

Advances in circRNA research in breast cancer

Sida Wu Qingshan Li*

Affiliated Hospital of Chengde Medical College, Chengde, Hebei, 067000, China

Abstract

Breast cancer has evolved into a globally prevalent malignant tumor and stands as the leading cause of cancer-related mortality in women, posing a severe threat to female health. However, its exact mechanisms of occurrence and progression remain incompletely elucidated. Circulating RNAs (circRNAs) are endogenous non-coding RNAs (ncRNAs) characterized by covalently closed circular structures. While circRNAs were previously considered mere byproducts of rare transcriptional splicing errors, advancements in high-throughput sequencing have enabled their identification. Research has confirmed their post-transcriptional regulatory functions, propelling them to become a cutting-edge focus in oncology research. Recent studies have progressively revealed circRNAs' roles in breast cancer, with their expression being closely associated with disease onset and progression. This review aims to systematically examine the specific functions of circRNAs across different molecular subtypes of breast cancer, providing novel insights for clinical diagnosis and treatment.

Keywords

breast cancer; circRNAs; biological functions

circRNA 在乳腺癌中的研究进展

吴思达 李青山*

承德医学院附属医院, 中国·河北承德 067000

摘要

乳腺癌已发展为全球范围内高发的恶性肿瘤, 并成为导致女性癌症相关死亡的首要因素, 对女性健康构成严重威胁。然而, 其发生和发展的确切机制尚未完全阐明。环状 RNA (circRNA) 是一类具有共价闭合环状结构的内源性非编码 RNA (ncRNA)。过去曾普遍认为 circRNA 仅是基因转录剪接过程中罕见错误产生的副产物。但随着高通量测序技术的进步, 大量 circRNA 得以被鉴定, 研究证实具备转录后调控功能, 使其迅速成为肿瘤研究领域的前沿热点。近年来, circRNA 在乳腺癌中的作用机制逐步被揭示, 其表达与乳腺癌的发生、进展密切相关。本文旨在综述 circRNA 在乳腺癌不同分子分型中的具体作用。为乳腺癌的诊疗提供新思路。

关键词

乳腺癌; 环状RNA; 生物学功能

1 引言

环状 RNA (circRNA) 的闭合环状结构赋予其独特的生物学特征, 主要体现在两方面: 1. 稳定性强: 由于 circRNA 呈共价闭环构象, 缺乏 5' 端与 3' 末端, 使其能够有效抵抗抗核糖核酸酶 (RNase) 的降解作用; 2. 进化保守性高: 多数 circRNA 在跨物种比较中显示出显著的序列保守性。W.S. 等人在研究人类和鼠心肌的 circRNA 表征中发现, 大约 10% 的 circRNA 在这两个物种中具有保守性^[7]mice (sham or after transverse aortic constriction, TAC); 3. 高度特异性:

circRNA 的表达谱在不同组织来源的细胞、不同类型及分期的肿瘤细胞中均存在显著差异, 呈现出时空异质性特征。研究表明, circRNA 可通过调控细胞凋亡进程、激活侵袭转移能力、促进血管生成及维持持续性增殖信号等通路, 参与肿瘤演进与转移的分子调控网络。基于其独特的生物学属性, circRNA 在肿瘤生物标志物开发、早期诊断、靶向治疗及预后评估等领域展现出重要的转化医学价值^[1]circular RNAs (circRNAs)。

2 circRNA 的生物学功能

2.1 分子海绵作用

分子海绵作用是指 circRNA 可作为竞争性内源 RNA 通过吸附 miRNA 从而抑制其功能的作用。circRNA 通过影响 miRNA 进而影响 mRNA 的分子海绵的作用, 是目前 circRNA 参与生物学各项功能中研究作为深入的领域。一些 circRNA 含有 miRNA 反应元件, 这类 circRNA 可通过

【作者简介】吴思达 (1996-), 男, 中国河北保定人, 在读硕士, 从事乳腺癌研究。

【通讯作者】李青山 (1965-) 男, 汉族, 河北省石家庄市人, 硕士, 主任医师, 研究方向: 肺癌的化学治疗。

miRNA 应答元件来吸附或结合 miRNA, 从而内源性竞争 RNA^[2], 进一步调控靶基因的表达水平。circRNA 可具有多个同时可调节的 miRNA 结合位点, 这就保证了其结合效率。

