

环状 RNA 翻译蛋白在癌症中的研究进展

柯双熬, 赵胜男, 刘玉, 卓情, 童祥文, 徐瑶

武汉科技大学 生命科学与健康学院 生物医学研究院, 湖北 武汉 430081

柯双熬, 赵胜男, 刘玉, 卓情, 童祥文, 徐瑶. 环状 RNA 翻译蛋白在癌症中的研究进展. 生物工程学报, 2022, 38(9): 3131-3140.
KE SA, ZHAO SN, LIU Y, ZHUO Q, TONG XW, XU Y. Circular RNA-encoded peptides and proteins: implications to cancer.
Chin J Biotech, 2022, 38(9): 3131-3140.

摘 要: 环状 RNA (circular RNA, circRNA) 是一种单链环状闭合 RNA 分子, 由线性 RNA 通过反向剪接形成, 具有稳定、高度保守、组织特异性等特点。circRNA 能够通过形成竞争性内源性 RNA、结合蛋白等多种方式参与机体的生理、病理过程。最近发现, circRNA 分子可以通过翻译形成多肽或蛋白参与癌症的发生和发展。circRNA 是人类癌症中有前途的诊断和预后标志物, 也是癌症治疗的潜在药物靶点。本文重点介绍了 circRNAs 编码的多肽和蛋白质在多种癌症中的相关研究进展。这些多肽和蛋白质分别依赖内部核糖体进入位点和 m6A 两种不同的机制进行翻译。我们还总结了 circRNA 编码的多肽和蛋白质在各种癌症的诊断、治疗、预后和机制研究中的潜在用途。

关键词: 环状 RNA; circRNA 翻译蛋白; 癌症; 内部核糖体进入位点; m6A 修饰

Circular RNA-encoded peptides and proteins: implications to cancer

KE Shuang'ao, ZHAO Shengnan, LIU Yu, ZHUO Qing, TONG Xiangwen, XU Yao

Institute of Biology and Medicine, College of Life Science and Health, Wuhan University of Science and Technology, Wuhan 430081, Hubei, China

Abstract: Circular RNA (circRNA) is a single-stranded circular closed RNA molecule formed from linear RNA through reverse splicing. circRNAs are stable, highly conserved, and tissue-specific. circRNAs can regulate physiological and pathological processes through various mechanisms such as formation of competing endogenous RNA and interaction with binding proteins. It has been recently

Received: December 8, 2021; **Accepted:** April 6, 2022; **Published online:** April 12, 2022

Supported by: National Natural Science Foundation of China (31600617, 81802008); Scientific Research Program of Hubei Provincial Education Department (Q20181102)

Corresponding author: XU Yao. Tel/Fax: +86-27-68893368; E-mail: xuyao0307@wust.edu.cn

基金项目: 国家自然科学基金 (31600617, 81802008); 湖北省教育厅科学研究计划 (Q20181102)

revealed that circRNAs can be translated into peptides and proteins to participate in the initiation and development of cancer. circRNAs are promising diagnostic and prognostic markers for human cancers as well as potential drug targets for cancer therapy. This review summarized the research progresses related to circRNA-encoded peptides and proteins in a variety of cancers. These peptides and proteins are translated through two different mechanisms that depend on internal ribosome entry site and m6A, respectively. We also summarized the potential use of circRNA-encoded peptides and proteins in the diagnosis, treatment, prognosis and mechanistic studies of various cancers.

Keywords: circular RNA; circRNA-encoded proteins; cancer; internal ribosome entry site; m6A modification

最新的全球癌症统计数据显示, 癌症仍然是威胁人类生命健康的重要因素^[1]。研究发现, 环状 RNA (circular RNA, circRNA) 参与了多种细胞的生理和病理过程, 如细胞增殖、分化和细胞凋亡过程, 并与多种癌症的发生和发展有关^[2-3]。同时, 由于 circRNA 没有线性 RNA 分子特有的自由端, circRNA 分子更具稳定性, 可作为分子靶标用于癌症的诊断和治疗。例如临床试验的液体活组织检查是基于 circRNA 在人体组织和液体 (血清和尿液) 中的稳定存在而进行的^[4]。circRNA 也常被用于开发新的生物标志物来诊断和鉴别不同的病理状态, 如糖尿病^[5]、细胞衰老^[6]、心血管疾病^[7]和人类癌症等^[8]。自从 circRNA 被发现以来, circRNA 一直被认为是非编码 RNA (non-coding RNA)^[9]。近年来, 随着生物技术的发展, 越来越多的研究证据表明, circRNA 在生物体内具有翻译的潜能, 并且其翻译蛋白能够参与多种重要的生理调控过程^[10-12]。因此, circRNA 翻译蛋白与多种恶性肿瘤的相关研究引起了研究人员的高度重视。

