

DOI:10.11798/j.issn.1007-1520.202322181

· 综述 ·

# 环状 RNA 在鼻咽癌中的作用及其研究进展

周晔茹, 孙仰光, 陆兆屹, 陈曦, 程雷

(南京医科大学第一附属医院 江苏省人民医院 耳鼻咽喉科, 江苏 南京 210029)

**摘要:**鼻咽癌是一种鼻咽部的上皮细胞恶性肿瘤,目前主要的治疗方式为放射性治疗(放疗),其死亡率的下  
降与诊疗技术的提高密切相关。复发和转移仍是影响鼻咽癌预后的主要因素,患者对放疗的抵抗性往往导致预后  
较差。近年来鼻咽癌的发病机制研究取得了许多进展,除了编码基因可以调控蛋白质翻译,非编码 RNA 的作用也  
被证明,他们可以在 RNA 水平上调节多种病理生理过程。环状 RNA(circRNA)主要通过充当竞争性内源 RNA 或  
微小 RNA(miRNA)海绵分子,竞争性结合 miRNA,调节 miRNA 活性,调控基因在 RNA 水平的表达,促进或抑制相  
关反应,影响疾病的发生发展。circRNA 的生物学特性及表达特异性使其有望成为鼻咽癌诊断和治疗决策的潜在  
生物标记物,基因敲除也可能成为鼻咽癌新的治疗途径。本文重点聚焦 circRNA 在鼻咽癌中的作用及近期研究进  
展进行综述。

**关键词:**鼻咽癌;环状 RNA;微小 RNA;RNA-结合蛋白;生物标志物

**中图分类号:**R739.63

## Research progress of circRNA in nasopharyngeal carcinoma

ZHOU Yeru, SUN Yangguang, LU Zhaoyi, CHEN Xi, CHENG Lei

(Department of Otorhinolaryngology, the First Affiliated Hospital, Nanjing Medical University, Nanjing 210029, China)

**Abstract:** Nasopharyngeal carcinoma (NPC) is a malignant tumor of epithelial cells in the nasopharynx. Currently,  
the main treatment approach is radiation therapy (radiotherapy). The decrease of mortality is closely related to the  
improvement of technology. Relapse and metastasis are still important factors affecting the prognosis of NPC.  
Radioresistance of the patients often results in a poor prognosis. In recent years, many research achievements have been  
made in the mechanisms of NPC. In addition to coding genes that can regulate protein translation, the role of non-coding  
RNA has also been shown to regulate a variety of pathophysiological processes at the RNA level. Circular RNA (circRNA)  
mainly act as competing endogenous RNA (ceRNA) or microRNA (miRNA) sponge molecules, competitively binds  
miRNA. It regulates miRNA activity by regulating gene expression at RNA level, thus promote or inhibit related responses,  
and affect the occurrence and development of diseases. The biological characteristic and expression specificity of circRNA  
make it promising as a potential biomarker for diagnosis and treatment of NPC. Moreover, gene knockout may also be a new  
therapeutic approach for NPC. This paper focuses on the recent research progress on the role of circRNA in NPC.

**Keywords:** Nasopharyngeal carcinoma; Circular RNA; MicroRNAs; RNA-binding proteins; Biomarkers

鼻咽癌作为一种临床常见的鼻咽部上皮细胞恶性  
性肿瘤,主要通过组织病理学结合影像学进行诊断,  
目前主流的治疗方式仍是放射性治疗(简称放疗)。  
早期确诊的鼻咽癌放疗后预后良好,但部分患者有  
抵抗性,易导致肿瘤复发和远处转移,影响生存率。  
近年来,关于鼻咽癌发病机制的研究取得了很多新

的进展,特别是非编码 RNA(non-coding RNA,  
ncRNA)在鼻咽癌发生发展中的作用。研究发现,鼻  
咽癌组织标本和细胞系中微小 RNA(miRNA,  
miRNA)-326 表达降低可预测鼻咽癌不良预后,其  
机制为主要通过 miR-326 与成红细胞特异性转化因  
子 1(ETS1)结合,抑制 ETS1 蛋白表达,逆转下调

基金项目:江苏高校优势学科建设工程(JX10231801);江苏省科教能力提升工程(JSDW202203)。

第一作者简介:周晔茹,女,在读硕士研究生。

通信作者:程雷,Email:chenglei@jsph.org.cn

miR-326 在高分化鼻咽癌细胞 (CNE1) 和人鼻咽癌细胞系 (5-8F) 中的细胞侵袭能力<sup>[1]</sup>。另有研究显示,长链非编码 RNA (long non-coding RNA, lncRNA) *XIST* 基因通过下调 RNA 结合蛋白 capin-1 促进鼻咽癌细胞的增殖和转移,lncRNA *XIST* 可以作为一个潜在的鼻咽癌标记物<sup>[2]</sup>。在表观遗传学方面,鼠类肉瘤病毒癌相关区域家族 1A 基因启动子甲基化可以导致基因突变和缺失,从细胞和分子层面影响鼻咽癌进展<sup>[3]</sup>。这些相关研究进展可能对鼻咽癌的早期诊断、侵袭转移及治疗改进具有重要意义。本文重点聚焦环状 RNA (circular RNA, circRNA) 在鼻咽癌中的作用,并对近期研究进展作一综述。

## 1 ncRNA 概述

ncRNA 是一类不具有翻译蛋白质功能的 RNA,根据功能分为具有调控功能的调节性 ncRNA 和组成性的管家 ncRNA。ncRNA 本身不具备翻译功能,但在细胞中具有重要的调控作用,例如 miRNA、lncRNA 和 circRNA 在肿瘤的发生、进展、转移和耐药中扮演了关键的角色<sup>[4]</sup>。

