' 末端尾巴结构和 5' 末端帽子结构^[11], 具有较长的半衰期, 其独特的结构也使得它比线性 RNA 更稳定, 更不容易被核酸外切酶降解^[12], 因此它能够稳定地存在于多种组织和外周血中。另外, circRNA 是高度丰富和保守的, 同时它还有高度的组织表达特异性和疾病特异性, 这些特征使它具有许多的生物学功能和临床应用。

2、circRNA 的生物学功能

由于 circRNA 具有广泛调节细胞状态的能力, 它参与了多种疾病的发生和发展, 例如阿尔茨海默症^[13]、糖尿病、骨质疏松症和肿瘤。而 circRNA 可以在调控基因表达和参与疾病的发生发展过程中发挥重要作用, 主要从以下四个方面进行讨论。

2.1 circRNA 充当 miRNA 海绵

微小 RNAs (microRNAs, miRNAs) 是由 19–25 个核苷酸组成的短 RNA 分子, 是一种小的内源性、非编码 RNA。通常一个 miRNA 可以靶向调控数百个信使 RNA, 影响许多基因的表达。近年来, 有专家提出了竞争性内源性 RNA (competitive endogenous RNAs, ceRNAs) 的假说, 其中 ceRNAs 包括了 lncRNA 和转录的假基因, 它们可以作为 miRNA 海绵, 降低 miRNA 的调控水平。随着研究的进一步深入, Hansen TB 等人证实了 circRNA 也可以充当 ceRNAs, 发挥 miRNA 海绵的作用。其中, ciRS-7 (circular RNA sponge for miR-7) 包含了 70 多个选择性保守的 miRNA 靶位点, 并与 AGO2 蛋白相互作用, 影响 miR-7 的调控水平。在小鼠大脑内, 尤其是在新皮层和海马神经元中, 高表达的 ciRS-7 通过抑制 miR-7 的活性, 上调 miR-7 靶区。在胰腺癌中, ciRS-7 通过调控 miR-7 介导的

EGFR/STAT3 信号通路, 促进胰腺癌的增殖和转移。另外在 TC 中, circZFR 可以作为 miR-16 的海绵, 具有致癌作用。

2.2 circRNA 与蛋白质相互作用

除了充当 miRNA 海绵, circRNA 还可以与蛋白质相互作用, 影响蛋白质的活性。众所周知, circRNA 可以专一性的与单个蛋白质结合, 也可以与多个蛋白质相互作用。例如: Holdt LM 等证实了 circANRIL 可以作为 PES1 的分子抑制剂, 诱导细胞凋亡、降低细胞增殖, 促进对抗动脉粥样硬化细胞的保护作用; 在胃癌中, circHuR 与 CNBP 蛋白相互作用, 并作为抑制剂抑制 CNBP 与 HuR 启动子的结合, 从而抑制肿瘤的进展。此类 circRNA 在 TC 中也有发现, circRNA_102171 在肿瘤组织中表达上调, 通过与 CTNNBIP1 相互作用, 导致 Wnt/ β -catenin 通路的激活, 从而促进肿瘤进展。

2.3 circRNA 作为翻译模板

最初, 因为 circRNA 没有 3' 末端尾巴结构和 5' 末端帽子结构, 它被认为不具备翻译功能。但是, 某些 circRNA 具有开放阅读框(open reading frame, ORF), 这意味着它们具有翻译的潜力。迄今为止, 它的翻译功能已经被许多研究证实。在 2017 年, Legnini I 等在小鼠和人类成肌细胞中发现了可以控制成肌细胞增殖的 circ-ZNF609, 由于存在内部核糖体入口位点(Internal Ribosome Entry Site, IRES)和必要的剪接元件, 它可以像线性转录本一样, 从起始密码子开始, 到终止密码子结束, 并以帽状独立的方式被翻译成蛋白质。除此之外, 某些 circRNA 中还存在足以驱动翻译起始的 N⁶-甲基腺苷 (N⁶-methyladenosine, m⁶A), 它驱动的翻译需要起始因子 eIF4G2 和 m⁶A 阅读器 YTHDF3, 但其具体机制仍然是未知的。

