

环状 RNA 在三阴性乳腺癌中调控及临床意义的研究进展

黄馨仪, 刘 晓

(南京医科大学附属无锡人民医院, 江苏 无锡 214000)

摘 要: 非编码 RNA 中的环状 RNA (circular RNA, circRNA) 在三阴性乳腺癌的肿瘤发生及进展中起着突出的作用。全文总结与三阴性乳腺癌相关 circRNA 的生物学特点及调控机制与通路, 探讨其在影响药敏及调控代谢重编程中的作用, 以及作为治疗靶点及生物标志物的价值, 为三阴性乳腺癌临床诊断与治疗提供参考依据。

主题词: 环状 RNA; 三阴性乳腺癌; 药敏; 代谢重编程; 治疗靶点; 生物标志物

中图分类号: R737.9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2023)05-0425-05

doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2023.05.B013

Progress on the Regulating Effect of CircRNAs in Triple-Negative Breast Cancer

HUANG Xin-yi, LIU Xiao

(The Affiliated Wuxi People's Hospital of Nanjing Medical University, Wuxi 214000, China)

Abstract: Circular RNAs (circRNAs), a type of non-coding RNAs, play a prominent role in the tumorigenesis and progression of triple-negative breast cancer (TNBC). In this paper the biological characteristics, regulatory mechanisms and pathways of circRNAs associated with TNBC are summarized. The effects of circRNAs on drug sensitivity and metabolic reprogramming, and their value as therapeutic targets and biomarkers are discussed to provide reference for the clinical diagnosis and treatment of TNBC.

Subject words: circular RNA; triple-negative breast cancer; drug sensitivity; metabolic reprogramming; therapeutic targets; biomarkers

三阴性乳腺癌 (triple-negative breast cancer, TNBC) 约占所有乳腺癌病例的 15%~20%, 其特征是缺乏雌激素受体、孕激素受体的表达以及缺失人表皮生长因子受体 2 (human epidermal growth factor receptor, HER2) 的扩增, 是乳腺癌中的一种侵袭性亚型, 其特点是转移率高、复发风险高、时间早、预后差^[1]。近年来通过联合化疗、内分泌治疗及 HER2 靶向治疗等方法, 乳腺癌治疗已有实质性的改善, 然而, TNBC 由于缺乏可靠的特异性治疗策略, 且临床进展迅速, 生存时间基本无改善, 所以探索可靠的治疗靶点对 TNBC 患者尤为重要。

越来越多的证据表明, 非编码 RNA (non-coding RNA, ncRNA), 主要是微小 RNA (microRNA, miRNA)、

长非编码 RNA (long non-coding RNA, lncRNA) 和环状 RNA (circular RNA, circRNA) 在 TNBC 的肿瘤发生及进展中起着突出的作用^[2]。本文就 circRNA 在 TNBC 中调控及临床意义的进展作一综述。

1 circRNA 结构特征及特异性表达

与传统的线性 RNA 不同的是, circRNA 具有不受 RNA 核酸外切酶影响的闭环结构。circRNA 由 RNA 聚合酶 II 的前体信使 RNA 生成, 且通过该酶 3' 末端剪接位点与上游 5' 端剪接位点连接形成闭环, 即反向剪接。正因结构特殊且缺乏自由端, 其比线性 RNA 更稳定和保守^[3]。circRNA 具有高稳定性、高度细胞和组织特异性及高表达水平的特征, 并以组织特异性和发育阶段特异性表达发挥作用^[4]。

通信作者: 刘 晓, E-mail: liuxiaowuxi@126.com

收稿日期: 2023-03-05; 修回日期: 2023-03-31

circRNA 特异性表达的潜在原因有: ①不同器官中宿主基因表达可能与 circRNA 表达相互关联; ②特异性 circRNA 可能与组织细胞发育和分化中的功能有关; ③circRNA 的生物发生高度依赖于生物学环境, 受到不同顺式作用元件和反式作用因子的精确调控^[5]。基于对 circRNA 结构和特性的研究, 其在癌症中具有重要意义。

