

环状 RNA 在胰腺癌中的研究进展

王砚伟, 梁雨荣

解放军总医院 肝胆胰外科医学部, 解放军总医院肝胆外科研究所, 全军数字肝胆外科重点实验室, 北京 100853

摘要: 环状 RNA(circular RNA, circRNA) 是一类特殊的内源性非编码 RNA, 最初在植物类病毒、酵母线粒体和丁型肝炎病毒中被发现。近些年随着研究的逐步深入, 高通量测序结果显示大量 circRNA 在胰腺癌 (pancreatic cancer, PC) 组织或胰腺癌细胞系中表达异常, 并通过调控下游靶分子如微小 RNA(micro RNA, miRNA) 或 RNA 结合蛋白 (RNA-binding protein, RBP) 参与胰腺癌的发生、发展、耐药、自噬及免疫逃逸, 有潜力成为肿瘤的诊断标志物和治疗靶点, 成为胰腺癌领域的又一研究热点。本文归纳了近年来胰腺癌领域研究较深入的 circRNA, 并就其作用机制和应用前景进行综述及探讨。

关键词: 胰腺癌; 环状 RNA; 生物标志物; 靶向治疗; 免疫逃逸

中图分类号: R 735.9 **文献标志码:** A **文章编号:** 2095-5227(2021)10-1118-06 **DOI:** 10.3969/j.issn.2095-5227.2021.10.022

网络出版时间: 2021-08-16 11:36

网络出版地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/10.1117.R.20210813.2249.004.html>

引用本文: 王砚伟, 梁雨荣. 环状 RNA 在胰腺癌中的研究进展 [J]. 解放军医学院学报, 2021, 42 (10): 1118-1123.

Research advances in circRNA in pancreatic cancer

WANG Yanwei, LIANG Yurong

Faculty of Hepato-Pancreato-Biliary Surgery, Chinese PLA General Hospital, Institute of Hepatobiliary Surgery of Chinese PLA, Key Laboratory of Digital Hepatobiliary Surgery of PLA, Beijing 100853, China

Corresponding author: LIANG Yurong. Email: yurongliang@hotmail.com

Abstract: Circular RNA is a special kind of endogenous non-coding RNA, which is firstly found in plant viroid, yeast mitochondria and hepatitis D virus. In recent years, with the development of research, high-throughput sequencing results show that a large number of circRNAs are abnormally expressed in tissues or cell lines of pancreatic cancer. It also participates in the occurrence, development, drug resistance, autophagy and immune escape of pancreatic cancer by regulating downstream target molecules such as microRNA or RNA binding protein, which suggests that it has the potential to become a diagnostic marker and therapeutic target of pancreatic cancer. In this review, circRNAs that have been studied extensively in pancreatic cancer field in recent years are summarized and discussed in terms of its mechanism and application prospect.

Keywords: pancreatic cancer; circRNA; biomarker; targeted therapy; immune escape

Cited as: Wang YW, Liang YR. Research advances in circRNA in pancreatic cancer [J]. Acad J Chin PLA Med Sch, 2021, 42 (10): 1118-1123.

胰腺癌 (pancreatic cancer, PC) 是人类恶性程度最高的肿瘤之一^[1]。其最主要的病理类型是导管腺癌 (pancreatic ductal adenocarcinoma, PDAC), 约占 85%^[2]。胰腺癌具有高度的侵袭性, 以病死率高、预后差为特点, 中位生存期为 3~6 个月, 目前 5 年总生存率为 8% 左右^[3-4]。胰腺癌仅占所有癌症发病数的 2%, 但却占癌症相关死亡人数的 5%, 在无症状癌症中居于首位^[5]。近年来, 其发病率逐渐上升, 根据西方国家的统计, 预计到

2030 年, 胰腺癌将超过乳腺癌、前列腺癌和结直肠癌, 成为仅次于肺癌的第二大癌症相关死亡原因^[6]。目前中国每年的胰腺癌新发病例数和死亡人数均已经超过了美国, 胰腺癌的健康负担逐年增加^[3]。现阶段手术切除仍是胰腺癌最有效的治疗措施^[7]。然而, 由于胰腺癌早期症状并无特异性, 同时又缺乏有效的筛查策略, 仅 15%~20% 的患者能够接受手术切除, 其余 80%~85% 的患者在发现时即为转移性或局部晚期而失去手术机会, 因此寻找一种行之有效的早期诊断方法和靶向治疗策略是当下的迫切需求^[8]。随着基因芯片和 RNA 测序技术 (RNA-seq) 的发展, 研究发现大量环状 RNA(circular RNA, circRNA) 在胰腺癌组织和胰腺癌细胞系中表达异常, 并且通过调控下游靶分子如微小 RNA(micro RNA, miRNA) 或