2.4 circRNA 调节基因表达

在 2015 年, Li 等报道了一类特殊的 circRNA, 为外显子-内含子环状 RNA (Exon-intron circular RNAs, EIciRNAs), 它们主要局限在细胞核中。这类 EIciRNAs (例如 circEIF3J 和 circPAIP2) 可以在 U1 小核核糖蛋白 (U1 small nuclear ribonucleoprotein, U1 snRNA) 的帮助下, 通过 RNA-RNA 相互作用影响 RNA 聚合酶 II (RNA polymerase II, RNA pol II) 的活性, 从而调节亲本基因的转录。另外, circRNA 还可以作为 RNA pol II 的激活因子, 上调基因转录。例如, ci-ankrd52 可以积累到其转录位点, 并作为 pol II 转录的正向调控因子, 增强转录活性。虽然, EIciRNAs 可以参与基因转录, 但它们是如何精准地调节基因表达, 仍然是一个谜。

3、circRNA 在 TC 中的作用

越来越多的证据表明, circRNA 作为细胞活性调节因子, 与肿瘤的进展密切相关。它的异常表达在多种癌症中均有发现, 如食管癌、胰腺癌、胃癌和 TC^[40]等。circRNA 在肿瘤中的差异性表达起着致癌或抑癌的作用, 影响细胞功能, 并且它与肿瘤细胞的增殖、迁移、侵袭、凋亡和耐药性等临床特征密切相关, 其最主要是通过作为 miRNA 的“海绵”来发挥作用。

3.1 细胞增殖与凋亡

肿瘤发生的主要原因是细胞周期出现异常,是由于原癌基因激活或抑癌基因失活导致的。异常表达的 circRNA 可以作为原癌基因或抑癌基因,调控细胞周期调节因子的表达,影响肿瘤细胞的细胞周期。例如,在 TC 中, circDOCK1 通过诱导细胞周期蛋白 D1(cyclin D1)上调和 p53 下调,导致细胞周期蛋白依赖性激酶(Cyclin-dependent kinase, CDK)活性失衡,肿瘤细胞快速生长。Li 等发现 circPSD3 在 PTC 细胞中高表达,具有致癌性。当它被敲除后,细胞周期在 G1/S 过渡阶段被明显阻滞, cyclin D1 和 CDK4 的表达也显著降低,使 PTC 细胞的增殖受到明显抑制,促进细胞凋亡。另外, circ_0124055、circ_0101622、circ_0067934 等在 TC 中高表达,可促进细胞增殖,抑制细胞凋亡。

3.2 细胞迁移和侵袭

上皮-间质转化 (Epithelial-mesenchymal transition, EMT)是上皮细胞在特定的生理、病理状况下,向间质细胞转化的过程,也是肿瘤细胞侵袭和迁移的早期过程。据报道, circRNA 的异常表达与 EMT 相关因子的表达水平紧密相关。例如, Lin 等人发现 circ_007293 的表达上调与 PTC 细胞的侵袭和迁移显著相关,通过下调 E-cadherin 或上调 N-cadherin 和 vimentin,促进 PTC 细胞的侵袭和迁移。另外, Wnt/ β -catenin 信号通路也可以在 circRNA 的调控下影响癌细胞的侵袭和迁移。例如,在 PTC 细胞中, circ_102171 通过与 CTNNBIP1 的相互作用,阻断了其与 β -catenin/TCF3/TCF4/LEF1 复合物的相互作用,从而导致了该通路的激活,促进了 PTC 细胞的侵袭和迁移。而 Wang 等指出,过表达的 circITCH6 通过海绵 miR-22-3p 上调 CBL,导致该通路受到抑制,抑制了 PTC 细胞的侵袭和迁移。