1 环状 RNA 概述

1976 年 Sanger 在植物 RNA 病毒中发现了第一个 circRNA 分子^[13]。直到 1991 年, 人们通

过电子显微镜在真核细胞中观察到 circRNA 结构^[14]。此后, circRNA 一直以来被认为是异常剪接的产物。随着测序技术和生物信息学的发展, circRNA 被重新认识, 并且在 RNA 研究领域受到新的关注。研究表明, 它们并非偶然的副产品或剪接错误形成的, circRNA 在生命体中发挥多种重要的功能, 包括肿瘤发生过程^[15]、神经发育过程^[16]、自身免疫反应^[17]等。与线性 RNA 不同, circRNA 是单链共价闭合的转录物, 没有 5'帽子结构和 3' polyA 尾巴。因此, circRNA 较线性 RNA 更加稳定。通常用 RNase R 酶处理总 RNA 对 circRNA 进行富集^[18]。根据 circRNA 的来源不同, circRNA 可以分为 4 种不同的类型: 外显子 circRNA (ecircRNA)、内含子 circRNA (ciRNA)、外显子-内含子 circRNA (eiciRNA) 和其他^[19]。研究发现了一种线粒体编码的 circRNA (mitochondria-encoded circRNA, mecciRNA), 这种新型的 circRNA 在人类和小鼠细胞内广泛存在, 同时研究证实了 mecciRNA 可促进线粒体适应各种生理环境^[20]。不同于线性 RNA 的标准剪切模式, circRNA 是通过反向剪接 (back-splicing) 方式剪切形成的。现有的 circRNA 形成模型主要有 3 种 (图 1): 即套索驱动、内含子配对和 RNA 结合蛋白 (RNA-binding protein, RBP) 依赖性。套索驱动主要由两个不

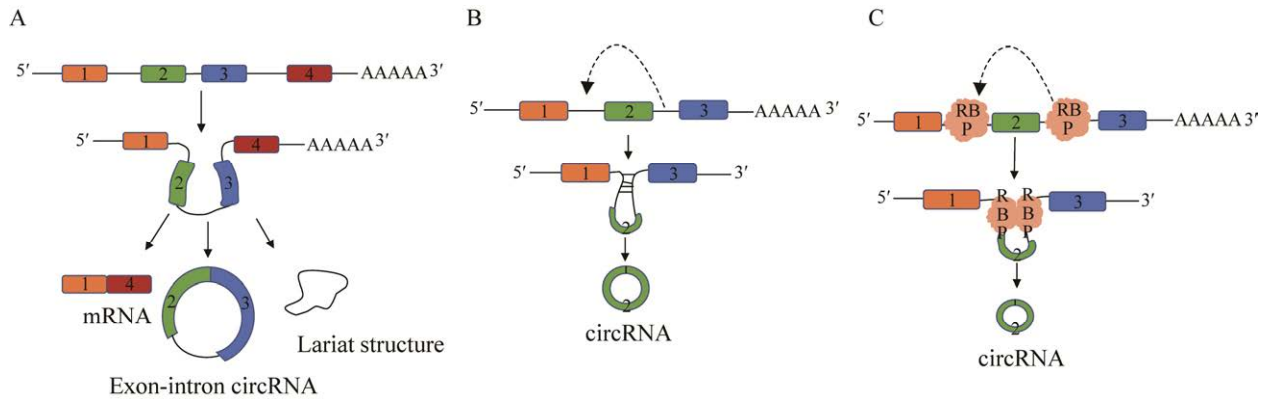


图 1 circRNA 形成的 3 种主要方式 A: 套索驱动模型: 由于外显子跳跃机制, 可以发生反向剪接过程, 导致套索形成。这个过程是一种非规范剪接途径, 合成了 3 种不同的产物: circRNA、具有跳过外显子的 mRNA 和套索结构; B: 内含子配对模型: 内含子配对 (通常是 Alu 重复) 可以诱导反向剪接 (如图中虚线所示)。内含子共价结合在一起, 合成一个 circRNA; C: RNA 结合蛋白依赖性模型: RNA 结合蛋白 (RNA-binding protein, RBP) 通常结合外显子侧翼的内含子, 这些内含子将形成 circRNA, RBP 二聚化促进反向剪接过程 (如图中虚线所示)

Figure 1 circRNA formed by three major ways. (A) Lariat-driven circularization: due to the exon skipping mechanism, the back-splicing process takes place, which leads to lariat formation. This process is a non-canonical splicing pathway that synthesizes three distinct products: circRNAs, mRNAs with skipped exons, and lariat structures. (B) Intron-pair-driven circularization: introns pairing (usually Alu repeats) can induce back-splicing (as shown by the dotted line in the figure). The introns are covalently bound together to synthesize a circRNA. (C) RNA-binding proteins driven circularization: RNA-binding proteins (RBPs) usually bind introns flanking exons that will form circRNAs, and RBP dimerization promotes the back-splicing process (as shown by the dotted line in the figure).