收稿日期: 2021-05-16

基金项目: 吴阶平医学基金 (320.6750.11010)

Supported by the Wu Jieping Medical Foundation (320.6750.11010)

作者简介: 王砚伟, 男, 在读硕士。研究方向: 胰腺癌的诊断和治疗。Email: yw15619391862@163.com

通信作者: 梁雨荣, 男, 副主任医师, 副教授。Email: yurongliang@hotmail.com

RNA 结合蛋白 (RNA-binding protein, RBP) 参与胰腺癌的发生、发展、耐药、自噬及免疫逃逸, 并与肿瘤 TNM 分期及患者的预后相关, 有潜力成为胰腺癌诊断和治疗的靶点, 为胰腺癌的诊治带来了希望^[9]。本文对胰腺癌组织中异常表达的 circRNA 展开讨论, 总结了其生物学特性和作用机制, 并对其应用前景进行了探讨。

1 circRNA 的结构和功能

共价闭合 circRNA 最初在植物类病毒、酵母线粒体和 D 型肝炎病毒中被发现, 一度被认为是错误剪接的产物, 直到近些年其重要性才逐渐被发现并深入研究^[10]。circRNA 是一类长度为 200~2 000 bp 的特殊非编码 RNA 分子, 属于长链非编码 RNA(long noncoding RNA, lncRNA) 的一种^[11]。不同于典型的线性 RNA, circRNA 是信使 RNA(messenger RNA, mRNA) 前体反向剪接并由共价键连接的封闭环状结构^[12]。根据其来源不同, 可分为外显子 circRNA、内含子 circRNA、外显子-内含子 circRNA 以及基因间 circRNA, 其中外显子来源的 circRNA 占绝大多数^[9]。由于 circRNA 分子是封闭的环状结构, 不具备 5'端帽子和 3'端 poly(A) 尾, 因而不易被 RNA 酶水解, 具有十分稳定的结构, 可以广泛存在于外泌体和血浆中, 具有高度的保守性和组织特异性^[13-14]。

circRNA 的生物学功能: 1) 作为 miRNA 海绵 (sponge)。由于 circRNA 含有丰富的 miRNA 结合位点, 可以充当竞争性内源 RNA(competing endogenous RNA, ceRNA), 吸附 miRNA, 抑制其与下游靶基因的结合, 从而间接地调节靶基因的表达水平^[15]。2) 与 RNA 结合蛋白 (RNA-binding protein, RBP) 相互作用。一些 circRNA 可以与 RBP 结合形成 RNA-蛋白复合物, 如 circ-Foxo3 和 circ-MBL, circ-Foxo3 能够与多种类型的蛋白质结合, 通过与 CDK2、P21 相互作用抑制细胞周期, 阻断细胞从 G₁ 期向 S 期的过渡, 调控细胞的增殖^[9]。3) 调节基因转录。有研究发现, 一部分定位于细胞核中的 circRNA, 如 circ-EIF3J 和 circ-PAIP2, 可以与抗 U1 小核糖核蛋白抗体 (U1 snRNP) 结合, 进一步与 RNA 聚合酶 II (RNA Pol II) 相互作用, 上调其亲本基因的表达^[16]。4) 蛋白质翻译。有研究报道显示, 少数环状 RNA 具有翻译成蛋白质的潜力, 如 circ-ZNF609 在内部核糖体进入位点 (IRES) 的驱动下, 可以翻译小鼠成肌细胞中的蛋白, 这对 circRNA 是非编码 RNA 的传统观念提出了质疑^[17]。