## 2 circRNA 的特征和调控机制

### 2.1 circRNA 的来源和分类

circRNA 是一类广泛存在于真核细胞中的 ncRNA,起初被认为是由于 RNA 的错误剪接而造成的,进一步研究发现 circRNA 主要是由于线性 mRNA 前体的反向剪接,将 3' 和 5' 端连接在一起,形成一个连续的共价环状结构,具有特殊的生物学功能。circRNA 可以分成 4 种类型(图 1),即外显子 circRNA<sup>[5]</sup>、内含子 circRNA<sup>[6]</sup>、外显子-内含子 circRNA<sup>[7]</sup>、基因间 circRNA<sup>[8]</sup>。近期新的研究还在后生动物中发现了转运 RNA (transfer RNA, tRNA) 内含子环状 RNA (ciRNA),它们是由原始 tRNA 拼接而来的源自 circRNA 的 tRNA 内显子<sup>[9]</sup>。

### 2.2 circRNA 的生物学特征与功能

circRNA 不同于线性 RNA,前者通过反向剪接的方式使其形成一个共价闭合的环状结构,缺少 5' 端帽子结构和 3' 端 poly A 尾,结构上具有高度稳定性和保守性,能够抵抗核酸外切酶的水解作用。另外,相比线性 RNA, circRNA 的半衰期也更长<sup>[10-11]</sup>。深度测序确定的多种 circRNA 已被实验证实比其对应的线性 RNA 有更高的表达量,有的甚至超过 10 倍<sup>[12-13]</sup>。研究表明, circRNA 可调节多种类型恶性肿瘤细胞的增殖、侵袭、迁移和凋亡<sup>[13]</sup>。其生物学功能作用机制大致可分为 5 个方面。

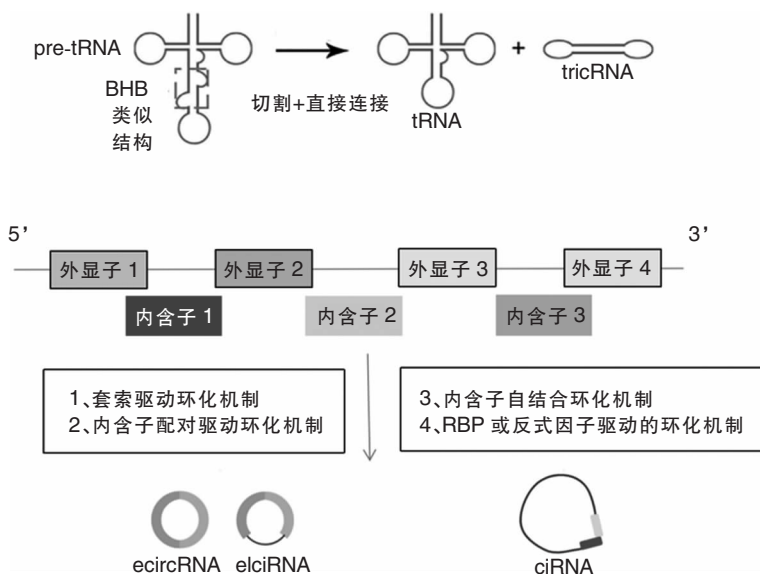


图 1 circRNA 形成方式及类型<sup>[5-8]</sup> 注: circRNA (环状 RNA); pre-tRNA (转运 RNA 前体); tricRNA (转运 RNA 的环状 RNA); tRNA (转运 RNA); ecircRNA (外显子环状 RNA); elciRNA (外显子-内含子环状 RNA); ciRNA (内含子环状 RNA); BHB (膨胀-螺旋-膨胀模型); RBP (RNA 结合蛋白)。

2.2.1 作为 miRNA 的海绵 circRNA 可以通过竞争性内源 RNA 或 miRNA 海绵的方法,抑制 miRNA 通过与 miRNA 反应元件相互作用而导致的 miRNA 靶基因上调,调节靶 mRNA 的稳定性,影响其翻译。例如,沉默 circGFRA1 (hsa\_circ\_005239) 可以上调 miR-99a 的表达来降低 p/t-AKT、p/t-FOXO1 和 p/t-mTOR 蛋白表达水平,抑制胶质瘤细胞的增殖和迁移<sup>[14]</sup>;circ\_0000267 通过海绵 miR-646,减少其表达,促进肝细胞癌的增殖、分化和转移<sup>[15]</sup>;hsa\_circ\_0136666 可以海绵 miR-136,进而通过 miR-136/SH2B1 轴调控结直肠癌的发生和发展<sup>[16]</sup>。

2.2.2 与 RNA 结合蛋白相互作用 RNA 结合蛋白是涉及基因转录和翻译中能够影响 circRNA 生命周期各个方面的一类作用广泛的蛋白质。circRNA 通过与相关 RNA 结合蛋白相互作用,调控转录、翻译、蛋白质降解介导致癌或抑癌。circRNA 蛋白的相互作用还包括转录后水平上对基因表达的调控<sup>[17]</sup>,包括泛素化和氧化磷酸化介导的降解。

2.2.3 编码蛋白 有些真核生物的 circRNA 有核糖体进入位点,可翻译表达蛋白质。天然的 circRNA 具有翻译的起始密码子但没有翻译功能,而人工合成的可在体外实验中翻译蛋白质<sup>[18]</sup>。Legnini 等<sup>[19]</sup>发现,circZNF609 具有一个开放阅读框,两端带有起始密码子和终止密码子,与重链多核糖体相关,并以剪接依赖性和帽依赖性的方式翻译成蛋白质,但线性 RNA 的效率是 circZNF609 的 2 倍。