相邻的外显子连接形成 circRNA; 内含子配对主要是外显子与外显子间的内含子进行配对, 最终结合环化形成 circRNA; RNA 结合蛋白 (RNA binding protein, RBP) 依赖性是通过 RBP 结合到 pre-mRNA 上, 此机制可以促进相邻外显子连接环化, 形成 circRNA^[21]。最新研究还发现, 在肿瘤细胞中还存在一些融合基因, 该融合基因包含反向重复互补序列, 在基因重排过程中相互接近导致反向剪接, 最终产生融合环状 RNA (fusion-circRNA, f-circRNA), 研究发现 f-circRNA 和融合基因具有类似的功能。例如, 促进癌症发生和发展以及具有肿瘤耐药性^[22]。该研究结果进一步说明了 circRNA 与癌症的发生和发展存在密切联系。

2 环状 RNA 的翻译机制

2.1 环状 RNA 翻译简介

长期以来, 根据遗传密码的中心法则, 人们认为只有 mRNA 可以通过起始、延伸和终止过程来进行蛋白的翻译^[23]。此外, 传统观点认为, 5'和 3'非翻译区 (untranslated regions, UTR) 是真核细胞翻译的必要起始元件^[24-25]。由于 circRNA 是环状闭合 RNA, 没有 5'和 3'非翻译区。因此, circRNA 一直被认为是非编码 RNA。随着研究的深入, 越来越多的证据表明 circRNA 能够与核糖体结合, 研究还发现 circRNA 含有 AUG 起始密码子序列和开放阅读框 (open reading frames, ORF) 序列的基本编

码翻译元件^[10,26-27]。这表明 circRNA 具备编码蛋白的潜力。

为了验证 circRNA 的翻译功能,研究通过核糖体印记证实了 circRNA 与核糖体相结合^[12]。circRNA 被发现含有特定序列可以作为核糖体介入位点 (internal ribosome entry site, IRES) 元件来驱动 circRNA 的翻译起始^[28]。此外, circRNA 上还含有 m6A 修饰基序,研究还证实了 m6A 修饰作用是驱动 circRNA 翻译起始的一种方式^[11-12]。IRES 元件和 m6A 修饰驱动 circRNA 翻译起始的发现挑战了 circRNA 作为非编码 RNA 的传统观点,增加了基因调控的复杂性,并为 circRNA 翻译蛋白功能的研究提供了理论基础。

2.2 环状 RNA 的翻译方式

由于 circRNA 是通过宿主基因反向剪接形成的,故其遗传密码与宿主基因具有相似之处。与传统 RNA 翻译相比, mRNA 与 circRNA 最大的区别在于 mRNA 5'端有 m⁷G 帽结构,3'端有 polyA 尾,而 circRNA 没有。另外, mRNA 的 5'端帽结构作为帽结合蛋白复合物 (eukaryotic

initiation factor 4F complex, eIF4F) 的锚定点,可以介导 mRNA 的 40S 亚基的募集^[29-32]。因此, mRNA 进行帽依赖性翻译,而 circRNA 无法进行帽依赖性翻译,不需要 5'帽子结构和 3'polyA 尾。目前研究发现 circRNA 的翻译主要有 IRES 介导的和 m6A 修饰介导的 2 种翻译方式 (图 2)。

2.2.1 IRES 介导的环状 RNA 翻译

随着研究的深入,研究发现在某些条件下, mRNA 无法进行帽依赖性翻译^[33-35]。由此发现一种替代机制,被称为帽非依赖性翻译,该机制通过 IRES 来启动 mRNA 翻译。通常,能够进行帽非依赖性翻译的基因参与响应细胞应激或病毒感染的生物学途径,这意味着 IRES 介导的帽非依赖性翻译在细胞生命活动过程中发挥着重要作用^[36]。研究通过生物信息学分析发现在 circRNA 起始密码子上游也存在 IRES 序列。IRES 序列能折叠成类似 tRNA 的结构来招募核糖体进行 circRNA 的翻译^[28]。总而言之, IRES 介导的 circRNA 翻译扩展了细胞生命活动的多样性,具有较大的研究价值。