2 TNBC 中 circRNA 的调控机制与通路

在 TNBC 中, circRNA 具有多种调节作用, 包括作为 miRNA 海绵、与 RNA 结合蛋白(RNA binding protein, RBP)结合、翻译特定肽。circRNA 调控机制有: ①circRNA 竞争内源性 RNA, 通过作为 miRNA 海绵, 间接调节 miRNA 靶 mRNA 的表达。circRNA-miRNA-mRNA 调控网络已被证明在各种癌症的肿瘤基因调控中起着至关重要的作用^[6]。目前在 TNBC 中发现的 circRNA 作用主要基于其海绵化 miRNA 活性^[1]。②circRNA 可以直接与 RBP 相互作用, 通过与蛋白质结合及作用, 调节基因功能。其可作为蛋白质诱饵, 在适当的细胞位点与靶蛋白合作改变蛋白质的常规生理功能, 也可作为支架促进两种或多种蛋白质之间的接触^[5]。circCD44 可以直接与特定蛋白质 IGF2BP2 结合稳定 mRNA, C-Myc 是其关键靶标, 从而促进 TNBC 进展^[7]; circEIF3H 直接与发挥促癌作用的 IGF2BP2/HuR 结合, 并作为支架诱导 circEIF3H-IGF2BP2-HuR 复合物的形成, 从而稳定下游 mRNA^[8]。③配备初始密码子位点、开放阅读框和内部核糖体进入位点(internal ribosome entry site, IRES)元件的 circRNA 可以作为翻译模板来制造具有特定功能的特定肽^[1]。circ-EIF6 编码一种新型肽 EIF6-224aa, 直接与乳腺癌致癌基因 MYH9 相互作用, 促进 TNBC 细胞的增殖和迁移^[9]。其他肿瘤中, circRNA 参与调控基因转录及线性剪接竞争, 但 TNBC 中尚未发现。

TNBC 相关的 circRNA 参与调控癌症相关信号通路, 产生不同的生物作用。circ-EIF6、circ_0008784 等在 TNBC 细胞 mRNA 和蛋白质水平上调节与 Wnt/ β -catenin 途径相关的基因, 增加细胞增殖和侵袭能力^[9-10]。circWAC、circUBAP2 等通过 PI3K/AKT 通路调控 TNBC 肿瘤发生和化疗耐药性^[11-12]。circ-

SEPT9、circAR-E2E4 通过 STAT3 通路, 促进 TNBC 增殖分化及侵袭转移^[13-14]; circANKS1B 激活 TGF- β 1/Smad 信号传导, 诱导上皮间质转化, 促进 TNBC 转移^[15]; circMETTL3 通过 METTL3 信号传导在 TNBC 进展中起重要的肿瘤抑制作用^[16]; circ_0047303 作为 HIF-1 信号通路中关键基因的潜在调节因子, 促进 TNBC 血管生成和转移^[17]。circRNA 可直接或间接调节必需的细胞信号通路, 在 TNBC 发生及进展中扮演重要角色。

目前对于 TNBC 中 circRNA 作用的研究尚不足, 相关机制和调控方式需要验证和补充。

3 TNBC 中 circRNA 生物学功能

circRNA 在 TNBC 中的生物学功能包括通过控制基因表达来调节细胞增殖、迁移、血管形成等。最新研究表明, 其在影响药敏及调控代谢重编程中发挥重要作用, 可作为 TNBC 的治疗靶点。

3.1 影响 TNBC 药敏的 circRNA

circRNA 是 TNBC 耐药性的新型调节因子。例如, circINTS4 通过竞争性结合 miR-129-5p/POM121 轴, 影响耐药相关蛋白和自噬相关蛋白的水平, 其耗竭可遏制耐药 TNBC 细胞的进展^[18]。circUBAP2 在耐顺铂的 TNBC 细胞中上调, 竞争 miR-300 上调 ASF1B, 激活 PI3K/AKT/mTOR 途径以促进 TNBC 细胞的顺铂抗性^[12]。circRNA-CREIT 在化疗耐药 TNBC 细胞中显著性下调, 其异位过表达显著性增加化疗诱导的细胞凋亡^[19]。circRNA 也可以影响 TNBC 细胞对药物的敏感性。circWAC/miR-142/WWP1 轴调节 TNBC 细胞中的 PI3K/AKT 信号传导活性, 抑制 circWAC 可增加体内 TNBC 细胞对紫杉醇的敏感性^[11]。circDUSP1 通过 miR-761/DACT2 轴增加紫杉醇敏感性, 与 Wnt 信号通路有关^[20]; circRNA_0044556 则通过海绵化 miR-145 降低了 TNBC 细胞对阿霉素的敏感性^[21]。槐耳可以通过 eIF2 α 信号通路引出内质网应激相关免疫原性细胞死亡, 而 circCLASP1 通过与细胞质中双链 RNA 依赖的蛋白质激酶结合阻止其降解, 参与槐耳诱导的免疫原性^[22]。