2.2.4 调节转录过程 一些在人类细胞核中的内含子来源的 circRNA 可在转录水平和转录后水平上调节基因表达。例如基因的转录可以通过 ciRNA 的消耗而减少,这表明 circRNA 可以通过富含核的 ciRNA 增强亲本基因的 RNA 聚合酶 II 的转录,同时它们还可能存在反向调节的作用,当外显子-内含子 RNA 被敲除时,其宿主基因的转录会相应地减少。

2.2.5 调控 RNA 的选择性剪接 不均一核 RNA 通过不同的剪接方式产生 mRNA 剪接异构体,环化与线性剪接相互竞争,造成促癌基因和抑癌基因的异常转录<sup>[20]</sup>。Ashwal-Flus 等<sup>[21]</sup>研究发现 circRNA 肌盲蛋白海绵及其侧翼内含子包含保守的肌盲结合位点,这些位点被肌盲蛋白强烈而特异地结合。肌盲蛋白表达水平的调节影响 circRNA 蛋白海绵的生物合成。

### 3 circRNA 在鼻咽癌中的作用及其研究进展

目前有实验表明特定的 circRNA 在鼻咽癌患者

体内高表达,推测是鼻咽癌的促进因素,敲除 circRNA 可以起到治疗作用<sup>[22]</sup>。同时也有实验表明,一些 circRNA 在鼻咽癌中起到抑制癌基因发展的作用,它们的特异性高表达与良好预后相关,促进癌症细胞凋亡、增强放疗敏感性,存在作为抑癌基因的可能<sup>[23]</sup>。

#### 3.1 circRNA 作为鼻咽癌的潜在诊断标志物

鼻咽癌的早期诊断手段主要包括血液检测、癌症生物标志物分析和影像学检查<sup>[24-25]</sup>。细胞分子学水平的细胞游离亚铁原卟啉检测也给肿瘤细胞的筛查提供了新的思路<sup>[26]</sup>。早发现、早治疗是获得高生存率和良好预后的重要途径<sup>[27-29]</sup>。实验研究发现一些稳定表达的 RNA 可以作为血清标志物。如 circRNA 作为一种独特的内源性 ncRNA,可以在体液中检测到,因此认为 circRNA 可以作为诊断恶性肿瘤的潜在标志物<sup>[30]</sup>。近年来,许多 circRNA 被发现在鼻咽癌患者体内差异性表达。例如,通过实时荧光定量 PCR 检测发现,circRNA\_0000285 在鼻咽癌患者的组织、血清样本和鼻咽癌细胞系中的表达异常增高<sup>[31]</sup>。又如,使用高通量 RNA-seq 测序,在鼻咽癌患者活检细胞中还发现 circRNA\_3549 在 73.85% 的鼻咽癌组织中表达,且表达明显高于正常对照组织,在 5-8F 鼻咽癌细胞中的表达最高,而在正常鼻咽上皮细胞中几乎没有表达<sup>[32]</sup>。另有研究发现,鼻咽癌患者血浆和组织中的 circRNA\_0066755 显著增加,且 circRNA\_0066755 表达水平与鼻咽癌患者的 MRI 影像学诊断结果高度一致,这对鼻咽癌的诊断有临床意义<sup>[33]</sup>。恶性肿瘤的分期评估对制定治疗方案起决定性作用。通过定量逆转录 PCR 发现,与非肿瘤组织相比,circRNA\_0046263 在鼻咽癌肿瘤组织及各种鼻咽癌细胞系中的表达水平持续且显著增加,且表达与鼻咽癌临床病理分期呈正相关,淋巴结转移及远处转移显著相关<sup>[34]</sup>。新近,Pei 等<sup>[35]</sup>还发现 circFOXMI (hsa\_circ\_0025033) 在鼻咽癌组织细胞中高表达,与疾病分期有关,并且提示预后不良,而下调 circFOXMI 可抑制鼻咽癌细胞的增殖和侵袭。这些研究都说明 circRNA 具有作为诊断鼻咽癌的生物标志物的潜在价值。

#### 3.2 circRNA 与鼻咽癌增殖、分化和转移之间的关系

研究发现 circRNA 在恶性肿瘤中的异常表达,可以作为癌基因或抑癌基因参与肿瘤的发生和发展,尤其是恶性肿瘤细胞的增殖、迁移、凋亡、入侵等。研究表明,circRNA 对鼻咽癌细胞的增殖和转移有一定的影响。在细胞结构水平,细胞骨骼重构