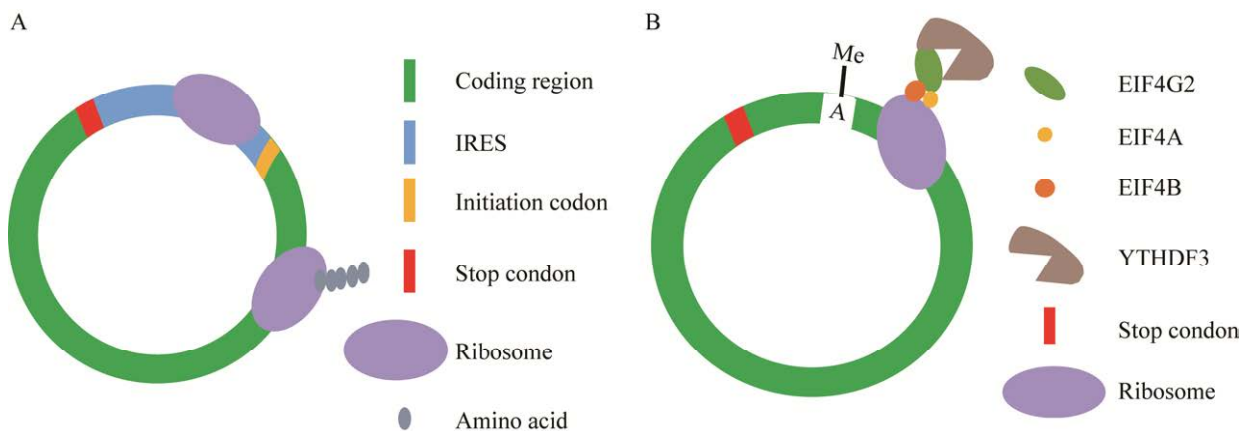


图 2 circRNA 翻译的 2 种主要方式 A:通过核糖体进入位点 (IRES) 起始 circRNA 的翻译;B:通过 m6A 修饰驱动核糖体结合位点起始 circRNA 的翻译

Figure 2 circRNA translated by two major ways. (A) Internal ribosome entry site (IRES) drives the initiation of circRNA translation. (B) m6A modification of ribosome binding site drives the initiation of circRNA translation.

2.2.2 m6A 介导的环状 RNA 翻译

N6-甲基腺嘌呤 (N6-methyladenosine, m6A) 是 RNA 甲基化最常见的一种化学修饰^[37]。m6A 修饰主要发生在碱基序列 RRACH 中的腺嘌呤上 (R=G, A; H=A, C 或 U), 其功能由写入器 (writers)、读取器 (readers) 和擦除器 (erasers) 来调控^[38]。m6A-writers 复合物被称为甲基转移酶, 包括甲基转移酶样蛋白 3 (METTL3)^[39]、甲基转移酶样蛋白 14 (METTL14)^[40]、肾母细胞瘤 1 关联蛋白 (wilms tumour 1-associated protein, WTAP)^[41]和 KIAA1429^[42]等; m6A-erasers 复合物作为去甲基化酶, 包括脂肪量和肥胖相关蛋白 (FTO)^[43-44]和 AlkB 同源物 5 (ALKBH5)^[45]等; 其他可以识别 m6A 修饰的结合蛋白, 被称为 m6A-readers 蛋白, 包括 YTH 结构域蛋白 YTHDF1^[44]、YTHDF2^[46]、YTHDF3^[47]、YTHDC1 和 YTHDC2^[48]、RNA 结合蛋白异质核蛋白 A2B1 (HNRNPA2B1) 和异质核糖核蛋白 C (HNRNPC)^[49]。

Yang 等发现, 一些 circRNA 序列上含有 m6A 基序, 他们通过在 m6A 基序处构建突变体, 成功证实了 m6A 修饰可以驱动 circRNA 的翻译^[12]。研究还发现, m6A 基序经甲基转移酶修饰后可以被 YTHDF3 蛋白识别, 随后与翻译起始因子 eIF4G2 相互作用促进 circRNA 的翻译。总之, 上述研究表明 m6A 修饰结合蛋白可以与转录起始因子相互作用来驱动 circRNA 的翻译。