3.3 TC 的耐药性

耐药性是指微生物、寄生虫以及肿瘤细胞对于化疗药物作用的耐受性,耐药性一旦产生,药物的化疗作用就会明显下降。有报道称 circRNA 可以通过调节信号通路来介导耐药性。例如, circEIF6 在 ATC 中上调,并通过调节 miR-144-3p/TGF- α 轴促进细胞自噬,增强了 ATC 细胞对顺铂的耐药性。但是, circRNA 在 TC 中关于化疗耐药的研究很少,仍需进一步的研究。

4、circRNA 作为 TC 潜在的生物标志物

由于 circRNA 具有独特的闭环结构,使得它比线性 RNA 更稳定,更不容易被核酸外切酶降解。另外,它的异常表达与肿瘤的进展密切相关,被认为是具有临床意义的生物标志物。

4.1 诊断性生物标志物

众所周知,早期诊断是治疗 TC 的关键。判断 circRNA 诊断价值的主要依据是受试者工作曲线(receiver operating curve, ROC)中的曲线下面积(area under the curve, AUC)。目前大量研究表明, circRNA 可以作为诊断性生物标志物。例如, circ_0124055 和 circ_0101622 在 TC 中表达上调,其 AUC 分别为 0.836 和 0.805,具有良好的诊断效能。当二者联合时 AUC 为 0.911,具有更强的诊断价值。而 circ_0137287 在 PTC 组织中的表达明显下调,它与甲状腺外扩张、淋巴结转移、肿瘤大小等显著相关,其 AUC 为 0.8973,提示它也可以作为 PTC 的诊断标志物。

4.2 预后性生物标志物

对 TC 患者进行预后评估,主要是依据总生存期(overall survival, OS)和 TNM 分期,通过 Kaplan-Meier 生存曲线分析评估 circRNA 的预后价值。Wu 等人报道了在 PTC 中, circFNDC3B 的高表达与肿瘤大小、淋巴结转移、TNM 分期密切相关,其 AUC 为 0.891。根据生存曲线得知, circFNDC3B 高表达的 PTC 患者的 OS 明显较短。另外, circ_0124055、circ_0101622、circ_0067934 在 TC 患者中过表达,生存曲线显示,它们表达高的 TC 患者的 OS 较短,证明了具有作为预后生物标志物的能力。但是 circRNA 作为预后性生物标志物的价值尚未得到广泛论证,仍需进一步研究。

5、展望

近年来, TC 的发病率逐年上升,人们对它的早期诊断及临床预后也愈加关注。随着生物信息学的高速发展, circRNA 目前已成为肿瘤领域的研究热点。大量研究证实, circRNA 在 TC 细胞中表达明显异常,不仅具有调节细胞增殖、迁移、侵袭和凋亡的作用,也在诊断和预后等方面具有潜在的生物标志物作用。然而,虽然 circRNA 在肿瘤的临床治疗中有很大的应用前景,但目前在 TC 中的研究有限,仍需进一步的实验研究来揭开它在 TC 中的奥秘。

参考文献:

- [1] Megwalu UC, Moon PK. Thyroid Cancer Incidence and Mortality Trends in the United States: 2000–2018. *Thyroid*. 2022;32(5):560–570.
- [2] Kang MJ, Jung KW, Bang SH, et al. Cancer Statistics in Korea:

Incidence, Mortality, Survival, and Prevalence in 2020. *Cancer Res Treat*. 2023;55(2):385–399.

- [3] Wang J, Yu F, Shang Y, Ping Z, Liu L. Thyroid cancer: incidence and mortality trends in China, 2005–2015. *Endocrine*. 2020;68(1):163–173.

- [4] 甲状腺癌诊疗指南 (2022 年版) [J]. 中国实用外科杂志, 2022, 42(12):1343–1357+1363.

- [5] Sanger HL, Klotz G, Riesner D, Gross HJ, Kleinschmidt AK. Viroids are single-stranded covalently closed circular RNA molecules existing as highly base-paired rod-like structures. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1976;73(11):3852–3856.

- [6] Arnberg AC, Van Ommen GJ, Grivell LA, Van Bruggen EF, Borst P. Some yeast mitochondrial RNAs are circular. *Cell*. 1980;19(2):313–319.