促进鼻咽癌恶性生物学表型,过表达或敲除实验证明 circARHGAP12(hsa\_circ\_0000231) 通过与 *EZR* 基因的 mRNA 的 3' UTR 结合,促使 *EZR* 蛋白与原肌球蛋白 3 和 *RAS* 同源基因家族成员 A(*ras* homolog family member A, *RhoA*) 基因形成复合物,调节细胞骨架重塑相关蛋白的表达,促进鼻咽癌细胞的侵袭和转移<sup>[32]</sup>。除此之外,有一些失调的 circRNA 可以海绵 miRNA 来调节癌基因发展。例如, circ-CRIM1 竞争性结合 miRNA-422a 破坏它对叉头框蛋白 Q1(forkhead box Q1, *FOXQ1*) 的抑制作用,通过 circCRIM1/miR-422a/*FOXQ1* 轴发挥对癌症的正性调节作用,同时它还是一个独立的预后因素,当与 N 期结合时,可以区分不同远处转移的风险<sup>[36]</sup>。circ-MAN1A2 作为 miR-135a-3p 的海绵,靶向 E3 泛素蛋白连接酶 5 识别子(ubiquitin protein ligase E3 component n-recognin 5, *UBR5*)。新近的研究表明, *UBR5* 与 ATM 交互子(*ATMIN*) 相互作用,促进 *ATMIN* 的泛素化,在体内加速鼻咽癌细胞的恶性行为,从而加速远处器官肺和腹股沟淋巴结转移,提示 circMAN1A2/miR-135a-3p/*UBR5*/*ATMIN* 轴在鼻咽癌的肿瘤启动和转移中起调控作用,有可能成为鼻咽癌的潜在治疗靶点<sup>[37]</sup>。另外,通过体内外实验证明 circSETD3(hsa\_circ\_0000567) 竞争性吸附于 miR-615-5p 和 miR-1538,上调人微管关联蛋白 RP/EB 家族成员 1 的表达,抑制  $\alpha$ -微管蛋白的乙酰化,促进其乙酰化微管的动态组装,增强鼻咽癌细胞的侵袭和迁移能力<sup>[38]</sup>。Wang 等<sup>[39]</sup> 实验研究证实, circCAMSAP1(hsa\_circ\_0001900) 通过结合丝氨酸蛋白酶抑制因子肽酶抑制因子(*serpin* peptidase inhibitor, *SERPINH1*) 的 3' UTR 来提高 *SERPINH1* mRNA 的稳定性,从而促进 *SERPINH1* 重组蛋白的表达;高表达 *SERPINH1* 降低了 *c-Myc* 基因的泛素降解率,导致肿瘤发生增加。同时, *c-Myc* 协同剪切因子 10 也能促进 *CAMSAP1* 基因 pre-mRNA 转录和后剪切,形成 circCAMSAP1 生成的正反馈,导致鼻咽癌的增殖和转移。众多研究表明, circRNA 通过海绵 miRNA, 调控下游靶因子的生物功能,利用生物轴效应促进鼻咽癌细胞和组织的增殖、分化、转移等,发挥促进肿瘤进程的作用。

### 3.3 circRNA 与鼻咽癌放疗的关系

放疗是目前鼻咽癌治疗的主要手段,抗放射性的鼻咽癌更有可能发生局部复发和远处转移,影响整体生存率,具有抗放射性的基因可能为鼻咽癌的治疗提供靶点。Chen 等<sup>[40]</sup> 发现 circRNA\_000543 在

抗放射性的组织和细胞中表达较高,造成低生存率。血小板衍生生长因子受体  $\beta$ (platelet-derived growth factor receptor, beta polypeptide, *PDGFRB*) 是鼻咽癌中 miR-9 的靶点, circRNA\_000543 通过海绵 miR-9, 升高 *PDGFRB* 表达,导致辐照抗性增强,敲除 circRNA\_000543 可以通过调节 miR-9/*PDGFRB* 轴使鼻咽癌细胞对辐照敏感。另有研究发现与健康患者样本相比, circRNA\_0000285 在放疗耐受的鼻咽癌患者体内表达水平增加 3 倍<sup>[31]</sup>。通过实验构建放疗治疗耐药细胞 CNE-1/RR, 发现 circMYC 在这些细胞中的表达明显高于对照组细胞,过表达 circMYC 显著促进了细胞增殖,增强细胞的放疗耐药性,而敲除 circMYC 可使人鼻咽癌细胞和细胞系对辐照敏感; circMYC 可能通过海绵 miR-20b-5p 和 let7e-3p, 联合下游拟南芥 AGO1 蛋白和隐花色素蛋白 2, 在调节 RNA 诱导的沉默复合物对实体肿瘤中起促进作用<sup>[41]</sup>。这些实验研究表明,一些 circRNA 是鼻咽癌的抗放射性基因,敲除相关基因可以提高放疗的效果,因此可作为潜在靶点为鼻咽癌靶向治疗提供新的思路。

### 3.4 circRNA 与鼻咽癌化疗耐药的关系

以顺铂为主的化疗是鼻咽癌常用的治疗手段,但其耐药性的产生导致治疗效果大打折扣<sup>[42-43]</sup>。因此,探讨鼻咽癌顺铂耐药机制、寻找有效提高顺铂敏感性的方法成为了鼻咽癌化疗研究领域的热点。研究证实, circRNA\_0008450/miR-338-3p/*SMAD5* 轴调控了顺铂耐药鼻咽癌细胞的恶性行为和药物敏感性, circRNA\_0008450 通过与 miR-338-3p 结合,调控下游直接靶点母亲 *DPP* 同源物 5; 下调 circRNA\_0008450, 在体外抑制细胞增殖、迁移和侵袭,促进细胞凋亡和顺铂敏感性,在体内减弱肿瘤生长<sup>[44]</sup>。*PI3K/AKT* 通路在耐顺铂的鼻咽癌细胞系中也受到 circRNA\_0008450/miR-338-3p 轴的调控。最近, Deng 等<sup>[45]</sup> 发现 circSETD3(hsa\_circ\_0000567) 在鼻咽癌组织中表达上调,敲除 circSETD3 可以抑制鼻咽癌的增殖,增加了顺铂敏感性和肿瘤细胞凋亡率。这主要是由于 circSETD3 对 miR-147a 起海绵作用, circSETD3 通过调控 miR-147a 促进鼻咽癌增殖和顺铂耐药,提示 circSETD3/miR-147a 轴可能成为未来鼻咽癌的潜在治疗靶点。Lin 等<sup>[46]</sup> 在耐药鼻咽癌患者的血清中发现 circRNA 核受体相互作用蛋白 1(circular RNA nuclear receptor-interacting protein 1, circNRIP1) 的表达显著升高,在功能水平上 circNRIP1 能够海绵 miR-515-5p,降低 miRNA 活性,增