2.2 编码蛋白

传统的翻译需要 5' 和 3' 非翻译区 (UTR) 作为必要因素, 因此一直以来, circRNA 因其结构不被人们视作具备翻译功能, 但是最近的许多证据都表明一些 circRNA 具有翻译功能, 在最开始的研究中 Chen 等人证明 circRNA 可以在体外进行翻译, 之后 Abe 在研究中又证实 circRNA 可在体内进行翻译, circRNA 具有的核糖体进入结合位点 (internal ribosome entry site, IRES) 和 N⁶-甲基腺苷 (m⁶A) 修饰均可驱动 circRNA 的翻译, 内部核糖体进入位点和 N⁶-甲基腺苷介导的帽非依赖性翻译起始被认为 circRNA 翻译的潜在机制。circRNA 非翻译区中的特定序列也有类似于 IRES 的活性, 能够驱动 circRNA 翻译。Abdelmohsen 等人的研究发现, circFBXW7 可编码 FBXW7-185aa 蛋白, 而后者可以通过增加 FBXW7 的丰度和诱导 c-Myc 降解来抑制三阴性乳腺癌细胞的增殖和迁移。

2.3 与 RNA 结合蛋白相互作用

RNA 结合蛋白 (RBP) 是一类在 RNA 的调控代谢过程中与 RNA 结合的蛋白质, 涉及基因转录和翻译等多个重要过程。circRNA 与 RNA 结合蛋白结合之后, 受到 RBP 的剪接、处理、折叠、稳定和定位等作用, 参与体内的多种生物功能调控, 例如细胞的增殖、分化、运动、衰老、凋亡以及细胞对应激、有丝分裂原和免疫触发的反应等。RBP 能够在结合到外显子 circRNA 上的瞬时形成的内含子配对, 然后稳定后剪接, 达到促进环状 circRNA 产生的目的, 同时能够影响细胞的增殖, 如 circ- 叉头框转录因子 O3 (forkheadbox O3, FoxO3) 通过结合细胞周期蛋白依赖性激酶 2 和 p21 基因, 形成一种 circ-FoxO3-p21- 细胞周期蛋白依赖性激酶 2 三元复合物, 当复合物异位表达时, 细胞的增殖被抑制, 同时细胞周期进程就此被阻断。

2.4 调控基因表达

circRNA 可以通过顺式或反式调控基因转录从而影响基因表达^[3], 在人类细胞中, 仅含有内含子的 circRNA (ciRNAs) 主要聚集在细胞核中, 一些大量表达的 ciRNAs, 如 ci-ankrd52 和 ci-sirt7, 能够与 RNA 聚合酶 (PolIII) 形成复合体, 以激活 PolIII 的正向调节作用, 调节其亲本基因的转录。含有外显子-内含子的 circRNA (EiRNAs) 主要定位于细胞核, 与 U1 核内小核糖核蛋白相互作用形成 RNA- 蛋白复合物, 并与启动子区域内的 PolIII 结合, 促进其亲本基因的转录。

