

外泌体环状 RNA 在鳞状细胞癌中的表达及作用

武旭¹, 达林泰¹, 尚多², 周兴安², 德乐黑巴特尔²

(1. 呼和浩特市口腔医院, 内蒙古 呼和浩特 010020;

2. 内蒙古医科大学附属医院, 内蒙古 呼和浩特 010110)

摘要: 外泌体作为包含细胞内外相关蛋白质、编码及非编码 RNA、DNA 等物质的载体, 在多种恶性肿瘤中均有表达, 且过量生成的外泌体与恶性肿瘤发生显著相关。环状 RNA 为重要的调控基因表达的非编码 RNA, 与多种恶性肿瘤的发生及进展密切相关。全文就环状 RNA 的生物特性、功能及外泌体环状 RNA 在鳞状细胞癌中的表达及作用的研究进展作一综述。

主题词: 外泌体; 环状 RNA; 鳞状细胞癌

中图分类号: R730.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2024)03-0245-04

doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2024.03.B011

Expression and Roles of Exosomal Circular RNA in Squamous Cell Carcinoma

WU Xu¹, DA Lintai¹, SHANG Duo², ZHOU Xingan², DE Leheibateer²

(1. Hohhot Stomatological Hospital, Hohhot 010020, China;

2. The Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010110, China)

Abstract: Exosomes contain intracellular and extracellular proteins, coding and non-coding RNA, DNA and other substances, which are expressed in a variety of malignant tumors, and the excessive production of exosomes is related to the occurrence of malignant tumors. Circular RNA is an important non-coding RNA regulating gene expression, and is closely related to the occurrence and development of various malignant tumors. This paper reviews the research progress of the biological properties, functions and roles of exosomal circRNAs in squamous cell carcinoma.

Subject words: exosomes; circular RNA; squamous cell carcinoma

鳞状细胞癌, 又称鳞癌, 是从有鳞状上皮覆盖的皮肤或黏膜发展而来^[1], 是一种比较常见的恶性肿瘤。口腔颌面部的鳞癌约占颌面部恶性肿瘤的 60%^[2], 食管鳞癌的发病率约占食管癌的 90%^[3], 宫颈癌、皮肤癌中大多数病理类型也为鳞癌^[4-5]。目前大多数鳞癌患者在确诊时已发展为晚期, 治疗效果不佳、复发率高且预后差。因此寻找有效的诊断、预后标志物对改善不良现状至关重要。研究表明外泌体对鳞癌发生及进展起关键作用^[6]。外泌体是始于质膜内陷形成的内吞囊泡, 包含特定蛋白质、mRNA 和 microRNA 等, 可以调节受体细胞行为, 并可用作诊断人类疾病

的生物标志物。研究表明由反向剪接反应产生的一类单链共价连接的环状 RNA (circular RNA, circRNA) 在外泌体中富集。本文就外泌体 circRNA 的生物特性和功能, 以及其在鳞癌中的表达及作用的研究进展作一综述。

1 外泌体 circRNA 生物学功能

外泌体是内吞来源的纳米级细胞外囊泡, 直径约为 30~150 nm, 大多数类型的细胞可以产生外泌体并在血液、尿液、唾液和母乳等体液中循环^[8]。外泌体内容物由多种生长因子、蛋白质、脂质、核酸、lncRNA 和 circRNA 等组成。因此, 外泌体在细胞相互作用中发挥着关键的生物学作用, 并影响健康和疾病状态下的多种细胞活动。目前越来越多的研究

基金项目: 内蒙古医科大学联合项目(YKD2023LH032); 内蒙古自治区自然科学基金(2019LH08016); 内蒙古自治区高等学校科学研究项目(NJZY21634); 内蒙古医科大学附属医院青年探索项目(2022NYFYTS012)