3 环状 RNA 的翻译在癌症中的研究进展

随着生物测序技术的发展, 越来越多的 circRNA 被发现, 某些 circRNA 还在癌症中特异性表达。这一现象表明 circRNA 与某些癌症疾病存在某种联系。近些年, circRNA 翻译机制的研究进入了人们的视野, 研究者发现 circRNA 翻

译蛋白参与并调控多种癌症疾病, 并且在癌症疾病的发生和发展过程中发挥着重要功能。这些理论研究的发现将有可能为癌症的疾病治疗提供强有力的支撑。本团队也在进行 circRNA 翻译的研究, 研究首先需要通过在 circRNADb 和 riboCIRC 等生物信息学数据库中对 circRNA 翻译的 ORF 序列进行预测。然后根据 ORF 序列在终止密码子前插入 Flag 标签构建过表达载体。通过构建 circRNA 过表达载体, 包括不含 Flag、插入 Flag 和插入 Flag 但突变启动子。最后结合免疫印迹实验, 验证 circRNA 翻译蛋白的存在。理论上, 如果此 circRNA 能够翻译, 免疫印迹实验可以检测到插入 Flag 的蛋白, 而其他两个过表达载体翻译蛋白无法检测到。很遗憾的是, 本课题组根据上述做法, 对 circCDYL、circMED13L 翻译功能进行验证, 并未检测出相关蛋白。该结果提醒我们数据库预测只是提供一种理论可能, 还需要设计实验进行确认。而且, 根据最近文献参考显示, circRNA 翻译功能的验证还存在其他方法。因此, circRNA 翻译功能的验证还是需要更多实验去验证。本文接下来将介绍 circRNA 翻译蛋白在近几年的研究进展, 重点阐述 circRNA 翻译蛋白的多种验证方法及其在各种癌症中的功能 (表 1)。

3.1 胶质瘤

胶质瘤 (glioma tumorigenesis) 是脑中常见且最恶性的原发性肿瘤, 预后差和治疗难是胶质瘤致死率高的主要原因。2018 年, 中山大学张弩教授首次证实了 circRNA 翻译蛋白调控脑胶质瘤的发生、发展^[50]。circFBXW7 通过翻译 21 kD 蛋白, 调控原癌基因 c-Myc 蛋白的稳定性, 抑制恶性胶质瘤的细胞周期。同时, 该团队还发现了 circPINT 可以翻译为 87 个氨基酸的多肽, 该多肽可以作为转录因子与 PAF1 复合物相互作用, 影响 mRNA 的转录和延伸,

进一步研究显示, circPINT 翻译的多肽可以作为胶质瘤的抑制因子, 在胶质瘤疾病的临床研究中具有潜在的应用价值^[28]。此外, 还发现了 circAKT3 翻译蛋白可以在体内外抑制胶质瘤细胞的增殖、凋亡和肿瘤形成, 证实 circAKT3 翻译蛋白是胶质瘤患者潜在的预后标志物, 并有望应用于胶质瘤的临床诊断和预后评估^[51]。Zhang 等研究报道, 与正常人相比, circSHPRH 翻译蛋白在胶质瘤患者中表达下调, 并证明了 circSHPRH 翻译蛋白与胶质瘤恶性程度的相关性^[26]。此外, 该团队发现抑癌基因 E-Cadherin 可以形成 circRNA (circ-E-Cad), 并且其翻译蛋白具有促癌作用^[52]。最新研究报道, circSMO 翻译蛋白可以通过增强 Hedgehog 信号, 进而影响胶质瘤细胞的自我更新和体内致癌性^[53]。此外, circEGFR 被预测并验证存在无限循环的 ORF (infinite open reading frame, iORF), 该特殊翻译产物具有促进脑瘤启动细胞 (brain tumor initiating cell, BTIC) 成瘤的能力。研究发现, 靶向 EGFR 的单抗药物 Nimotuzumab 对胶质瘤无显著疗效, 但若同时干扰 circEGFR, 可以促进 Nimotuzumab 的药物敏感性, 该研究结果预示 circEGFR 及其翻译产物有望作为胶质瘤治疗的新靶点^[54]。

3.2 结肠癌

结肠癌 (colon cancer) 是全球范围内第四大危害人类生命的疾病。尽管结肠癌的治疗已经有了很大的改进, 但超过一半的结肠癌患者最终因为无法治疗而死亡。最新研究发现, 一种与结肠癌相关的 circRNA (circPPP1R12A) 可以翻译出 73 个氨基酸多肽, 该多肽和 circPPP1R12A 都在结肠癌中存在潜在作用, 研究证实 circPPP1R12A 翻译蛋白在结肠癌细胞的增殖、迁移和侵袭中起关键作用, 而并非 circPPP1R12A 本身。进一步研究发现, circPPP1R12A 翻译蛋