2 胰腺癌领域相关的 circRNA

2.1 circNFIB1 circNFIB1 在 circBase 中的代码为 hsa_circ_0086375, 定位于 chr9: 14146687-14155892。由于其来源于核因子 I/B(NFIB) 基因位点的第 16~18 外显子, 因此被命名为 circNFIB1^[18]。Kong 等^[18]分析了 160 例胰腺癌标本的 circNFIB1 表达, 发现淋巴结转移和高 TMN 分期的患者 circNFIB1 表达水平较低; qRT-PCR 分析显示, 与配对的原发灶相比, 淋巴结转移瘤细胞中的 circNFIB1 水平更低, 提示 circNFIB1 表达水平与淋巴转移呈负相关。在进一步的体外实验中, 利用 siRNAs 沉默 circNFIB1, 与对照组相比, 人淋巴管内皮细胞的管腔形成和迁移能力明显增强; Transwell 实验也表明, circNFIB1 基因沉默促进了 PANC-1、CAPAN-2 和 SW1990 细胞的迁移能力; 以上结果表明 circNFIB1 抑制了胰腺癌细胞的转移^[18]。荧光原位杂交技术 (FISH) 和亚细胞分离实验表明, circNFIB1 主要位于细胞质中, 细胞质定位的 circRNA 主要作为 ceRNA 发挥作用, 并参与转录后调控^[18]。Pull-down 实验表明, 在 Capan-2 和 PANC-1 细胞中, miR486-5p 被 circNFIB1 富集; 荧光素酶报告实验表明, 与对照组相比, miR-486-5p 过表达显著降低了 circNFIB1 的荧光素酶活性; FISH 分析也证实了 circNFIB1 和 miR-486-5p 在肿瘤细胞胞质中的共同定位, 均提示 circNFIB1 靶向 miR-486-5p 发挥抑瘤作用^[18]。进一步研究表明磷脂酰肌醇 3-激酶 (PIK3R1) 与 miR-486-5p 存在互补序列, 二者在 PDAC 细胞中呈负性共表达^[18]。PIK3R1 是 PI3K 的受体单位, 此前有报道称其抑制 PI3K/Akt 信号通路的激活, 从而抑制肿瘤进展^[19]。血管内皮生长因子-C(vascular endothelial growth factor-C, VEGF-C) 是淋巴管生成所必需的, 前期研究表明 VEGF-C 是 PI3K/Akt 信号通路的下游调节因子, qRT-PCR 分析显示, 胰腺癌细胞中 VEGF-C 的表达水平在 circNFIB1 被沉默后增加^[18]。综上, circNFIB1 可通过海绵作用吸附 miR-486-5p, 进而上调 PIK3R1 的表达水平, 抑制 PI3K/Akt 通路, 进一步下调 VEGF-C 的表达, 抑制肿瘤淋巴转移^[18]。

2.2 Hsa_circ_100782 circRNA_100782 定位于 chr11: 33307958-33309057, 序列长度为 1 099 nt^[20]。Chen 等^[20]通过 qRT-PCR 研究了 circRNA_100782 在正常胰腺上皮细胞系 (human pancreatic duct epithelial cells, HPDE) 和 BxPC3 细胞系之间的表达, 发现其在 BxPC3 细胞中显著高表达。在随后

的基因敲除实验中, 利用 siRNA 沉默 circRNA_100782, CCK-8 和集落形成实验表明 circRNA_100782 敲除 BxPC3 细胞系的增殖和集落形成能力显著减弱, 表明 circRNA_100782 是肿瘤细胞增殖的正向调节因子^[20]。通过 TargetScan 数据库推测 miR-124 具有 circRNA_100782 的结合位点^[20], 既往有研究表明, miR-124 通过靶向白细胞介素 6 受体 (interleukin-6 receptor, IL6R) 和信号转导与转录激活因子 3(signal transducer and activator of transcription 3, STAT3) 在食管癌、肝细胞癌和胰腺癌等多种癌症中发挥抗肿瘤效应^[21]。Western blot 结果表明, IL6-JAK2-STAT3 信号通路与胰腺癌的细胞增殖有关, STAT3 主要受上游 IL6R 的调控, IL6R 的激活促进下游非受体酪氨酸激酶 2(Janus kinase 2, JAK2) 蛋白磷酸化, 磷酸化的 JAK2 蛋白进一步活化下游 STAT3, 增强了细胞增殖能力, 促进肿瘤的发生和转移^[20]。前期研究发现, miR-124 通过直接靶向 IL6R 和 STAT3 的 3'-UTR 发挥作用, 过表达的 miR-124 可显著下调 IL6R、p-JAK2、STAT3 和 p-STAT3 的表达水平, 进而抑制肿瘤增殖^[21]。以上研究证实 circRNA_100782 能够与 miR-124 结合并抑制其活性, 进而激活 IL6R 和 STAT3, 促进肿瘤的增殖、侵袭和转移。

2.3 circ_0030235 circ_0030235 定位于 chr13:49075877e49077050, 基因符号为 RCBTB2^[22]。高通量 circRNA 微阵列结果显示, 与配对的非癌组织相比, circ_0030235 在胰腺癌组织样本中过表达^[23]。Xu 等^[22]的研究表明, circ_0030235 的表达水平与肿瘤分期 ($P=0.001$)、淋巴结浸润 ($P=0.013$) 呈正相关, 与患者的长期预后呈负相关 ($P=0.010$)^[22]。CCK-8 实验、集落形成实验以及流式细胞仪检测结果表明, circ_0030235 被沉默后, PANC1 细胞系的增殖和集落形成能力显著下降, 凋亡明显增多^[22]。进一步研究表明, circ_0030235 通过靶向 miR-1253 和 miR-1294 发挥促癌作用。在此前的研究中, miR-1253 和 miR-1294 已被验证在多种癌症中发挥肿瘤抑制效应^[22]。Liu 等^[24]研究发现 miR-1253 通过靶向 Wnt5A 抑制非小细胞肺癌的生长和侵袭。Shi 等^[25]研究报道了 miR-1294 在胃癌组织中的表达明显低于相邻正常组织, 且其表达水平与肿瘤直径、淋巴结转移和远处转移等临床病理参数相关。Wang 等^[26]发现 miR-1294 通过靶向 c-Myc 抑制口腔鳞状细胞癌的增殖和转移。综上, circ_0030235 作为 miR-1253