通信作者: 德乐黑巴特尔, E-mail: nmgykdxdlh@163.com

收稿日期: 2023-02-03; **修回日期:** 2023-10-17

证明外泌体在介导细胞间通讯、肿瘤微环境、免疫系统功能、发育和分化、细胞信号传导和病毒复制方面的作用^[9]。

circRNA 最早在 RNA 病毒中发现,是广泛存在且多样化的内源性非编码 RNA,曾被认为是 RNA 的一种异常剪接产物^[7]。在外显子、内含子或两者反向剪接后,形成了具有共价闭合连续环的 circRNA。circRNA 闭合连续环结构可以防止被 RNA 外切酶或 RNase 降解,并且作为疾病标志物比线性 RNA 更稳定。超过 80% circRNA 与蛋白质编码区重叠,表明 circRNA 可能在疾病中发挥重要作用或可作为一种新型的生物标志物。circRNA 发挥着多种关键功能,可以负向调节 miRNA 表达,作为 miRNA 海绵、剪接和转录以及转录后的调节剂、作为亲本基因表达的调节剂。circRNA 可能在调节多种肿瘤细胞的生长和侵袭过程中发挥作用,包括胃癌、结肠癌和食管癌等^[8]。大量研究表明, circRNA 对癌症的进展和治疗具有重要影响,并在肿瘤微环境中发挥调节作用,可以作为新的癌症生物标志物以及潜在的治疗靶点。

外泌体中存在几种具有潜在生物学功能 circRNA^[10]。特别是人血清外泌体含有超过 1 000 个 circRNA,这可能是肿瘤中 circRNA 进入了血液;一些 circRNA 可以在血清、尿液和肿瘤的外泌体中检测到。肿瘤外泌体 circRNA 可能参与细胞生长、血管生成和上皮间充质转化等过程。

2 外泌体 circRNA 在鳞癌中的表达及作用

2.1 外泌体 circRNA 在鳞癌诊断及进展中的作用

外泌体中的 circRNA 与鳞癌的进展有关^[11]。Luo 等^[12]通过实时荧光定量 PCR 评估了 108 例口腔鳞癌患者和 50 名健康人的循环外泌体中 circ_0000199 表达量,结果显示,外泌体 circ_0000199 高表达患者的肿瘤复发率和死亡率高于低表达患者, circ_0000199 过表达促进了肿瘤细胞的生长,而敲低 circ_0000199 则抑制肿瘤细胞的生长。Han 等^[13]通过采用实时荧光定量 PCR 评估 circ_0072387 和 miR-503-5p 在口腔鳞癌中的表达水平,证实 circ_0072387 通过下调 miR-503-5p 抑制口腔鳞癌的

进展, circ_0072387 可作为口腔鳞癌的新型潜在治疗靶点。

Tang 等^[14]发现血清外泌体 circFNDC3B 高表达水平与食管上皮组织癌变有关,是发生食管鳞癌的独立危险因素,对早期食管鳞癌诊断具有一定的诊断作用。circFNDC3B 可以通过外泌体递送到肿瘤细胞中,与外泌体 circFNDC3B 敲低的供体细胞共孵育后,受体细胞的集落形成、增殖、迁移、侵袭、糖酵解和体内生长能力均减弱;而外泌体 circFNDC3B 通过调节 miR-490-5p/TXNRD1 轴来驱动食管鳞癌进展^[15]。Zhang 等^[16]研究表明,转染外泌体 circ-CYP24A1 可以削弱肿瘤恶性行为,从而抑制皮肤鳞癌的进展,这可能为皮肤鳞癌提供有希望的治疗靶点和非侵入性诊断生物标志物。夏红等^[17]发现, circ_0087432 在宫颈鳞癌患者血清外泌体中呈高表达,且过表达 circ_0087432 宫颈鳞癌细胞来源的外泌体可促进人脐静脉内皮细胞增殖与迁移,证明 circ_0087432 参与宫颈鳞癌的进展过程。研究发现^[18]抑制 miR-153-3p 可以显著性降低 circ_0005576 敲低对宫颈鳞癌细胞的影响,表明 circ_0005576 通过 miR-153-3p/KIF20A 轴促进宫颈鳞癌进展,并且 circ_0005576 过表达通过充当 miR-153-3p 的海绵促进了宫颈鳞癌细胞增殖和迁移。