- [7] Jeck WR, Sorrentino JA, Wang K, et al. Circular RNAs are abundant, conserved, and associated with ALU repeats [published correction appears in *RNA*. 2013 Mar;19(3):426]. *RNA*. 2013;19(2):141–157.

- [8] Salzman J, Chen RE, Olsen MN, Wang PL, Brown PO. Cell-type specific features of circular RNA expression [published correction appears in *PLoS Genet*. 2013 Dec;9(12). doi:10.1371/annotation/f782282b-cefa-4c8d-985c-b1484e845855]. *PLoS Genet*. 2013;9(9):e1003777.

- [9] Chen LL, Yang L. Regulation of circRNA biogenesis. *RNA Biol*. 2015;12(4):381–388.

- [10] Meng S, Zhou H, Feng Z, et al. CircRNA: functions and properties of a novel potential biomarker for cancer. *Mol Cancer*. 2017;16(1):94. Published 2017 May 23.

- [11] Rybak-Wolf A, Stottmeister C, Glažar P, et al. Circular RNAs in the Mammalian Brain Are Highly Abundant, Conserved, and Dynamically Expressed. *Mol Cell*. 2015;58(5):870–885.

- [12] Zhang M, Bian Z. The Emerging Role of Circular RNAs in Alzheimer's Disease and Parkinson's Disease. *Front Aging Neurosci*. 2021;13:691512. Published 2021 Jul 12.

- [13] Yin W, Zhang Z, Xiao Z, Li X, Luo S, Zhou Z. Circular RNAs in diabetes and its complications: Current knowledge and future prospects. *Front Genet*. 2022;13:1006307. Published 2022 Oct 26.

- [14] Moura SR, Fernandes MJ, Santos SG, Almeida MI. Circular RNAs: Promising Targets in Osteoporosis. *Curr Osteoporos Rep*. 2023;21(3):289–302.

- [15] Tao M, Zheng M, Xu Y, Ma S, Zhang W, Ju S. CircRNAs and their regulatory roles in cancers. *Mol Med*. 2021;27(1):94. Published 2021 Aug 26.

- [16] Lu TX, Rothenberg ME. MicroRNA. *J Allergy Clin Immunol*. 2018;141(4):1202–1207.

- [17] Akhbari MH, Zafari Z, Sheykhan M. Competing Endogenous RNAs (ceRNAs) in Colorectal Cancer: A Review. *Expert Rev Mol Med*. 2022;24:e27. Published 2022 Jun 24.

- [18] Hansen TB, Jensen TI, Clausen BH, et al. Natural RNA circles function as efficient microRNA sponges. *Nature*. 2013;495(7441):384–388.

- [19] Liu L, Liu FB, Huang M, et al. Circular RNA ciRS-7 promotes the proliferation and metastasis of pancreatic cancer by regulating miR-7-mediated EGFR/STAT3 signaling pathway. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*. 2019;18(6):580–586.

- [20] Xiong H, Yu H, Jia G, et al. circZFR regulates thyroid cancer progression by the miR-16/MAPK1 axis. *Environ Toxicol*. 2021;36(11):2236–2244.

- [21] Holdt LM, Stahlinger A, Sass K, et al. Circular non-coding RNA ANRIL modulates ribosomal RNA maturation and atherosclerosis in humans. *Nat Commun*. 2016;7:12429. Published 2016 Aug 19.

- [22] Yang F, Hu A, Li D, et al. Circ-HuR suppresses HuR expression and gastric cancer progression by inhibiting CNBP transactivation. *Mol Cancer*. 2019;18(1):158. Published 2019 Nov 13.