和 miR-1294 的分子海绵, 下调二者在肿瘤组织中表达水平, 减弱其抑癌效应, 进而促进肿瘤细胞的增殖、侵袭和转移。

2.4 circRNA_000864 circRNA_000864 在 circBase 中的代码为 hsa_circ_0000662, 基因定位于 chr16:398402-398484, 基因组长度为 82 nt。Huang 等^[27]通过 RT-qPCR 检测了 circRNA_000864 在 59 例胰腺癌组织及配对的癌旁正常组织中的表达, 结果显示, circRNA_000864 在胰腺癌组织中的表达低于癌旁正常组织 ($P < 0.05$), 且与 TMN 分期有关。为了进一步评估 circRNA_000864 是否影响胰腺癌细胞的生物学功能, 用 oe-circRNA_000864 质粒转染 AsPC-1 细胞, 使 circRNA_000864 表达增加, 随后的 Transwell、流式细胞检测显示, 实验组细胞增殖、迁移和侵袭能力下降, 凋亡增加^[27]。circInteractome 数据库预测 circRNA_000864 与 miR-361-3p 之间存在结合位点, 双荧光素酶报告实验进一步验证了二者的靶向关系^[27]。EDU 试验、Transwell 试验和流式细胞仪检测显示, 用 miR-361-3p 模拟物转染 ASPC-1 细胞系后, 阻滞于 G₀/G₁ 期的细胞比例下降, S 期细胞的比例上升, 细胞迁移和侵袭增多, 凋亡减少, 而 oe-circRNA_000864 转染可逆转这些效应^[27]。TargetScan 数据库预测显示 miR-361-3p 在胰腺癌细胞中与 B 细胞异位基因 2(B-cell translocation gene 2, BTG2) 有结合位点, 可以与 BTG2 的 3'-UTR 区特异性结合^[27]。在既往研究中, BTG2 被认为是一种肿瘤抑制基因, Huang 等^[28]报道过表达的 BTG2 可显著抑制肝癌细胞的增殖和集落形成能力, 提高肿瘤细胞对 5-氟尿嘧啶的敏感度; Zhou 等^[29]研究发现 BTG2 是 miR-27a-3p 在胃癌中的直接作用靶点, 过表达的 BTG2 可触发细胞 G₁/S 期阻滞, 诱导凋亡。

2.5 circ-ASH2L Chen 等^[30]通过对 25 组胰腺癌组织和癌旁正常组织进行 qRT-PCR 分析发现, circ-ASH2L 在胰腺癌组织中的表达增高, 并且与淋巴浸润、TNM 分期和远期生存率显著相关。CCK-8 和 Transwell 试验表明, 在胰腺癌细胞系 Capan-1 及 AsPC-1 中上调 circ-ASH2L 的表达可促进其增殖和侵袭; 流式细胞仪分析显示, 在 AsPC-1 细胞中过表达 circ-ASH2L 后, 停滞在 G₁ 期的细胞减少, 在 Capan-1 细胞中, 沉默 circ-ASH2L 可使更多的细胞被阻滞在 G₁ 期^[30]。为了进一步检测 circ-ASH2L 在血管生成中的作用, 用 circ-ASH2L 转染人脐静脉内皮细胞, 与对照组相比, 其管状

结构的生成明显增多^[30]。使用 miRanda 工具对 circ-ASH2L 的潜在靶点进行预测, 并进行了 qRT-PCR 分析, 结果表明 miR-34a 是 circ-ASH2L 最可能的作用靶点, 随后的生物信息学分析和双荧光素酶报告实验也证明了这一点^[30]。已有研究报道 miR-34a 可以通过调节 Notch1 的表达, 作用于 P21、c-MET、SNAIL 和 VEGF 信号通路调节细胞周期, 促进包括乳腺癌、胰腺癌在内的多种肿瘤的增殖、侵袭、迁移和血管生成^[31-32]。Western blot 实验表明, circ-ASH2L 可以上调 Capan-1 和 AsPC-1 细胞 Notch1 的表达, 而 miR-34a 可降低 Notch1 的表达, 并且 miR-34a 所介导的抑制作用可以被 circ-ASH2L 所逆转^[30]。因此, circ-ASH2L 通过作为 miR-34a 的 ceRNA, 靶向 Notch1 通路, 调节 P21、c-MET、SNAIL 和 VEGF 的表达, 最终促进肿瘤的增殖、侵袭和血管生成。