3 circRNA 与乳腺癌的关系

3.1 circRNA 与三阴性乳腺癌

三阴性乳腺癌是乳腺癌的一个亚型, 该亚组约占所有乳腺癌的 15~20%。TNBC 的特点是细胞增殖转移率高, 预

后差。主要的治疗策略是化疗和放疗。研究显示, 由转录因子 (E2F1) 和转录因子 (EIF4A3) 介导的 circSEPT9 通过 circSEPT9-miR-637-LIF 轴, 从而促进三阴性乳腺癌的发生和发展, circSEPT9 可通过海绵作用 miR-637 调控白血病抑制因子 (LIF) 的表达, 并激活参与 TNBC 进展的 LIF/Stat3 信号通路, 因此, circSEPT9 可作为 TNBC 潜在的预后标志物和治疗靶点^[4]。circIFI30 在 TNBC 中显著上调, 并与 TNM 分期和 TNBC 患者的总生存期显著相关, CD44 是细胞粘附分子家族成员, 是一种跨膜糖蛋白, 参与细胞增殖、分化、粘附和迁移, miR-520b-3p 可能直接靶向 CD44 的 3'-UTR, circIFI30 中含有 miR-520b-3p 的结合位点。circIFI30 作为 miR520b-3p 的海绵, 上调 CD44 的表达, 从而促进 TNBC 的 EMT、肿瘤发生和转移。circIFI30 在 TNBC 的发病和进展中起致癌作用。CD44 水平与 circIFI30 表达呈正相关, 上调 circIFI30 可以增加 CD44 的表达, 促进 TNBC 细胞的增殖、侵袭和上皮细胞向间充质转化, 而下调 circIFI30 则表现出相反的作用^[5]。circAGFG1 作为 miR-195-5p 的海绵, 通过调节细胞周期蛋白 E1 (CCNE1) 的表达促进 TNBC 细胞增殖、迁移和侵袭, 促进肿瘤发生和转移, circAGFG1 miR-195-5p 的分子海绵, 以减弱 miR-195-5p 对其靶细胞周期蛋白 E1 (CCNE1) 的抑制作用。circWHSC1 通过调节 miR-212-5p/ 蛋白激酶 B-3 (AKT3) 轴, 促进 TNBC 生长。circANKS1B 通过诱导上皮细胞向间充质转化, 进而促进乳腺癌在体外和体内的侵袭转移, circANKS1B 大量吸附 miR-148a-3p 和 miR-152-3p, 增加转录因子 USF1 的表达, 通过转录上调转化生长因子 TGF- β 1 的表达, 激活 TGF- β 1/Smad 信号通路, 促进 EMT。研究发现, 当敲除 circ_004173 时阻碍了体内肿瘤的形成^[6]。通过双荧光素酶报告基因和 RIP 测定证实, circ-ERBB2 是 miR-136-5p 的海绵, miR-136-5p 在肿瘤中起抑制肿瘤的作用, circ-ERBB2 通过调节 miR-136-5p/PDK4 轴加速了 TNBC 细胞的 Warburg 效应和恶性肿瘤。hsa_circ_102229 高的 TNBC 患者预后较差。hsa_circ_102229 能促进 TNBC 细胞的迁移、增殖和侵袭, 而抑制 TNBC 细胞凋亡。此外, hsa_circ_102229 直接靶向 miR-152-3p, 作为竞争性 RNA (ceRNA), 可通过靶向 miR-152-3p 调控丝氨酸 / 苏氨酸蛋白激酶 (PFTK1) 的表达。PFTK1 也被称为周期蛋白依赖性激酶 14 (CDK14), 被认为是周期蛋白和细胞周期的重要调节因子^[32], 已有研究表明 PFTK1 通常发挥肿瘤促进因子作用。此外, 在动物模型中, 敲低 hsa_circ_102229 蛋白可抑制肿瘤转移。

3.2 circRNA 与 HER-2 阳性乳腺癌

HER-2 阳性乳腺癌占有所有乳腺癌的 20% ~ 30%, HER-2 阳性乳腺癌更具有侵袭性, 预示癌组织生长速度较快, 会较早通过淋巴或者血行出现远处转移, 对内分泌治疗不敏感, 其预后较差。对于 HER-2 阳性乳腺癌应用曲妥珠单抗进行治疗已经成为普遍共识^[6], 但是约 25% HER2 阳性 (HER2+)

乳腺癌 (BC) 患者接受曲妥珠单抗治疗后迅速复发。然而, 曲妥珠单抗耐药的机制仍不清楚。circRNAs 在包括乳腺癌在内的恶性肿瘤耐药中发挥着至关重要的作用, circCDYL2 通过阻止生长因子受体结合蛋白 7 (GRB7) 的泛素化降解并增强其与酪氨酸激酶 (FAK) 的相互作用来稳定 GRB7, 从而维持下游蛋白激酶 B (AKT) 和脯氨酸导向的丝氨酸/苏氨酸激酶 (ERK1/2) 的活性。FAK 或 GRB7 抑制剂可逆转具有高 circCDYL2 的 HER2+ 乳腺癌细胞对曲妥珠单抗的耐药性, 同时临床上 circCDYL2 可作为预测 HER2+BC 患者预后的新分子。circGFRA1 在 HER-2 阳性 BC 细胞中显著上调, CircGFRA1 可以通过充当 miR-1228 的海绵, 增强细胞凋亡诱导因子 (AIFM2) 的表达, 促进 HER-2 阳性乳腺癌的恶性进展, 并调控 HER-2 阳性乳腺癌细胞的恶性行为^[7]。