加 miRNA 靶基因的表达。circNRIP1 在鼻咽癌细胞中作为 miR-515-5p 特异性的竞争性内源 RNA,可以抑制 miR-515-5p 的表达并增强这些细胞中的 5-氟尿嘧啶和顺铂耐药性。miRNA 的下调可通过抑制 IL-25 表达的机制增强鼻咽癌细胞的耐药。进一步发现在 circNRIP1 被敲除的鼻咽癌细胞中 5-氟尿嘧啶和顺铂的半抑制浓度在 miR-515-5p 抑制剂转染后恢复正常;当 IL-25 过表达后,这些半抑制浓度的变化也被逆转,提示 circNRIP1/miR-515-5p/IL-25 轴可以作为一种新型的鼻咽癌中 5-氟尿嘧啶和顺铂耐药的调节因子。另有实验表明,hsa\_circ\_0028007 在鼻咽癌组织中过表达,并与鼻咽癌患者的晚期(III-IV 期)肿瘤分期、侵袭性浸润和淋巴结转移密切相关;沉默 hsa\_circ\_0028007 不仅使人鼻咽癌细胞和细胞系对紫杉醇和顺铂致敏,还能显著抑制细胞系的迁移和侵袭<sup>[47]</sup>。这些通路为鼻咽癌的治疗提供了新的途径,拓展了对应的靶向治疗方案。

### 3.5 抑癌基因对鼻咽癌治疗的影响

circRNA 除了能促进鼻咽癌发生发展,还有一些基因在鼻咽癌患者的组织中被发现低表达,推测可以降低肿瘤细胞的增殖、侵袭能力,减少疾病的远处转移。Zhang 等<sup>[25]</sup>证实鼻咽癌组织样本中 circTGFB2 高表达与良好的预后相关,过表达 circTGFB2 通过海绵化 miR-107 抑制体外和体内鼻咽癌细胞的增殖和迁移,在鼻咽癌患者组织细胞中低表达的基因因为其可以作为抑癌基因参与鼻咽癌靶向治疗提供了可能。Mo 等<sup>[48]</sup>发现 circRNF13(hsa\_circ\_0001346)通过结合小泛素相关修饰蛋白 2(monoclonal antibody to small ubiquitin related modifier protein 2, SUMO2)基因的 3' UTR 激活 SUMO2 蛋白,延长了 SUMO2 mRNA 的半衰期,SUMO2 上调并通过葡萄糖转运蛋白 1 的 SUMO 化修饰和泛素化,促进葡萄糖转运蛋白 1 的降解,并通过抑制糖酵解调控 AMPK/mTOR 通路,最终导致鼻咽癌的增殖和转移。circRNF13 介导鼻咽癌糖酵解,也为靶向治疗提供了重要的理论依据。最近 Wang 等<sup>[49]</sup>在鼻咽癌组织中发现,上调 circITCH 可显著抑制鼻咽癌细胞的增殖、迁移和侵袭。circITCH 通过海绵化 miR-214 发挥其功能, circITCH/miR-214 轴调节下游磷酸酯酶与张力蛋白同源物(phosphatase and tensin homolog, PTEN)的表达调控鼻咽癌的增殖、迁移和侵袭,上调 circITCH 或 PTEN 可阻断 mir-214 介导的鼻咽癌体外肿瘤形成的促进作用,从而提出了一种新的

抑制鼻咽癌的机制。PTEN 作为下游因子,同时还受到其他基因的调控,人真核翻译起始因子 4A3 与 FIP1L1 基因的 mRNA 转录本体结合,诱导 circ-FIP1L1(circRNA\_0069740)的形成,从而稳定 PTEN mRNA。circFIP1L1 通过 miR-1253/EIF4A3 轴调控鼻咽癌细胞增殖、凋亡和辐射敏感性<sup>[50]</sup>。此外, circRNA-0000345 还可以通过海绵 miR-513a-3p 促进 PTEN 的表达,从而抑制鼻咽癌进展<sup>[51]</sup>。说明 PTEN 与鼻咽癌有着密切的关系,值得进一步深入研究。既往研究发现,紧密连接蛋白表达与分布的改变会使其结构内聚力下降,利于肿瘤细胞对内皮细胞的侵袭,最终导致肿瘤细胞的转移。近期发现 circCCNB1 可以诱导核因子 90 蛋白,结合并延长重组紧密连接蛋白 1 mRNA 的半衰期,上调紧密连接蛋白 1 可增强癌细胞之间的紧密连接,抑制鼻咽癌细胞的迁移和侵袭,从而发挥新的生物学功能<sup>[52]</sup>。

### 3.6 circRNA 与鼻咽癌免疫治疗的关系

随着研究的不断深入,免疫治疗为复发性或转移性鼻咽癌提供了一种新的治疗选择。程序性死亡配体 1(programmed death-ligand 1, PD-L1)作为抑制性 T 细胞受体,可导致 T 细胞免疫功能障碍,促进肿瘤免疫逃逸<sup>[53]</sup>。Ge 等<sup>[54]</sup>发现 EB 病毒编码的 circBART2.2 在鼻咽癌中高表达, circBART2.2 通过上调 PD-L1 抑制 T 细胞杀伤鼻咽癌细胞,这是因为 circBART2.2 通过结合视黄酸(维甲酸)诱导基因蛋白 I(retinoic acid-inducible gene 1, RIG-I)解旋酶结构域和激活干扰素调节因子 3 及核因子  $\kappa$ B,促进 PD-L1 的转录,导致肿瘤免疫逃逸。circBART2.2 与 RIG-I 相互作用,通过 PD-L1 免疫通路触发肿瘤免疫逃逸的作用可能为鼻咽癌的治疗提供线索,为以 circBART2.2 激活的肿瘤免疫治疗提供新的治疗靶点。但在这方面的研究还刚起步,有关 circRNA 在鼻咽癌免疫治疗中的作用和临床价值有待今后的深入探讨。