探索与药敏相关的 circRNA 对于寻找 TNBC 临床治疗新方案很重要。单独或其他全身性治疗联合靶向作用于异常表达 circRNA 的治疗可能是克服

耐药性的一个新策略^[23]。尽管已发现 circRNA 有助于改善 TNBC 化疗药物耐药性、敏感性等,仍需要进一步研究来阐明其具体机制和功能。

3.2 调控 TNBC 代谢重编程的 circRNA

癌症代谢重编程的主要特征是糖酵解、谷氨酰胺分解、脂质代谢、线粒体生物生成等,与肿瘤的发生及进展相关^[24]。TNBC 中存在一些 circRNA 作用于代谢的靶标,影响癌细胞的能量代谢。

3.2.1 谷氨酰胺代谢

谷氨酰胺是产生核苷酸、脂质和蛋白质能量来源的重要底物,在肿瘤恶性转化过程中,需求显著增加以支持代谢需求^[25]。转运谷氨酰胺穿过细胞膜的转运蛋白属于 4 种不同的溶质载体(solute carriers, SLC)家族,包括 SLC1、SLC6、SLC7 和 SLC38。谷氨酰胺转运蛋白 SLC1A5 是细胞表面的溶质转运蛋白之一,在 TNBC 中高表达,增强细胞的谷氨酰胺摄取,从而促进肿瘤生长。circ_0062558 致癌作用归因于其与 miR-876-3p 和下游 SLC1A5 的相互作用,增强 TNBC 的谷氨酰胺代谢^[26]。

3.2.2 糖代谢

包括 TNBC 在内的许多癌症中发生糖代谢重编程是为了满足癌细胞快速生长的能量需求,即 Warburg 效应。一些糖酵解相关酶,如己糖激酶 2(hexo-kinase 2, HK2)、乳酸脱氢酶 A (lactate dehydrogenase A, LDHA) 和 M2 型丙酮酸激酶 (pyruvate kinase M2, PKM2)等,以及肿瘤存活生长所必需却经常失调的因子,如蛋白激酶 B 等,其异常表达均会导致糖酵解失调^[25,27]。circKIF4A 海绵化 miR-335,在 TNBC 细胞系和组织中过表达,导致 ALDOA/HK2 和 OCT4/PKM2 蛋白表达增加。ALDOA 和 OCT4 都是与葡萄糖摄入相关的代谢蛋白,对癌症进展起重要作用,分别调节 HK2 和 PKM2,影响葡萄糖的摄取和乳酸的产生^[28]。circ-CSNK1G1 通过 miR-28-5p/LDHA 途径促进 TNBC 细胞的糖酵解,敲除会导致葡萄糖消耗、乳酸产生和 ATP/ADP 率都显著性降低,阻断癌细胞增殖,抑制恶性表型^[29]。AKT3 已被证明在乳腺癌中充当癌基因, circWHSC1 则可以通过 miR-212-5p/AKT3 轴调节 TNBC 的恶性表型及糖酵解^[30]。