研究表明,鳞癌患者的循环外泌体 circRNA 参与了癌症的发生及进展。循环外泌体 circRNA 可用作鳞癌的生物标志物和潜在治疗靶点。

2.2 外泌体 circRNA 在鳞癌转移中的作用

肿瘤的发生和转移与多种致癌基因有关,并且涉及多种致癌途径。越来越多的证据表明,肿瘤细胞间的通讯和周围的基质有助于其发生转移。Li 等^[19]发现 circMYOF 在喉癌组织和细胞中上调,其敲低抑制喉癌细胞生长、转移和糖酵解,抑制喉癌肿瘤生长。circMYOF 在喉癌患者的血清外泌体中明显过表达,通过 miR-145-5p/OTX1 轴促进细胞转移,从而促进喉癌进展。Liu 等^[20]研究发现,伴有淋巴结转移的食管鳞癌患者血清外泌体 circ_0026611 表达水平显著性高于无淋巴结转移患者,血清外泌体 circ_0026611 表达显著性上调,其可作为判断是否淋巴结转移的指标。郑竟^[21]通过对食管鳞癌患者生存进行分析,血浆外泌体 circ_0026611 表达水平升高(≥ 1.696)的患者术后无进展生存时间较短(HR=

10.331, $P=0.034$), 提示食管鳞癌血浆外泌体中 circ_0026611 具有作为判断食管鳞癌患者预后生物标志物的潜能^[22]。

外泌体 circRNA 不仅可以使肿瘤细胞更具侵袭性,还可以通过改变肿瘤微环境促进癌细胞侵袭^[23]。淋巴结转移是鳞癌恶性进程中的重要步骤,术前血清外泌体 circRNA 检查对淋巴结转移判断具有一定的指导意义。

2.3 外泌体 circRNA 在鳞癌治疗中的作用

外泌体 circRNA 在癌症生物学中发挥重要作用^[24]。Zhang 等^[25]研究发现,外泌体 circGDI2 通过靶向 miR-424-5p/SCAI 轴调节口腔鳞癌细胞恶性行为, circRNA GDP 解离抑制剂 2 (circGDI2) 可被外泌体转移, circGDI2 可以作为一种新型的基于外泌体的肿瘤生物标志物和治疗口腔鳞癌的治疗剂。癌症干性和免疫逃逸密切相关,并在肿瘤发展和免疫治疗抵抗中发挥关键作用,升高的 circFAT1 通过促进 STAT3 激活来调节癌症干性与免疫逃逸之间的正相关关系^[26]。circFAT1 KD 通过促进 CD8⁺细胞浸润到肿瘤微环境中增强 PD-1 阻断免疫治疗, circFAT1 与细胞质中的 STAT3 结合,可防止 SHP1 导致 STAT3 去磷酸化,并促进 STAT3 激活,从而抑制 STAT1 介导的转录。circFAT1 是癌症干性和抗肿瘤免疫的重要调节因子。张正^[5]研究表明,过表达 circ_0060927 可降低皮肤鳞癌细胞活性和促进凋亡,且能够抑制细胞中上皮间充质转化的过程;过表达 circ_0060927 能通过 miR-4438 阻碍 Wnt 信号通路的转导,从而对皮肤鳞癌细胞增殖、凋亡和其上皮间充质转化过程产生影响。

近年来,研究发现外泌体能够调节免疫系统,并且可以作为潜在的免疫治疗药物,外泌体 circRNA 被广泛认为是内源性 RNA 的一个新子集,通过影响 miRNA 的功能或与靶蛋白形成复合物来调节靶基因。研究表明外泌体 circRNA 可以影响肿瘤细胞的耐药性^[27], circRNA 作为化疗耐药传递媒介的重要作用正在逐渐被揭示。

3 总结与展望

外泌体 circRNA 是肿瘤学科的一个前沿研究内容。外泌体 circRNA 可以调节肿瘤细胞增殖、侵袭、

迁移、转移等,并且可以作为肿瘤早期诊断的标志物。越来越多的证据揭示了外泌体 circRNA 在鳞癌发生及进展中的重要作用。目前发现 circRNA 可以通过 circRNA-miRNA-mRNA 轴调控下游致癌分子的表达,外泌体 circRNA 在调控鳞癌的进展中起关键作用^[8]。外泌体 circRNA 还可以影响鳞癌中与肿瘤相关的信号通路。