## 4 小结与展望

鼻咽癌作为头颈部最常见的恶性肿瘤,放/化疗仍是主流的治疗方式。但随着解剖学研究的深入、手术技巧的不断提高,以及手术设备的逐渐改进,外科治疗鼻咽癌也获得了越来越多的应用,甚至达到了微创并全切的水平<sup>[55]</sup>。与此同时,近年来 circRNA 成为基础与临床研究的热点,有望开拓新的诊疗思路。

circRNA 具有较为特殊的生物属性, 在一些生物的体液和组织中被发现有表达差异。研究发现, 这些基因的表达量与疾病的临床特征具有一定的相关性, 找到基因下游的目标靶基因, 探求两者之间的关系及调控机制具有较大的临床意义。目前主要通过高通量测序和微阵列筛选出鼻咽部组织、血液、鼻腔分泌物及对照组中的差异 circRNA 分子, 通过 PCR、原位杂交、RNA 印迹等分子实验方法进行验证, 分析 circRNA 的表达情况和亚细胞定位。再通过过表达或敲除实验进行 circRNA 的功能研究, 或者通过生物信息学方法进行预测分析, 结合 RNA 质谱、RNA 免疫沉淀、荧光素酶报告基因实验、RNA pull-down 实验探索 circRNA 与 miRNA 或者 circRNA 与蛋白质之间关系。另外还可以通过生物信息学方法, 结合 circRNA 数据库和相关的分析工具, 探索研究。

通过高通量测序等方法发现 circRNA 在某些疾病组织内高表达, 特别是肿瘤患者的组织和细胞系。多项体内和体外实验发现 circRNA 可以促进鼻咽癌细胞的增殖、分化和转移, 对肿瘤的发生和发展有促进作用, 且这些实验结果和影像学检测结果具有高度的一致性。此外还发现某些 circRNA 与鼻咽癌患者的放疗效果有关, 进而影响肿瘤的复发和远处转移, 成为影响鼻咽癌的独立危险因素。但在对鼻咽癌患者的组织细胞进行基因检测和分析时也发现, 有些 circRNA 呈现出低表达的情况, 起到抑制疾病发展、转移的作用, 是鼻咽癌的抑癌基因。总的来说, circRNA 对鼻咽癌的病理发生和临床诊疗均有影响。

越来越多的研究证明, circRNA 与鼻咽癌有着生物学效应和临床诊疗上的密切联系, 这为鼻咽癌的诊断和治疗提供了新的思路。高敏感度和高特异性的基因特征让 circRNA 作为诊断标志物成为可能。但基因表达的稳定性和不同病理分型组织的表达情况的差异性, 使得我们需要更多的研究去解决 circRNA 作为检测标志物所带来的定性和定量问题, 且其作为诊断标志物的优点和缺点还有待更深入地探索。一些动物体内实验证实基因敲除可以提高放疗的疗效, 但在人体内对于远处转移和长期预后复发的影响还尚未可知, 期待更多的基础和临床的研究去探索。

目前已经有一些较为成熟的 circRNA 基因库, 如 circBase (<http://www.circbase.org>) 收录多个物种的 circRNA 信息, 采用 find\_circ 软件预测去核糖

体文库中的 circRNA, 通过检索可以获取物种信息、基因组上位置、DNA 正负链、circRNA 编号、基因组上长度、剪切后长度、检测样本、评分、重复序列、注释、转录本编号、对应基因名称等信息。又如 CircInteractome 基因库 (<https://circinteractome.nia.nih.gov>) 可预测已知的 109 个 RNA 结合蛋白数据集与 circBase 中的 circRNA 结合位点, 并利用 TargetsCan 软件预测 miRNA 与 circRNA 的潜在结合位点, 可进行 circRNA 分子检索、circRNA 结合蛋白预测、PCR 引物设计、siRNA 干扰序列设计等操作。通过现有的免费基因库数据和基因测序手段, 可以对生物体内 circRNA 的表达情况和反应轴进行推测和验证, 为开创新的诊疗思路提供可能。

#### 参考文献:

- [1] Zhao X, Zhang XJ, Li L, et al. MicroRNA-326 inhibits cell proliferative capacity and invasiveness through inhibiting the expression of ETS1 in nasopharyngeal carcinoma [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2020, 24(1): 181-188.
- [2] Lu H, Wang H, Huang Q, et al. Long noncoding RNA XIST promotes nasopharyngeal carcinoma cell proliferation and metastasis by downregulating Caprin-1 [J]. *Minerva Med*, 2021.
- [3] Ye M, Huang T, Ni C, et al. Diagnostic capacity of RASSF1A promoter methylation as a biomarker in tissue, brushing, and blood samples of nasopharyngeal carcinoma [J]. *EBioMedicine*, 2017, 18: 32-40.
- [4] Chen B, Dragomir MP, Yang C, et al. Targeting non-coding RNAs to overcome cancer therapy resistance [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2022, 7(1): 121.
- [5] Zhang XO, Wang HB, Zhang Y, et al. Complementary sequence-mediated exon circularization [J]. *Cell*, 2014, 159(1): 134-147.
- [6] Talhouarne GJS, Gall JG. Lariat intronic RNAs in the cytoplasm of vertebrate cells [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2018, 115(34): E7970-E7977.
- [7] Li Z, Huang C, Bao C, et al. Exon-intron circular RNAs regulate transcription in the nucleus [J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2015, 22(3): 256-264.
- [8] Lu Z, Filonov GS, Noto JJ, et al. Metazoan tRNA introns generate stable circular RNAs in vivo [J]. *RNA*, 2015, 21(9): 1554-1565.
- [9] Schmidt CA, Giusto JD, Bao A, et al. Molecular determinants of metazoan tricRNA biogenesis [J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47(12): 6452-6465.
- [10] Panda AC, Grammatikakis I, Kim KM, et al. Identification of senescence-associated circular RNAs (SAC-RNAs) reveals senescence suppressor CircPVT1 [J]. *Nucleic Acids Res*, 2017, 45(7): 4021-4035.