2.6 circ-ADAM9 Xing 等^[33] 研究表明丝氨酸蛋白酶 3 (serine protease 3, PRSS3) 在胰腺癌细胞系和组织中的表达显著增加, 并与肿瘤的侵袭性呈正相关。通过对 Targetscan 和 miRanda 数据库的分析发现 PRSS3 的 3'-UTR 与 miR-217 之间存在互补序列, 荧光素酶报告基因检测表明, miR-217 过表达显著降低了野生型载体的荧光素酶活性, 但对突变型载体的荧光素酶活性没有影响, 验证了 PRSS3 3'-UTR 中的“UGCAGU”序列是 miR-217 针对 PRSS3 的作用位点^[33]。与邻近正常组织相比, miR-217 在胰腺癌组织中的表达显著下调, 并且与临床分期、淋巴结转移以及预后相关, 提示 miR-217 是肿瘤发生过程中一个重要的异常 miRNA, 其下调可能是导致 PRSS3 过表达的原因之一^[33]。在进一步的实验中, miR-217 的敲除增加了 PC 细胞中 PRSS3 的表达, miR-217 沉默的 MiaPaca2 细胞系表现出较对照细胞更强的增殖、迁移和侵袭能力, 并且这些效应随着 PRSS3 基因敲除而减弱^[33]。RNA Pull-down 分析和荧光素酶报告实验表明 circ-ADAM9 与 miR-217 关系密切, 在胰腺癌组织中 circ-ADAM9 的表达明显高于匹配的非癌组织, 且与 TNM 分期、淋巴结转移以及预后相关^[33]。qRT-PCR 和 Western blot 结果显示, circ-ADAM9 的过表达显著提高了 PRSS3 的表达水平, 并且这种现象可被 miR-217 的表达所抑制; 相反, circ-ADAM9 的敲除显著降低了 PRSS3 的表达, 而 miR-217 的缺失可以挽救这一现象^[33]。此前已有研究表明 PRSS3 是一种促癌基因, 能够通过激活 ERK/VEGF 通路促进

胰腺癌细胞的增殖和转移^[34]。

2.7 circBFAR circBFAR 在 circBase 中的代码为 hsa_circ_0009065, 序列长度为 336 nt, 由于其来源于 BFAR 基因外显子 2, 被命名为称为 circBFAR^[35]。Guo 等^[35] 通过对 6 对胰腺癌样本和匹配的癌旁正常组织样本进行微阵列分析, 筛选出了 20 个可能存在异常表达的 circRNA, 之后在含有 208 例 PDAC 患者的队列中进行进一步验证, 发现只有 circBFAR 的表达差异有统计学意义。集落形成实验和 Transwell 实验表明, circBFAR 能促进体外肿瘤细胞的增殖和迁移; 体内实验表明, 与对照组裸鼠相比, circBFAR 基因敲除的裸鼠肿瘤重量和体积更小, Ki-67 水平较低^[35]。Pull-down 实验和荧光素酶报告实验均表明 miR-34b-5p 是 PANC-1 和 BxPC-3 细胞中唯一与 circBFAR 特异性结合的 miRNA, qRT-PCR 分析也进一步证实, 胰腺癌组织中 miR-34b-5p 的表达明显低于癌旁正常组织, 且与 TNM 分期呈负相关^[35]。进一步的研究表明, 胰腺癌细胞中 miR-34b-5p 过表达和 circBFAR 敲低均显著下调了间充质-上皮转化因子 (mesenchymal to epithelial transition factor, MET) 的表达^[35]。MET 被认为是一种关键的酪氨酸激酶, 在细胞增殖过程中发挥着重要作用, 既往有研究表明, MET 在胰腺癌细胞中过表达, 对肿瘤的发生和发展起促进作用^[36]。Western blot 结果表明, miR-34b-5p 的过表达或 circBFAR 的敲除都显著降低了 MET 及其下游信号转导蛋白磷酸化 Akt (蛋白激酶 B, PKB) 的水平 (Ser 473), 而对总 Akt 的水平无明显影响^[35]。因此, circBFAR 通过作为 miR-34b-5p 的分子海绵, 异常激活 MET/Akt 通路, 进而促进胰腺癌细胞的增殖和转移。