- [23] Bi W, Huang J, Nie C, et al. CircRNA circRNA_102171 promotes papillary thyroid cancer progression through modulating

(下转第 236 页)

(上接第 232 页)

- [24] CTNNBIP1-dependent activation of β -catenin pathway. *J Exp Clin Cancer Res*. 2018;37(1):275. Published 2018 Nov 13.
- [25] Abe N, Matsumoto K, Nishihara M, et al. Rolling Circle Translation of Circular RNA in Living Human Cells. *Sci Rep*. 2015;5:16435. Published 2015 Nov 10.
- [26] 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):22–37.e9.
- [27] Yang Y, Fan X, Mao M, et al. Extensive translation of circular RNAs driven by N⁶-methyladenosine. *Cell Res*. 2017;27(5):626–641.
- [28] Li Z, Huang C, Bao C, et al. Exon-intron circular RNAs regulate transcription in the nucleus [published correction appears in *Nat Struct Mol Biol*. 2017 Feb 6;24(2):194]. *Nat Struct Mol Biol*. 2015;22(3):256–264.
- [29] Zhang Y, Zhang XO, Chen T, et al. Circular intronic long noncoding RNAs. *Mol Cell*. 2013;51(6):792–806.
- [30] Zhang X, Lu N, Wang L, et al. Circular RNAs and esophageal cancer. *Cancer Cell Int*. 2020;20:362. Published 2020 Aug 3.
- [31] Guo D, Li F, Zhao X, et al. Circular RNA expression and association with the clinicopathological characteristics in papillary thyroid carcinoma. *Oncol Rep*. 2020;44(2):519–532.
- [32] Cui W, Xue J. Circular RNA DOCK1 downregulates microRNA-124 to induce the growth of human thyroid cancer cell lines. *Biofactors*. 2020;46(4):591–599.
- [33] Li Z, Huang X, Liu A, et al. Circ_PSD3 promotes the progression of papillary thyroid carcinoma via the miR-637/HEMGN axis. *Life Sci*. 2021;264:118622.
- [34] Sun JW, Qiu S, Yang JY, Chen X, Li HX. Hsa_circ_0124055 and hsa_circ_0101622 regulate proliferation and apoptosis in thyroid cancer and serve as prognostic and diagnostic indicators. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2020;24(8):4348–4360.
- [35] Wang H, Yan X, Zhang H, Zhan X. CircRNA circ_0067934 Overexpression Correlates with Poor Prognosis and Promotes Thyroid Carcinoma Progression. *Med Sci Monit*. 2019;25:1342–1349. Published 2019 Feb 19.
- [36] 李汉清, 可燕. 上皮间质转化的机制研究进展[J]. *中国药理学通报*. 2017;33(10):1342–1344.
- [37] Lin Q, Qi Q, Hou S, et al. Exosomal circular RNA hsa_circ_007293 promotes proliferation, migration, invasion, and epithelial-mesenchymal transition of papillary thyroid carcinoma cells through regulation of the microRNA-653-5p/paired box 6 axis. *Bioengineered*. 2021;12(2):10136–10149.
- [38] Wang M, Chen B, Ru Z, Cong L. CircRNA circ-ITCH suppresses papillary thyroid cancer progression through miR-22-3p/CBL/ β -catenin pathway. *Biochem Biophys Res Commun*. 2018;504(1):283–288.
- [39] Liu F, Zhang J, Qin L, et al. Circular RNA EIF6 (Hsa_circ_0060060) sponges miR-144-3p to promote the cisplatin-resistance of human thyroid carcinoma cells by autophagy regulation. *Aging (Albany NY)*. 2018;10(12):3806–3820.
- [40] Lan X, Cao J, Xu J, et al. Decreased expression of hsa_circ_0137287 predicts aggressive clinicopathologic characteristics in papillary thyroid carcinoma. *J Clin Lab Anal*. 2018;32(8):e22573.
- [41] Wu G, Zhou W, Pan X, et al. Circular RNA Profiling Reveals Exosomal circ_0006156 as a Novel Biomarker in Papillary Thyroid Cancer [retracted in: *Mol Ther Nucleic Acids*. 2022 May 06;28:572]. *Mol Ther Nucleic Acids*. 2020;19:1134–1144.
- 作者简介: 鲁桂艳, 女, 汉族, 1997 年 7 月, 河北唐山, 在读硕士研究生, 内科专业
- 通讯作者简介: 刘阁玲, 女, 汉族, 1965 年, 河北唐山, 博士, 内分泌专业