随着研究的深入, circRNA 与癌症代谢重编程的关联逐渐显现,其在氨基酸代谢、脂肪酸代谢等方面也具有调控作用,而在 TNBC 中暂未被发现,有待

进一步探究。circRNA 改变肿瘤代谢的新见解为 TNBC 治疗提供了新的策略。

3.3 circRNA 可作为 TNBC 的治疗靶点

circRNA 的失调参与 TNBC 的致癌和进展,可被确定为 TNBC 的治疗靶点。已开发出不同的方法过表达或敲低 circRNA,其中短发夹 RNA 和小干扰 RNA 已被广泛用于 circRNA 功能研究,以触发体外和体内各种 circRNA 的 RNA 干扰^[5]。circSEPT9 通过 circSEPT9/miR-637/LIF 轴促进 TNBC 致癌和发展^[13], circFAM64A 通过 circFAM64A/miR-149-5p/CDT1 轴增强 TNBC 细胞进程^[31],类似的许多发挥致癌作用的 circRNA 都可以通过抑制其表达的方式作为 TNBC 治疗靶点;而 circDUSP1、circMETTL3 等则起重要的肿瘤抑制作用,是治疗 TNBC 的潜在策略^[16,20]。

与 TNBC 化疗耐药性相关的 circRNA 干扰也可能促进 TNBC 患者对化疗的敏感性。可见, circRNA 作为 TNBC 治疗靶点的潜力。

4 TNBC 患者肿瘤组织和体液中 circRNA 表达的临床意义

circRNA 具备高稳定性和组织或细胞特异性表达,检测易行可重复等特点,同时与诊断、预后相关,并可预测患者对药物或其他治疗方式的反应^[5,32]。circRNA 可在 TNBC 组织中,与病理生理状况显著性相关。例如 circFAM64A 在 TNBC 组织中表达升高,充当 miR-149-5p 靶向作用于 CDT1 的海绵并使其过表达,与乳腺癌的临床分期呈正相关,与患者预后呈负相关^[31]。circCD44、circ-EIF6、circSEPT9 等均在 TNBC 组织中上调,与临床分期及预后等密切相关^[7,9,13]。而 circDUSP1、circMETTL3 等在 TNBC 组织中显著下调,具有潜在肿瘤抑制因子特征,其降低与淋巴结转移增加和较晚临床分期显著性相关^[16,20]。研究提示 circRNA 可能成为 TNBC 患者诊断和预后新的标志物。

外泌体是细胞外载体,广泛存在于血液和其他体液中,作为细胞间通讯的介质发挥作用。circRNA 在外泌体中富集,能够在各种生物体液中检测到,这使得液体活检方法成为可能,可预测包括 TNBC 在内的多种肿瘤的预后^[5,33]。TNBC 细胞中的 circHIF1A、circPSMA1、circRNA-CREIT 均可以包装成外泌体,

前两者表达水平升高,促进肿瘤的进展,circRNA-CREIT 则明显降低,影响其在细胞中传播阿霉素敏感性^[19,34-35]。研究证明了外泌体 circRNA 也可作为诊断 TNBC 及预测预后的有前途的非侵入性生物标志物。

circRNA 在 TNBC 发生发展中起着不可忽视的作用。circRNA 的特异性表达使其与疾病密切相关,了解 circRNA 的潜在功能,对于 TNBC 的诊断和治疗很重要。circRNA 通过不同的调控机制及通路在 TNBC 的进程中发挥作用,与药敏及代谢重编程显著性相关,展现了作为 TNBC 的治疗靶点和生物标志物的潜力。circRNA 应用于 TNBC 治疗处于起步阶段,将 circRNA 用于临床还需要更多基础研究和实验的积累。

参考文献:

- [1] Tian T, Zhao Y, Zheng J, et al. Circular RNA: a potential diagnostic, prognostic, and therapeutic biomarker for human triple-negative breast cancer[J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2021, 26: 63-80.
- [2] Mei J, Hao L, Wang H, et al. Systematic characterization of non-coding RNAs in triple-negative breast cancer[J]. *Cell Prolif*, 2020, 53(5): e12801.
- [3] Zhao X, Zhong Y, Wang X, et al. Advances in circular RNA and its applications[J]. *Int J Med Sci*, 2022, 19(6): 975-985.
- [4] Liang Y, Liu N, Yang L, et al. A brief review of circRNA biogenesis, detection, and function[J]. *Curr Genomics*, 2021, 22(7): 485-495.
- [5] Misir S, Wu N, Yang BB. Specific expression and functions of circular RNAs[J]. *Cell Death Differ*, 2022, 29(3): 481-491.
- [6] Zhang M, Bai X, Zeng X, et al. circRNA-miRNA-mRNA in breast cancer[J]. *Clin Chim Acta*, 2021, 523: 120-130.
- [7] Li J, Gao X, Zhang Z, et al. CircCD44 plays oncogenic roles in triple-negative breast cancer by modulating the miR-502-5p/KRAS and IGF2BP2/Myc axes[J]. *Mol Cancer*, 2021, 20(1): 138.
- [8] Song X, Chen B, Liang Y, et al. CircEIF3H-IGF2BP2-HuR scaffold complex promotes TNBC progression via stabilizing HSPD1/RBM8A/G3BP1 mRNA[J]. *Cell Death Discov*, 2022, 8(1): 261.
- [9] Li Y, Wang Z, Su P, et al. circ-EIF6 encodes EIF6-224aa to promote TNBC progression via stabilizing MYH9 and activating the Wnt/beta-catenin pathway[J]. *Mol Ther*, 2022, 30(1): 415-430.
- [10] Zhao Z, Han X, Nie C, et al. Circ_0008784 activates Wnt/beta-catenin pathway to affect the proliferation and apoptosis of triple-negative breast cancer cells[J]. *Pathol Res Pract*, 2022, 241: 154185.
- [11] Wang L, Zhou Y, Jiang L, et al. CircWAC induces chemotherapeutic resistance in triple-negative breast cancer by targeting miR-142, upregulating WWP1 and activating the PI3K/AKT pathway[J]. *Mol Cancer*, 2021, 20(1): 43.
- [12] Wang L, Yang X, Zhou F, et al. Circular RNA UBAP2 facilitates the cisplatin resistance of triple-negative breast cancer via microRNA-300/anti-silencing function 1B histone chaperone/PI3K/AKT/mTOR axis[J]. *Bioengineered*, 2022, 13(3): 7197-7208.
- [13] Zheng X, Huang M, Xing L, et al. The circRNA circSEPT9 mediated by E2F1 and EIF4A3 facilitates the carcinogenesis and development of triple-negative breast cancer[J]. *Mol Cancer*, 2020, 19(1): 73.
- [14] Xu H, Fang M, Zuo B, et al. circAR-E2E4-miR-665-STAT3 axis is a potential regulatory network in triple-negative breast cancer[J]. *Heliyon*, 2023, 9(1): e12654.
- [15] Vadlamudi Y, Dey DK, Kang SC. Emerging multi-cancer regulatory role of ESRP1: orchestration of alternative splicing to control EMT[J]. *Curr Cancer Drug Targets*, 2020, 20(9): 654-665.
- [16] Ruan HG, Gu WC, Xia W, et al. METTL3 is suppressed by circular RNA circMETTL3/miR-34c-3p signaling and limits the tumor growth and metastasis in triple negative breast cancer[J]. *Front Oncol*, 2021, 11: 778132.
- [17] Darbeheshti F, Mahdiannasser M, Noroozi Z, et al. Circular RNA-associated ceRNA network involved in HIF-1 signalling in triple-negative breast cancer: circ_0047303 as a potential key regulator[J]. *J Cell Mol Med*, 2021, 25(24): 11322-11332.
- [18] Tang Q, Zhou F, Yang C, et al. CircINTS4 facilitates chemoresistance of TNBC by competitively binding miR-129-5p/POM121 Axis[J]. *J Oncol*, 2022, 2022: 2630864.
- [19] Wang X, Chen T, Li C, et al. CircRNA-CREIT inhibits stress granule assembly and overcomes doxorubicin resistance in TNBC by destabilizing PKR[J]. *J Hematol Oncol*, 2022, 15(1): 122.
- [20] Huang S, Xie J, Lei S, et al. CircDUSP1 regulates tumor growth, metastasis, and paclitaxel sensitivity in triple-negative breast cancer by targeting miR-761/DACT2 signaling axis[J]. *Mol Carcinog*, 2023, 62(4): 450-463.