2.8 circSFMBT1 circSFMBT1 在 circBase 中的代码为 hsa_circ_0066147, 序列长度为 234 bp, 来源于 SFMBT1 基因第 9~10 外显子^[37]。Xu 等^[37] 通过对 32 例胰腺肿瘤标本和邻近非肿瘤对照标本进行 qRT-PCR 分析发现, 肿瘤样本中的 circSFMBT1 和 P21-激活激酶 1 (PAK1) 水平显著上调, 而 miR-330-5p 水平下调, 同样的结果在 4 个胰腺癌细胞系 (PANC-1、AsPC-1、Capan1 和 BxPC-3) 和 HPDE 中得到了印证。生物信息学分析 (基于 CircInteractome 数据库) 和双荧光素酶报告实验表明 circSFMBT1 和 miR-330-5p 之间存在互补的结合位点^[37]。以 sh-circSFMBT1 转染胰腺癌细胞进行基因敲除, 结果表明, 与转染 shNC 的对照组相比, 实验组细胞 miR-330-5p 的表达水平升高, 细

胞形成的集落数目减少, 凋亡百分率升高, 同时, Western blot 结果显示, 敲除 circSFMBT1 显著降低了胰腺癌细胞中增殖相关蛋白的水平, 包括 CyclinD1、c-Myc、Ki-67 和 Bcl-2, 上调了凋亡相关蛋白的水平, 如 Bax^[37]。进一步的研究表明, miR-330-5p 在 PC 细胞中的表达显著降低了 PAK1 的表达水平, 通过生物信息学分析, 初步确定了 miR-330-5p 和 PAK1 mRNA 之间存在互补的结合位点, 双荧光素酶报告实验则直接证实了二者的相互作用^[37]。PAK1 是丝-苏氨酸激酶家族的成员之一, 在调节细胞骨架重构等生物学过程中起着关键作用, 先前的研究表明 PAK1 能够促进上皮-间充质转化, 进而导致肿瘤的进展和转移, PAK1 通过激活丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 和 MET 促进乳腺癌的恶性转变^[38]。综上, circSFMBT1 作为 miR-330-5p 的分子海绵, 下调 miR-330-5p 的表达, 解除了其对 PAK1 信号通路的抑制, 最终激活 MAPK 和 MET, 从而促进了胰腺癌的增殖、进展和转移。

2.9 circEIF6 circEIF6 又被称为 circRNA 真核起始因子 6, 在 circBase 中的代码为 hsa_circ_0060055^[39]。Zhang 等^[39]通过对 39 例胰腺肿瘤组织及与之配对的癌旁正常组织进行 qRT-PCR 分析发现, 在胰腺癌组织中 circEIF6 的表达显著增强, 且与 TNM 分期呈正相关, 在诊断实验中 ROC 曲线下面积 (AUC) 为 0.909 3 (95% CI: 0.845 ~ 0.973 5), 表明 circEIF6 对于胰腺癌具有一定的诊断价值^[39]。在基因敲除实验中, 用 siRNA 沉默 circEIF6, 结果表明, 与转染 si-NC 的对照组细胞相比, 实验组细胞增殖能力减弱, 迁移和侵袭能力也受到明显抑制, 细胞凋亡增加^[39]。生物信息学检测和荧光素酶报告实验表明 circEIF6 与 miR-557 之间存在相互作用的靶点^[39]。根据之前的报道, miR-557 可以抑制胰腺癌和肺癌的发展。Yang 等^[40]的研究证明 miR-557 过表达通过靶向表皮生长因子受体抑制了胰腺癌细胞的增殖和侵袭能力。Zhang 等^[39]的研究表明, miR-557 沉默可逆转由于 circEIF6 敲除所导致的肿瘤细胞增殖抑制, 细胞的迁移和侵袭能力也提高, 细胞凋亡减少。qRT-PCR 和荧光素酶报告实验提示 miR-557 与溶质载体家族 7 成员 11 (SLC7A11) 存在相互作用的靶点, 在胰腺肿瘤组织中 SLC7A11 的表达高于癌旁正常组织, 并且在两种胰腺癌细胞系 (Hs 766T 和 SW1990) 中 SLC7A11 的表达水平也明

显高于 HPDE, 与 miR-557 的表达呈负相关, 与 circEIF6 的表达呈正相关^[39]。miR-557 过表达可显著抑制胰腺癌细胞的增殖、迁移和侵袭能力, 而 SLC7A11 转染可减弱这些抑制作用, 减少肿瘤细胞凋亡^[39]。进一步的研究表明, miR-557 过表达下调胰腺癌细胞中磷酸化蛋白激酶 B (PKB, Akt) 和磷脂酰肌醇 3-激酶 (PI3K) 的水平, 而导入 SLC7A11 质粒后, 胰腺癌细胞中 p-Akt/Akt 和 p-PI3K/PI3K 水平基本恢复, 提示 miR-557 通过靶向 SLC7A11 抑制了 PI3K/Akt 通路的活性和恶性潜能^[39]。