3.3 circRNA 与 Luminal 型乳腺癌

ER 阳性型乳腺癌在总体占比中约占 65%~70%, 雌激素受体 (ER) 调控的基因转录事件参与了 ER 阳性乳腺癌的发生, 研究表明, 雌激素诱导的环状 RNA (CircPGR) 作为一种竞争性内源 RNA (ceRNA), 通过调节细胞周期相关基因促进雌激素受体阳性乳腺癌细胞的生长, CircPGR 被发现定位于细胞的细胞质中, 并作为竞争性内源性 RNA (ceRNA) 海绵 miR-301a-5p 调节多个细胞周期基因的表达。CircPGR 在 ER 阳性乳腺癌细胞系和临床乳腺癌组织样本中高特异性表达, 因此, 靶向 CircPGR 的反义寡核苷酸 (ASO) 被证明可以有效抑制 ER 阳性乳腺癌细胞的生长。circTP63 同样在雌激素受体阳性型乳腺癌细胞中高表达, circTP63 对 miR-873-3p 发挥海绵作用, 其靶向 FOXM1 mRNA 并抑制其表达, 在机制上, circTP63 与 miR-873-3p 结合并阻止 FOXM1 的靶向, 从而诱导雌激素受体阳性乳腺癌的进展和恶性行为, 如细胞增殖, 细胞周期失调, 侵袭, 迁移甚至肿瘤生长。circTP63 可能是未来治疗雌激素受体阳性乳腺癌患者的潜在生物标志物或靶标^[8], hsa_circ_0087378 在雌激素受体阳性型乳腺癌中表达下调, 并且 hsa_circ_0087378-miR-1260b-SFRP1 轴被认为是关键的调节途径, hsa_circ_0087378 可能在未来成为 ER 阳性的乳腺癌的新治疗靶点。

3.4 circRNA 作为乳腺癌的诊断标志物

circRNA 是癌发生的重要启动子, 因为它们参与癌症相关途径并隔离 mi-RNA, 因此可以作为乳腺癌的诊断标志物。hsa_circ_103110、hsa_circ_104689 和 hsa_circ_104821 在乳腺癌组织中表达上调, hsa_circ_006054、hsa_circ_100219 和 hsa_circ_406697 在乳腺癌组织中表达下调^[9]。Yan 等人的实验证明, 血浆 hsa_circ_0001785 水平与组织学分级、TNM 分期和远处转移密切相关, 且术后患者血浆 hsa_circ_0001785 水平显著低于术前患者, hsa_circ_0001785 的敏感性显著高于 CA-15-3 和 CEA^[44]。在 Yuan 的研究中^[10], hsa_circ_0068033 的过表达可以抑制 MCF-7 和 MDA-

MB-231 细胞的生长、克隆形成、侵袭和迁移, 同时激活内在凋亡途径诱导细胞凋亡, 同时异种移植实验表明, 外源性 hsa_circ_0068033 能够明显降低裸鼠 MDA-MB-231 细胞的致瘤能力, hsa_circ_0068033 在乳腺癌中表达降低, 并可能与疾病的进展有关, 这进一步说明了 circRNA 作为乳腺癌的诊断标志物的潜力。当然, 与传统的病理学检查相比, circRNA 作为诊断乳腺癌的依据仍然缺乏足够的说服力, 但是考虑到病理组织获取时对人体造成的伤害, circRNA 在未来更加适合作为标志物用于乳腺癌的诊断与疗效检测。