但是,外泌体 circRNA 在临床应用中仍存在多个方面的挑战和困难^[28]。首先,由于 circRNA 丰度低,很难用准确的方法和算法在外泌体中检测到;其次,环状构象和序列与线性 mRNA 对应物的重叠使得对 circRNA 表达和功能的精确评估具有挑战性。此外, circRNA 在外泌体形成过程中如何富集的机制尚不清楚。因此,揭示肿瘤发病机制并寻找新的潜在诊断生物标志物或治疗靶点有待进一步研究。

参考文献:

- [1] YAN F, TILLMAN B N, NIJHAWAN R I, et al. High-risk cutaneous squamous cell carcinoma of the head and neck: a clinical review[J]. *Ann Surg Oncol*, 2021, 28(13): 9009-9030.
- [2] 甘瑞环. NOTCH 信号通路异常表达及突变对口腔鳞癌发生发展的影响及分子机制研究[D]. 福州: 福建医科大学, 2021.
GAN R H. The effect of NOTCH signaling pathway on the development of oral squamous cell carcinoma and its molecular mechanism[D]. Fuzhou: Fujian Medical University, 2021.
- [3] REICHENBACH Z W, MURRAY M G, SAXENA R, et al. Clinical and translational advances in esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Adv Cancer Res*, 2019, 144: 95-135.
- [4] 孔思怡. 506 例宫颈癌临床特点及预后相关因素分析[D]. 青岛: 青岛大学, 2018.
KONG S Y. Clinical characteristics and prognostic factors of 506 cases of cervical cancer[D]. Qingdao: Qingdao University, 2018.
- [5] 张正. 外泌体内环状 RNA 在皮肤鳞状细胞癌中的作用及其机制的研究[D]. 沈阳: 中国医科大学, 2021.
ZHANG Z. Study on the role and mechanism of exosomal circRNAs in cutaneous squamous cell carcinoma[D]. Shenyang: China Medical University, 2021.
- [6] FANALE D, TAVERNA S, RUSSO A, et al. Circular RNA in exosomes[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2018, 1087: 109-117.
- [7] ZHOU M, XIAO M S, LI Z, et al. New progresses of cir-