- [11] Chuang TJ, Wu CS, Chen CY, et al. NCLscan: accurate identification of non-co-linear transcripts ( fusion, trans-splicing and circular RNA) with a good balance between sensitivity and precision [J]. *Nucleic Acids Res*, 2016, 44(3): e29.
- [12] Greene J, Baird AM, Brady L, et al. Circular RNAs: Biogenesis, function and role in human diseases[J]. *Front Mol Biosci*, 2017, 4: 38.
- [13] Wang Y, Liu J, Ma J, et al. Exosomal circRNAs: biogenesis, effect and application in human diseases[J]. *Mol Cancer*, 2019, 18(1): 116.
- [14] Cao C, Zhang J, Zhang Z, et al. Knockdown circular RNA circG-FRA1 inhibits glioma cell proliferation and migration by upregulating microRNA-99a[J]. *Neuroreport*, 2021, 32(9): 748 - 756.
- [15] Pan H, Tang L, Jiang H, et al. Enhanced expression of circ\_0000267 in hepatocellular carcinoma indicates poor prognosis and facilitates cell progression by sponging miR-646 [J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120(7): 11350 - 11357.
- [16] Jin C, Wang A, Liu L, et al. Hsa\_circ\_0136666 promotes the proliferation and invasion of colorectal cancer through miR-136/SH2B1 axis[J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(5): 7247 - 7256.
- [17] 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 - 338.
- [18] Wang Y, Wang Z. Efficient backsplicing produces translatable circular mRNAs[J]. *RNA*, 2015, 21(2): 172 - 179.
- [19] Legnini I, Timoteo GD, 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.
- [20] 许胜, 周露琦, 王昆. 环状 RNA 及其作为疾病标志物的潜能 [J]. *中国生物化学与分子生物学报*, 2018, 34(2): 117 - 128.
- [21] Ashwal-Fluss R, Meyer M, Pamudurti NR, et al. circRNA biogenesis competes with pre-mRNA splicing [J]. *Mol Cell*, 2014, 56(1): 55 - 66.
- [22] Li W, Lu H, Wang H, et al. Circular RNA TGFBR2 acts as a ceRNA to suppress nasopharyngeal carcinoma progression by sponging miR-107 [J]. *Cancer Lett*, 2021, 499: 301 - 313.
- [23] Zhou X, Yuan G, Wu Y, et al. EIF4A3-induced circFIP1L1 represses miR-1253 and promotes radiosensitivity of nasopharyngeal carcinoma [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2022, 79(7): 357.
- [24] Tan R, Phua SKA, Soong YL, et al. Clinical utility of Epstein-Barr virus DNA and other liquid biopsy markers in nasopharyngeal carcinoma [J]. *Cancer Commun (Lond)*, 2020, 40(11): 564 - 585.
- [25] Zhang B, Tian J, Dong D, et al. Radiomics Features of Multiparametric MRI as Novel Prognostic Factors in Advanced Nasopharyngeal Carcinoma [J]. *Clin Cancer Res*, 2017, 23(15): 4259 - 4269.
- [26] 邱焯, 张俊杰. 鼻咽癌早期筛查的研究进展 [J]. *中国耳鼻喉喉颅底外科杂志*, 2020, 26(2): 201 - 204.
- [27] Tang L, Wei F, Wu Y, et al. Role of metabolism in cancer cell radioresistance and radiosensitization methods [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2018, 37(1): 87.
- [28] Tang Y, He Y, Zhang P, et al. LncRNAs regulate the cytoskeleton and related Rho/ROCK signaling in cancer metastasis [J]. *Mol Cancer*, 2018, 17(1): 77.
- [29] Wei F, Tang L, He Y, et al. BPIFB1 (LPLUNC1) inhibits radioresistance in nasopharyngeal carcinoma by inhibiting VTN expression [J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(4): 432.
- [30] Fan CM, Wang JP, Tang YY, et al. circMAN1A2 could serve as a novel serum biomarker for malignant tumors [J]. *Cancer Sci*, 2019, 110(7): 2180 - 2188.
- [31] 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 - 6501.
- [32] Fan C, Qu H, Xiong F, et al. CircARHGAP12 promotes nasopharyngeal carcinoma migration and invasion via ezrin-mediated cytoskeletal remodeling [J]. *Cancer Lett*, 2021, 496: 41 - 56.
- [33] 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 - 1507.
- [34] Yin L, Chen J, Ma C, et al. Hsa\_circ\_0046263 functions as a ceRNA to promote nasopharyngeal carcinoma progression by upregulating IGFBP3 [J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(7): 562.
- [35] Pei S, Ma C, Chen J, et al. CircFOXMI acts as a ceRNA to upregulate SMAD2 and promote the progression of nasopharyngeal carcinoma [J]. *Mol Genet Genomic Med*, 2022, 10(5): e1914.
- [36] 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): 33.
- [37] Dang QQ, Li PH, Wang J, et al. CircMAN1A2 contributes to nasopharyngeal carcinoma progression via enhancing the ubiquitination of ATMIN through miR-135a-3p/UBR5 axis [J]. *Hum Cell*, 2023.
- [38] Tang L, Xiong W, Zhang L, et al. circSETD3 regulates MAPRE1 through miR-615-5p and miR-1538 sponges to promote migration and invasion in nasopharyngeal carcinoma [J]. *Oncogene*, 2021, 40(2): 307 - 321.
- [39] Wang Y, Yan Q, Mo Y, et al. Splicing factor derived circular RNA circCAMSAP1 accelerates nasopharyngeal carcinoma tumorigenesis via a SERPINH1/c-Myc positive feedback loop [J]. *Mol Cancer*, 2022, 21(1): 62.
- [40] 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 Commun*, 2019, 512(4): 786 - 792.
- [41] Luo Y, Ma J, Liu F, et al. Diagnostic value of exosomal circMYC in radioresistant nasopharyngeal carcinoma [J]. *Head Neck*, 2020, 42(12): 3702 - 3711.
- [42] 王浩, 李维, 谭国林. 长片段非编码 RNA XIST 可改变人鼻咽癌 HNE1 细胞对顺铂的耐药性 [J]. *南方医科大学学报*,