白通过激活 Hippo-YAP 信号通路来促进结肠癌的生长和转移。YAP 特异性抑制剂多肽显著降低了 circPPP1R12A 翻译蛋白对结肠癌细胞的促癌作用, 研究结果为结肠癌的治疗提供了新方法^[27]。此外, 研究还证明了 circFNDC3B 翻译蛋白可以抑制结肠癌的增殖、侵袭和迁移, 研究发现 circFNDC3B 翻译蛋白通过抑制 *Snail* 基因的表达, 从而增强了 *FBP1* 基因在结肠癌中的肿瘤抑制功能^[55]。总而言之, 以上 2 种机制的发现都为结肠癌的靶点治疗和临床研究提供了新方向。

3.3 胃癌

胃癌 (gastric cancer) 是全球最常见的恶性肿瘤之一。在过去的几十年里, 尽管已经做出了巨大的努力来改善胃癌的诊断和治疗, 但是胃癌的发病率和死亡率仍然很高。最近研究发现一种在胃癌中低表达的 circMAPK1, 该 circRNA 翻译蛋白通过与 MAPK1 竞争结合上游激酶 MEK1, 从而抑制了 MAPK1 的表达及其下游基因的磷酸化, 进而影响癌症的发生, 研究结果表明 circMAPK1 可以作为胃癌的治疗靶点^[56]。此外, 研究发现从人类基因 *DIDO1* 转录而来的 circDIDO1 翻译蛋白在胃癌的发生和发展中起重要作用, 该翻译蛋白可以与 PARP1 相互作用并抑制其活性。同时, circDIDO1 与 PRDX2 特异性结合可以促进 RBX1 介导的泛素化和 PRDX2 的降解, 导致其下游信号通路失活。研究表明, 在胃癌中具有肿瘤抑制功能的 circDIDO1 有望成为潜在的预后生物标志物和治疗靶点^[57]。

3.4 宫颈癌

宫颈癌 (cervical cancer) 是全球女性第二大常见癌症, 感染某些高危型人乳头瘤病毒 (human papilloma virus, HPV) 是宫颈癌的最大风险因素。最近研究发现, HPV 能产生多种

circRNA, 其中包括 circE7。该 circRNA 通过 m6A 修饰作用驱动翻译产生 E7 癌蛋白。研究发现, 在体外和肿瘤异种移植中, circE7 通过降低宫颈癌细胞 E7 癌蛋白水平来抑制癌细胞生长。结果显示病毒衍生的 circRNA 编码蛋白质具有生物学功能并与某些 HPV 的转化特性相关。此外, 高危 HPV 检测在宫颈癌筛查中的应用已经建立, circE7 翻译蛋白能否作为高危 HPV 人群的敏感标记, 以及 circE7 丰度能否在宫颈癌中具有预后意义, 这些仍然需要进一步科学探究^[58]。

3.5 乳腺癌

乳腺癌 (breast cancer) 是女性最常见的癌症。最新研究发现, circHER2 及其翻译蛋白均在临床样本中高表达, 敲除 circHER2 可以抑制乳腺癌的增殖、侵袭和体内外肿瘤发生, 该结果揭示了 circHER2 及其翻译蛋白在乳腺癌中的致癌性。进一步研究揭示了 circHER2 翻译蛋白可以促进表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR)/HER3 的二聚化和蛋白激酶 B (AKT) 的磷酸化。此外, circHER2 翻译蛋白与 HER2CR1 具有较高的同源性, 该结构域可以被帕妥珠单抗 (一种临床使用的 HER2 抗体) 拮抗, 研究表明帕妥珠单抗显著减弱了 circHER2 翻译蛋白在乳腺癌细胞中的致癌性。另外, 在阴性乳腺癌细胞中, 帕妥珠单抗对 circHER2 和 circHER2 翻译蛋白没有影响, 该机制的发现表明 circHER2 及其翻译蛋白的患者可受益于帕妥珠单抗, 这极大地促进了乳腺癌的临床和病例研究及其治疗方法^[59]。

3.6 多发性骨髓瘤

多发性骨髓瘤 (multiple myeloma) 是一种起源于骨髓的分子和细胞遗传学异质性血液恶性肿瘤, 其特征是染色体不稳定。尽管临床上使用靶向药物进行治疗, 如免疫调节剂和蛋白