- cular RNA biology: from nuclear export to degradation[J]. RNA Biol,2021,18(10):1365–1373.
- [8] WANG Y,LIU J,MA J,et al. Exosomal circRNAs: biogenesis,effect and application in human diseases [J]. Mol Cancer,2019,18(1):116.
- [9] GUO X,TAN W,WANG C. The emerging roles of exosomal circRNAs in diseases [J]. Clin Transl Oncol,2021,23(6):1020–1033.
- [10] VROMMAN M,VANDESOMPELE J,VOLDERS P J. Closing the circle: current state and perspectives of circular RNA databases [J]. Brief Bioinform,2021,22(1):288–297.
- [11] MOMEN-HERAVI F,BALA S. Emerging role of non-coding RNA in oral cancer[J]. Cell Signal,2018,42:134–143.
- [12] LUO Y,LIU F,GUO J,et al. Upregulation of circ_0000199 in circulating exosomes is associated with survival outcome in OSCC[J]. Sci Rep,2020,10(1):13739.
- [13] HAN L,CHENG J,LI A. hsa_circ_0072387 suppresses proliferation,metastasis,and glycolysis of oral squamous cell carcinoma cells by downregulating miR-503-5p [J]. Cancer Biother Radiopharm,2021,36(1):84–94.
- [14] TANG B,ZHANG Q,LIU K,HUANG Y. Exosomal circRNA FNDC3B promotes the progression of esophageal squamous cell carcinoma by sponging miR-490-5p and regulating thioredoxin reductase 1 expression[J]. Bioengineered,2022,13(5):13829–13848.
- [15] 白梅,余灏东,王于梅,等. 早期食管鳞状细胞癌患者循环血清外泌体 circFNDC3B 表达水平及其临床意义[J]. 东南大学学报(医学版),2021,40(6):731–737.
BAI M,YU H D,WANG Y M,et al. Expression of circFNDC3B in circulating serum exosomes in patients with early esophageal squamous cell carcinoma and its clinical significance [J]. Journal of Southeast University (Medical Edition),2021,40(6):731–737.
- [16] ZHANG Z,GUO H,YANG W,et al. Exosomal circular RNA RNA-seq profiling and the carcinogenic role of exosomal circ-CYP24A1 in cutaneous squamous cell carcinoma[J]. Front Med (Lausanne),2021,8:675842.
- [17] 夏红,杨翔,陈烨,等. 宫颈癌细胞外泌体 hsa-circ-0087432 对人脐静脉内皮细胞增殖及迁移的影响[J]. 解放军医学杂志,2021,46(4):327–332.
XIA H,YANG X,CHEN Y,et al. Effects of hsa-circ-0087432 on the proliferation and migration of human umbilical vein endothelial cells[J]. Journal of Chinese People's Liberation Army Medicine,2021,46(4):327–332.
- [18] MA H,TIAN T,LIU X,et al. Upregulated circ_0005576 facilitates cervical cancer progression via the miR-153/KIF20A axis[J]. Biomed Pharmacother,2019,118:109311.
- [19] LI S,ZHANG Y,HE Z,et al. Knockdown of circMYOF inhibits cell growth,metastasis,and glycolysis through miR-145-5p/OTX1 regulatory axis in laryngeal squamous cell carcinoma[J]. Funct Integr Genomics,2022,22(4):1–13.
- [20] LIU S,LIN Z,RAO W,et al. Upregulated expression of serum exosomal hsa_circ_0026611 is associated with lymph node metastasis and poor prognosis of esophageal squamous cell carcinoma[J]. J Cancer,2021,12(3):918–926.
- [21] 郑竟. 食管鳞癌淋巴结转移相关的外泌体 circRNA 表达谱研究[D]. 福州:福建医科大学,2018.
ZHENG J. circRNA expression profile of exosomes associated with lymph node metastasis in esophageal squamous cell carcinoma[D]. Fuzhou: Fujian Medical University,2018.
- [22] LIU S,LIN Z,RAO W,et al. Upregulated expression of serum exosomal hsa_circ_0026611 is associated with lymph node metastasis and poor prognosis of esophageal squamous cell carcinoma[J]. J Cancer,2021,12(3):918–926.
- [23] LU Q,WANG X,ZHU J,et al. Hypoxic tumor-derived exosomal circ0048117 facilitates M2 macrophage polarization acting as miR-140 sponge in esophageal squamous cell carcinoma[J]. Onco Targets Ther,2020,13:11883–11897.
- [24] 张琬琛,徐加杰,张李卓,等. 外泌体-环状 RNA 在肿瘤诊治中的临床意义[J]. 国际肿瘤学杂志,2021,48(9):549–552.
ZHANG W C,XU J J,ZHANG L Z,et al. Clinical significance of exosomal circRNAs in the diagnosis and treatment of cancer [J]. International Journal of Oncology,2021,48(9):549–552.
- [25] ZHANG Y,TANG K,CHEN L,et al. Exosomal circGDI2 suppresses oral squamous cell carcinoma progression through the regulation of MiR-424-5p/SCAI axis[J]. Cancer Manag Res,2020,12:7501–7514.
- [26] JIA L,WANG Y,WANG C Y. circFAT1 promotes cancer stemness and immune evasion by promoting STAT3 activation[J]. Adv Sci (Weinh),2021,8(13):2003376.
- [27] YE D,GONG M,DENG Y,et al. Roles and clinical application of exosomal circRNAs in the diagnosis and treatment of malignant tumors[J]. J Transl Med,2022,20(1):161.
- [28] ZHANG Y,YANG X,ZHUANG Z,et al. The diagnostic value of exosomal circular RNAs in cancer patients: a systematic review and meta-analysis[J]. Cancer Med,2023,12(2):1709–1720.