3.5 circRNA 与乳腺癌的耐药性调节

化疗是乳腺癌治疗的重要手段之一, 手术联合化疗等治疗手段延缓了乳腺癌的进展, 但机体对药物产生的耐药性给乳腺癌的治疗造成了巨大困难。circRNAs 与乳腺癌化疗耐药的形成过程相关¹。部分 circRNAs 的表达上调可增加乳腺癌细胞对化疗药物的敏感性。Sang 等人调查了 circRNAs 与乳腺癌他莫昔芬耐药的相关性。发现 hsa_circ_0025202 可以通过海绵吸附 miR-182-5p 而上调 FOXO3a 的表达, 增加乳腺癌细胞对他莫昔芬的敏感性; 体内实验证实, 过表达 hsa_circ_0025202 和应用他莫昔芬对激素受体阳性肿瘤的抑制有加和效应。而一些 circRNAs 的作用则会使肿瘤细胞的耐药性增强, 在 Xu 等人的研究中, Circ_0001667 在抗阿霉素的乳腺癌组织中高表达。circ_0001667 的上调提高了阿霉素的抗性, 并增强了阿霉素抗性乳腺癌细胞的增殖, 迁移和侵袭。Hao 等人在阿霉素耐药的乳腺癌组织中发现较高水平的 circ_0006528 以及较低水平的 miR-1236-3p, Circ_0006528 可以对 miR-1236-3p 发挥海绵作用, circ_0006528 敲低或 miR-1236-3p 过表达可以抑制抗阿霉素乳腺癌细胞的增殖、迁移、侵袭。通过这些研究可以观察到, 耐药相关的 circRNAs 对于乳腺癌的疗效预测和监测, 乃至逆转耐药有潜在的价值。

4 未来与展望

circRNA 的生物发生不是随机的剪接错误, 作为热点的调控分子, circRNA 参与了乳腺癌的增殖、侵袭、转移和耐药等机制。但 circRNA 的研究目前还处在初步探索阶段, 临床研究量与实验样本量相对缺乏, 需要找到更多、更具特异性、更敏感性的 circRNA 来为患者提供早期的诊断、手术依据以及更有效的治疗, 从而延长患者的生存时间并提高生活质量。同时, circRNAs 的表达水平常远远低 miRNAs 表达水平, 这表明 circRNA 对 miRNA 海绵作用是有限的, 而具有功能的 circRNA 类别也只占其中一部分。但不可否认的是, circRNA 因其结构稳定、不易降解、种类丰富等特点, 在肿瘤的发生发展、诊断、预后和治疗中展现出强大的潜力, 推动精准治疗的发展。在未来, 围绕 circRNA 展开的一系列治疗方式可能成为肿瘤治疗的一种新模式。

参考文献

1. Yan H, Bu P. Non-coding RNA in cancer. *Essays Biochem*

- 2021;65:625–39. doi: 10.1042/EBC20200032.
2. 环状RNA内部控制基因的鉴定 - PubMed. (February 25, 2023). Retrieved from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31428905/>.
 3. Guo JU, Agarwal V, Guo H, Bartel DP. Expanded identification and characterization of mammalian circular RNAs. *Genome Biol* 2014;15:409. doi: 10.1186/s13059-014-0409-z.
 4. 徐彩鹏, 陈小花, 赵大鹏, 张红, 狄翠霞. 环状RNA及其在肿瘤中的作用. *生理科学进展* 2022;53:39–44.
 5. Chen I, Chen C-Y, Chuang T-J. Biogenesis, identification, and function of exonic circular RNAs. *Wiley Interdiscip Rev RNA* 2015;6:563–79. doi: 10.1002/wrna.1294.
 6. Jeck WR, Sorrentino JA, Wang K, Slevin MK, Burd CE, Liu J, *et al.* Circular RNAs are abundant, conserved, and associated with ALU repeats. *RNA N Y N* 2013;19:141–57. doi: 10.1261/rna.035667.112.
 7. Werfel S, Nothjunge S, Schwarzmayr T, Strom T-M, Meitinger T, Engelhardt S. Characterization of circular RNAs in human, mouse and rat hearts. *J Mol Cell Cardiol* 2016;98:103–7. doi: 10.1016/j.yjmcc.2016.07.007.
 8. Salzman J, Chen RE, Olsen MN, Wang PL, Brown PO. Cell-type specific features of circular RNA expression. *PLoS Genet* 2013;9:e1003777. doi: 10.1371/journal.pgen.1003777.
 9. Arnaiz E, Sole C, Manterola L, Iparraguirre L, Otaegui D, Lawrie CH. CircRNAs and cancer: Biomarkers and master regulators. *Semin Cancer Biol* 2019;58:90–9. doi: 10.1016/j.semcancer.2018.12.002.
 10. Kristensen LS, Jakobsen T, Hager H, Kjems J. The emerging roles of circRNAs in cancer and oncology. *Nat Rev Clin Oncol* 2022;19:188–206. doi: 10.1038/s41571-021-00585-y.