酶抑制剂, 来改善多发性骨髓瘤患者的预后, 但多发性骨髓瘤仍然威胁生命且无法治愈。研究发现, 与正常人相比, 多发性骨髓瘤患者中 *BUB1B* 基因的表达量是显著增加的, 进一步研究显示 *BUB1B* 促进了骨髓瘤细胞增殖, 并在体外和体内诱导了肿瘤的耐药性, 而靶向基因 *BUB1B* 消除了这种影响。该机制研究揭示了 *BUB1B* 基因引起了染色体的不稳定。此外, 研究还发现在外周血中, circBUB1B 翻译的 544 个氨基酸蛋白的升高与多发性骨髓瘤密切相关, 并与基因 *BUB1B* 在诱发染色体不稳定方面起协同作用, 进一步研究发现多发性骨髓瘤细胞可以分泌 circBUB1B 翻译蛋白, 该蛋白与 *BUB1B* 全长蛋白以相同的方式干扰多发性骨髓瘤的肿瘤微环境。在体外和体内研究表明, *BUB1B* siRNA 靶向 *BUB1B* 和 circBUB1B 可以显著抑制多发性骨髓瘤的恶性程度。总之, 该研究结果预示了 *BUB1B* 和 circBUB1B 翻译蛋白将有希望成为多发性骨髓瘤的预后和治疗靶点^[60]。

4 总结与展望

随着高通量测序技术和生物信息学的广泛应用, 越来越多的 circRNA 被鉴定和研究。f-circRNA 的发现充分证实了 circRNA 与癌症的发生、发展存在密切联系。与此同时, circRNA 的翻译机制为揭示 circRNA 如何调控癌症的生理和病理过程提供了新的研究方向, 已成为人类癌症研究的热点。多项 circRNA 翻译机制的研究表明, 参与癌症相关基因调控的是 circRNA 翻译蛋白而非 circRNA 本身, 充分证明 circRNA 翻译蛋白在癌症研究中的重要性。前期研究发现, 融合蛋白的产生往往是肿瘤发生的早期事件, 因此, 来源于 f-circRNA 的融合蛋白将有望作为生物标志物或药物靶点应用于癌症诊断和治疗。另外, 筛选和验证具有编

表 1 可翻译 circRNA 在癌症中的作用及表达情况

Table 1 The function and expression of translatable circRNAs in cancer

circRNA	Cancer	Role in cancer	Regulations	References
circFBXW7	Glioma tumorigenesis	Anti-oncogene	Down-regulation	[50]
circPINT		Anti-oncogene	Down-regulation	[28]
circAKT3		Anti-oncogene	Down-regulation	[51]
circSHPRH	Colon cancer	Anti-oncogene	Down-regulation	[26]
circ-E-Cad		Oncogene	Up-regulation	[52]
circSMO		Oncogene	Up-regulation	[53]
circEGFR	Gastric cancer	Oncogene	Up-regulation	[54]
circPPP1R12A		Oncogene	Up-regulation	[27]
circFNDC3B		Anti-oncogene	Down-regulation	[55]
circMAPK1	Cervical cancer	Anti-oncogene	Down-regulation	[56]
circDIDO1		Anti-oncogene	Down-regulation	[57]
circE7		Oncogene	Up-regulation	[58]
circHER2	Breast cancer	Oncogene	Up-regulation	[59]
circBUB1B	Multiple myeloma	Oncogene	Up-regulation	[60]

码潜力的功能性 circRNA 具有一定的技术挑战。第一，生物信息学预测具有编码潜力的 circRNA 不一定翻译蛋白质，需要分子生物学实验进一步验证；第二，circRNA 翻译蛋白在正常组织和癌症中的表达具有显著差异，使其易于检测和应用；第三，circRNA 序列应包含一个完整的 ORF；第四，circRNA 翻译蛋白与其亲本基因共同调节癌症相关的信号通路。目前，大多数 circRNA 及其翻译蛋白仅在分子水平上被检测，尚未应用于癌症的临床诊断和治疗。相信随着新技术的应用和研究者们的不断探索，circRNA 翻译蛋白将会为癌症的攻克提供新的理论支撑和指导价值。

circRNA 翻译蛋白除了参与癌症的发生、发展之外，还有研究发现 circRNA 翻译蛋白可以控制成肌细胞的增殖和分化功能^[10,61]。同时，circRNA 翻译蛋白在多种细胞信号通路中也发挥重要作用^[62]。这些研究表明，circRNA 翻译机制还在机体其他方面发挥作用，具有较大的研究潜力。