- 2019, 39(3): 357-363.
- [43] 汪文利, 许慧, 蒋树林. 沉默 stathmin 逆转顺铂耐药鼻咽癌细胞耐药性的作用机制[J]. 癌症进展, 2019, 17(16): 1894-1898.
- [44] Liu L, Lu B, Li Y. Circular RNA circ\_0008450 regulates the proliferation, migration, invasion, apoptosis and chemosensitivity of CDDP-resistant nasopharyngeal carcinoma cells by the miR-338-3p/SMAD5 axis[J]. Anticancer Drugs, 2022, 33(1): e260-e272.
- [45] Deng G, Wang F, Song Y. Circular RNA SET domain protein 3 promotes nasopharyngeal carcinoma proliferation, cisplatin resistance, and protein kinase B/mammalian target of rapamycin pathway activation by modulating microRNA-147a expression[J]. Bioengineered, 2022, 13(3): 5843-5854.
- [46] Lin J, Qin H, Han Y, et al. CircNRIP1 modulates the miR-515-5p/IL-25 axis to control 5-Fu and cisplatin resistance in nasopharyngeal carcinoma[J]. Drug Des Devel Ther, 2021, 15: 323-330.
- [47] Qiongn D, Jiafeng Z, Yalin H, et al. Implication of hsa\_circ\_0028007 in reinforcing migration, invasion, and chemo-tolerance of nasopharyngeal carcinoma cells[J]. J Clin Lab Anal, 2020, 34(9): e23409.
- [48] Mo Y, Wang Y, Zhang S, et al. Circular RNA circRNF13 inhibits proliferation and metastasis of nasopharyngeal carcinoma via SU-MO2[J]. Mol Cancer, 2021, 20(1): 112.
- [49] Wang L, Sang J, Zhang Y, et al. Circular RNA ITCH attenuates the progression of nasopharyngeal carcinoma by inducing PTEN up-regulation via miR-214[J]. J Gene Med, 2022, 24(1): e3391.
- [50] Zhou X, Yuan G, Wu Y, et al. EIF4A3-induced circFIP1L1 represses miR-1253 and promotes radiosensitivity of nasopharyngeal carcinoma[J]. Cell Mol Life Sci, 2022, 79(7): 357.
- [51] Jiang C, Li H, Liu F, et al. Hsa\_circ\_0000345 inhibits cell proliferation, migration and invasion of nasopharyngeal carcinoma cells via miR-513a-3p/PTEN axis[J]. J Physiol Sci, 2022, 72(1): 10.
- [52] Zhao M, Wang Y, Tan F, et al. Circular RNA circCCNB1 inhibits the migration and invasion of nasopharyngeal carcinoma through binding and stabilizing TJPI mRNA[J]. Sci China Life Sci, 2022, 65(11): 2233-2247.
- [53] 江蓉, 邱艳芳, 王晖, 等. PD-L1 蛋白在鼻咽癌中的表达及其临床意义[J]. 中国耳鼻咽喉颅底外科杂志, 2018, 24(6): 561-564, 570.
- [54] Ge J, Wang J, Xiong F, et al. Epstein-Barr Virus-Encoded circular RNA circBART2.2 promotes immune escape of nasopharyngeal carcinoma by regulating PD-L1[J]. Cancer Res, 2021, 81(19): 5074-5088.
- [55] 邱前辉, 高俊潇. 鼻咽癌外科治疗的历史与现状及展望[J]. 中国耳鼻咽喉颅底外科杂志, 2020, 26(5): 473-477.

(收稿日期:2022-04-29)

**本文引用格式:**周晔茹, 孙仰光, 陆兆屹, 等. 环状 RNA 在鼻咽癌中的作用及其研究进展[J]. 中国耳鼻咽喉颅底外科杂志, 2023, 29(1): 115-122. DOI:10.11798/j.issn.1007-1520.202322181

**Cite this article as:** ZHOU Yeru, SUN Yangguang, LU Zhaoyi, et al. Research progress of circRNA in nasopharyngeal carcinoma[J]. Chin J Otorhinolaryngol Skull Base Surg, 2023, 29(1): 115-122. DOI:10.11798/j.issn.1007-1520.202322181