- [21] Chen J, Shi P, Zhang J, et al. CircRNA_0044556 diminishes the sensitivity of triple-negative breast cancer cells to adriamycin by sponging miR-145 and regulating NRAS[J]. Mol Med Rep, 2022, 25(2):51.
- [22] Li C, Wang X, Chen T, et al. Huaier induces immunogenic cell death via circCLASP1/PKR/eIF2alpha signaling pathway in triple negative breast cancer[J]. Front Cell Dev Biol, 2022, 10:913824.
- [23] Guo XQ, Hua YM. Circular RNAs: novel regulators of resistance to systemic treatments in breast cancer [J]. Neoplasma, 2022, 69(5): 1019–1028.
- [24] Schilero C, Firestein BL. Mechanisms of metabolic reprogramming in cancer cells supporting enhanced growth and proliferation[J]. Cells, 2021, 10(5):1056.
- [25] Abedi-Gaballu F, Kamal KE, Salehzadeh SA, et al. Metabolic pathways in breast cancer reprogramming: an insight to non-coding RNAs[J]. Cells, 2022, 11(19):2973.
- [26] Yuan M, Zhang J, He Y, et al. Circ_0062558 promotes growth, migration, and glutamine metabolism in triple-negative breast cancer by targeting the miR-876-3p/SLC1A5 axis[J]. Arch Gynecol Obstet, 2022, 306(5):1643–1655.
- [27] Martinez-Reyes I, Chandel NS. Cancer metabolism: looking forward[J]. Nat Rev Cancer, 2021, 21(10):669–680.
- [28] Huang J, Deng X, Chen X, et al. Circular RNA KIF4A promotes liver metastasis of breast cancer by reprogramming glucose metabolism[J]. J Oncol, 2022, 2022:8035083.
- [29] Zan X, Li W, Wang G, et al. Circ-CSNK1G1 promotes cell proliferation, migration, invasion and glycolysis metabolism during triple-negative breast cancer progression by modulating the miR-28-5p/LDHA pathway[J]. Reprod Biol Endocrinol, 2022, 20(1):138.
- [30] Ding L, Xie Z. CircWHSC1 regulates malignancy and glycolysis by the miR-212-5p/AKT3 pathway in triple-negative breast cancer[J]. Exp Mol Pathol, 2021, 123:104704.
- [31] Maimaiti Y, Zhang N, Zhang Y, et al. CircFAM64A enhances cellular processes in triple-negative breast cancer by targeting the miR-149-5p/CDT1 axis [J]. Environ Toxicol, 2022, 37(5):1081–1092.
- [32] Verduci L, Tarcitano E, Strano S, et al. CircRNAs: role in human diseases and potential use as biomarkers[J]. Cell Death Dis, 2021, 12(5):468.
- [33] Di Agostino S, Vahabi M, Turco C, et al. Secreted non-coding RNAs: functional impact on the tumor microenvironment and clinical relevance in triple-negative breast cancer[J]. Noncoding RNA, 2022, 8(1):5.
- [34] Yang SJ, Wang DD, Zhong SL, et al. Tumor-derived exosomal circPSMA1 facilitates the tumorigenesis, metastasis, and migration in triple-negative breast cancer (TNBC) through miR-637/Akt1/beta-catenin (cyclin D1) axis [J]. Cell Death Dis, 2021, 12(5):420.
- [35] Chen T, Wang X, Li C, et al. CircHIF1A regulated by FUS accelerates triple-negative breast cancer progression by modulating NFIB expression and translocation [J]. Oncogene, 2021, 40(15):2756–2771.

《肿瘤学杂志》关于论文中基金项目标注的要求

获得基金/课题、计划等资助的论文应在论文首页地脚以“基金项目:”作为标识,注明基金项目名称(标准的书面全称,避免使用不规范的口头缩略语),并在圆括号内注明其项目编号(基金项目批准文号)。

基金项目名称应按照国家有关部门规定的正式名称填写,多项基金应依据基金级别依次列出,其间以“;”隔开。同一基金涉及多个项目,其间以“,”隔开连排,句末不加标点。示例如下:

基金项目:国家自然科学基金(81774233,81602088);“十一五”国家高技术研究发展计划(2006AA05Z102);浙江省教育科学规划课题(2020SCG307)

凡是标注基金项目的论文,在投稿时应同时邮寄体现基金项目名称标准全称及批准文号的相关通知复印件(全文),或扫描件其电子文档以附件形式上传至投审稿系统。