3 结论

尽管目前用于胰腺癌诊断和治疗的 circRNA 还处于研究起步阶段, 但已经取得了一些初步的进展, 已有研究证实胰腺癌组织与癌旁组织的 circRNAs 的表达谱有显著差异。进一步研究表明, 胰腺癌中的 circRNAs 可以通过与 miRNAs 结合, 作用于不同的信号轴, 调节肿瘤细胞的侵袭、转移、免疫逃逸和化疗耐药等行为, 识别这些信号通路可能为胰腺癌的治疗提供新的靶点。然而, 目前尚缺乏强有力的动物实验和临床研究证据证实 circRNAs 在临床诊断和治疗中的确切作用, 且 circRNA 在胰腺癌的发生和进展中的作用机制还有待进一步研究。鉴于 circRNA 的独特优势和广泛功能, 笔者认为 circRNA 在胰腺癌的早期诊断和靶向治疗方面具有广阔的应用前景。

参考文献

- 1 Zhou B, Xu JW, Cheng YG, et al. Early detection of pancreatic cancer: Where are we now and where are we going? [J]. *Int J Cancer*, 2017, 141 (2): 231-241.
- 2 Ilic M, Ilic I. Epidemiology of pancreatic cancer [J]. *World J Gastroenterol*, 2016, 22 (44): 9694-9705.
- 3 Lin QJ, Yang F, Jin C, et al. Current status and progress of pancreatic cancer in China [J]. *World J Gastroenterol*, 2015, 21 (26): 7988-8003.
- 4 Ansari D, Tingstedt B, Andersson B, et al. Pancreatic cancer: yesterday, today and tomorrow [J]. *Future Oncol*, 2016, 12 (16): 1929-1946.
- 5 Goral V. Pancreatic cancer: pathogenesis and diagnosis [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2015, 16 (14): 5619-5624.
- 6 Ducreux M, Seufferlein T, van Laethem JL, et al. Systemic treatment of pancreatic cancer revisited [J]. *Semin Oncol*, 2019, 46 (1): 28-38.
- 7 赵玉沛, 张太平, 吴文铭, 等. 中国胰腺癌新辅助治疗指南 (2020版) [J]. *协和医学杂志*, 2020, 11 (5): 547-558.
- 8 McGuigan A, Kelly P, Turkington RC, et al. Pancreatic cancer: a review of clinical diagnosis, epidemiology, treatment and outcomes [J]. *World J Gastroenterol*, 2018, 24 (43): 4846-4861.
- 9 Meng SJ, Zhou HC, Feng ZY, et al. CircRNA: functions and properties of a novel potential biomarker for cancer [J]. *Mol*

- Cancer, 2017, 16 (1): 1-8.
- 10 Chen LL, Yang L. Regulation of circRNA biogenesis [J]. *RNA Biol*, 2015, 12 (4): 381-388.
 - 11 Zhang HD, Jiang LH, Sun DW, et al. CircRNA: a novel type of biomarker for cancer [J]. *Breast Cancer*, 2018, 25 (1): 1-7.
 - 12 Fathizadeh H, Hallajzadeh J, Asemi Z. Circular RNAs as diagnostic biomarker in pancreatic cancer [J]. *Pathol Res Pract*, 2020, 216 (9): 153075.
 - 13 Li J, Yang J, Zhou P, et al. Circular RNAs in cancer: novel insights into origins, properties, functions and implications [J]. *Am J Cancer Res*, 2015, 5 (2): 472-480.
 - 14 Jiang PC, Bu SR. Clinical value of circular RNAs and autophagy-related miRNAs in the diagnosis and treatment of pancreatic cancer [J]. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*, 2019, 18 (6): 511-516.
 - 15 余昊, 王刚, 孙备. 环状RNA和癌症 [J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2018, 25 (9): 940-944.
 - 16 Li ZY, 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.
 - 17 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.
 - 18 Kong Y, Li YT, Luo YM, et al. circNFIB1 inhibits lymphangiogenesis and lymphatic metastasis via the miR-486-5p/PIK3R1/VEGF-C axis in pancreatic cancer [J]. *Mol Cancer*, 2020, 19 (1): 1-17.
 - 19 郭金兰, 甘才斌, 张洁, 等. miR-17-5p靶向PI3K/AKT信号通路调控皮肤鳞状细胞癌细胞增殖、凋亡的机制 [J]. *中国老年学杂志*, 2021, 41 (12): 2599-2603.
 - 20 Chen G, Shi Y, Zhang Y, et al. CircRNA_100782 regulates pancreatic carcinoma proliferation through the IL6-STAT3 pathway [J]. *Onco Targets Ther*, 2017, 10: 5783-5794.
 - 21 Xiao YT, Wang J, Yan WH, et al. Dysregulated miR-124 and miR-200 expression contribute to cholangiocyte proliferation in the cholestatic liver by targeting IL-6/STAT3 signalling [J]. *J Hepatol*, 2015, 62 (4): 889-896.
 - 22 Xu Y, Yao Y, Gao P, et al. Upregulated circular RNA circ_0030235 predicts unfavorable prognosis in pancreatic ductal adenocarcinoma and facilitates cell progression by sponging miR-1253 and miR-1294 [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 509 (1): 138-142.
 - 23 Li H, Hao X, Wang H, et al. Circular RNA expression profile of pancreatic ductal adenocarcinoma revealed by microarray [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2016, 40 (6): 1334-1344.
 - 24 Liu MY, Zhang Y, Zhang J, et al. MicroRNA-1253 suppresses cell proliferation and invasion of non-small-cell lung carcinoma by targeting WNT5A [J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9 (2): 1-14.
 - 25 Shi YX, Ye BL, Hu BR, et al. Expression of miR-1294 is downregulated and predicts a poor prognosis in gastric cancer [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018, 22 (17): 5525-5530.
 - 26 Wang ZJ, Yan JS, Zou TQ, et al. MicroRNA-1294 inhibited oral squamous cell carcinoma growth by targeting c-Myc [J]. *Oncol Lett*, 2018, 16 (2): 2243-2250.
 - 27 Huang LS, Han JX, Yu HF, et al. CircRNA_000864 upregulates B-cell translocation gene 2 expression and represses migration and invasion in pancreatic cancer cells by binding to miR-361-3p [J]. *Front Oncol*, 2020, 10: 547942.
 - 28 Huang CS, Zhai JM, Zhu XX, et al. BTG2 is down-regulated and inhibits cancer stem cell-like features of side population cells in hepatocellular carcinoma [J]. *Dig Dis Sci*, 2017, 62 (12): 3501-3510.
 - 29 Zhou L, Liang X, Zhang LL, et al. MiR-27a-3p functions as an oncogene in gastric cancer by targeting BTG2 [J]. *Oncotarget*, 2016, 7 (32): 51943-51954.
 - 30 Chen Y, Li ZH, Zhang MY, et al. Circ-ASH2L promotes tumor progression by sponging miR-34a to regulate Notch1 in pancreatic ductal adenocarcinoma [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2019, 38 (1): 1-15.
 - 31 Tang Y, Tang Y, Cheng YS. miR-34a inhibits pancreatic cancer progression through Snail1-mediated epithelial-mesenchymal transition and the Notch signaling pathway [J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 38232.
 - 32 Rui XP, Zhao HB, Xiao XQ, et al. MicroRNA-34a suppresses breast cancer cell proliferation and invasion by targeting Notch1 [J]. *Exp Ther Med*, 2018, 16 (6): 4387-4392.
 - 33 Xing CJ, Ye H, Wang WW, et al. Circular RNA ADAM9 facilitates the malignant behaviours of pancreatic cancer by sponging miR-217 and upregulating PRSS3 expression [J]. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 2019, 47 (1): 3920-3928.
 - 34 Jiang G, Cao F, Ren G, et al. PRSS3 promotes tumour growth and metastasis of human pancreatic cancer [J]. *Gut*, 2010, 59 (11): 1535-1544.
 - 35 Guo XF, Zhou QB, Su D, et al. Circular RNA circBFAR promotes the progression of pancreatic ductal adenocarcinoma via the miR-34b-5p/MET/Akt axis [J]. *Mol Cancer*, 2020, 19 (1): 1-18.
 - 36 Moosavi F, Giovannetti E, Saso L, et al. HGF/MET pathway aberrations as diagnostic, prognostic, and predictive biomarkers in human cancers [J]. *Crit Rev Clin Lab Sci*, 2019, 56 (8): 533-566.
 - 37 Xu S, Lei SL, Liu KJ, et al. circSFBMT1 promotes pancreatic cancer growth and metastasis via targeting miR-330-5p/PAK1 axis [J]. *Cancer Gene Ther*, 2021, 28 (3/4): 234-249.
 - 38 Shrestha Y, Schafer EJ, Boehm JS, et al. PAK1 is a breast cancer oncogene that coordinately activates MAPK and MET signaling [J]. *Oncogene*, 2012, 31 (29): 3397-3408.
 - 39 Zhang TQ, Li M, Lu HF, et al. Up-regulation of circEIF6 contributes to pancreatic cancer development through targeting miR-557/SLC7A11/PI3K/AKT signaling [J]. *Cancer Manag Res*, 2021, 13: 247-258.
 - 40 Yang Y, Sun KK, Shen XJ, et al. miR-557 inhibits the proliferation and invasion of pancreatic cancer cells by targeting EGFR [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2019, 12 (4): 1333-1341.