总之，发掘 circRNA 翻译蛋白在癌症生物学中的不同分子机制将有希望为癌症的临床治

疗提供新的理论支撑。当然不可否认的是，circRNA 翻译机制的研究道路还很长，还有许多新的理论需要被揭示和阐明，任重而道远。这就需要一代一代科学家去攻克一个又一个难题，早日为癌症的研究和临床治疗开启新的篇章。

REFERENCES

- [1] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*, 2018, 68(6): 394-424.
- [2] Du WW, Yang WN, Liu E, et al. Foxo3 circular RNA retards cell cycle progression via forming ternary complexes with p21 and CDK2. *Nucleic Acids Res*, 2016, 44(6): 2846-2858.
- [3] Shen YY, Zhang MM, Da LS, et al. Circular RNA circ_SETD2 represses breast cancer progression via modulating the miR-155-5p/SCUBE2 axis. *Open Med (Wars)*, 2020, 15(1): 940-953.
- [4] Esteller M. Non-coding RNAs in human disease. *Nat Rev Genet*, 2011, 12(12): 861-874.
- [5] Stoll L, Sobel J, Rodriguez-Trejo A, et al. Circular RNAs as novel regulators of β -cell functions in normal and disease conditions. *Mol Metab*, 2018, 9: 69-83.
- [6] Wang YH, Yu XH, Luo SS, et al. Comprehensive circular RNA profiling reveals that circular RNA100783 is involved in chronic CD28-associated CD8(+)T cell ageing. *Immun Ageing*, 2015, 12: 17.

- [7] Zhou LY, Zhai M, Huang Y, et al. The circular RNA ACR attenuates myocardial ischemia/reperfusion injury by suppressing autophagy via modulation of the Pink1/FAM65B pathway. *Cell Death Differ*, 2019, 26(7): 1299-1315.
- [8] Braicu C, Zimta AA, Gulei DA, et al. Comprehensive analysis of circular RNAs in pathological states: biogenesis, cellular regulation, and therapeutic relevance. *Cell Mol Life Sci*, 2019, 76(8): 1559-1577.
- [9] Patop IL, Wüst S, Kadener S. Past, present, and future of circRNAs. *EMBO J*, 2019, 38(16): e100836.
- [10] Legnini I, Di Timoteo G, Rossi F, et al. Circ-ZNF609 is a circular RNA that can be translated and functions in myogenesis. *Mol Cell*, 2017, 66(1): 22-37.e9.
- [11] Pamudurti NR, Bartok O, Jens M, et al. Translation of CircRNAs. *Mol Cell*, 2017, 66(1): 9-21.e7.
- [12] Yang Y, Fan XJ, Mao MW, et al. Extensive translation of circular RNAs driven by N₆-methyladenosine. *Cell Res*, 2017, 27(5): 626-641.
- [13] Kolakofsky D. Isolation and characterization of Sendai virus DI-RNAs. *Cell*, 1976, 8(4): 547-555.
- [14] Sanger HL, Klotz G, Riesner D, et al. Viroids are single-stranded covalently closed circular RNA molecules existing as highly base-paired rod-like structures. *PNAS*, 1976, 73(11): 3852-3856.
- [15] Dong W, Bi JM, Liu HW, et al. Circular RNA ACVR2A suppresses bladder cancer cells proliferation and metastasis through miR-626/EYA4 axis. *Mol Cancer*, 2019, 18(1): 95.
- [16] Dube U, Del-Aguila JL, Li ZR, et al. An atlas of cortical circular RNA expression in Alzheimer disease brains demonstrates clinical and pathological associations. *Nat Neurosci*, 2019, 22(11): 1903-1912.
- [17] Cardamone G, Paraboschi EM, Rimoldi V, et al. The characterization of GSDMB splicing and backsplicing profiles identifies novel isoforms and a circular RNA that are dysregulated in multiple sclerosis. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(3): 576.
- [18] Jeck WR, Sharpless NE. Detecting and characterizing circular RNAs. *Nat Biotechnol*, 2014, 32(5): 453-461.
- [19] Li ZY, Huang C, Bao C, et al. Exon-intron circular RNAs regulate transcription in the nucleus. *Nat Struct Mol Biol*, 2015, 22(3): 256-264.
- [20] Liu X, Wang XL, Li JX, et al. Identification of mecciRNAs and their roles in the mitochondrial entry of proteins. *Sci China Life Sci*, 2020, 63(10): 1429-1449.
- [21] Kristensen LS, Andersen MS, Stagsted LVW, et al. The biogenesis, biology and characterization of circular RNAs. *Nat Rev Genet*, 2019, 20(11): 675-691.
- [22] Guarnerio J, Bezzi M, Jeong JC, et al. Oncogenic role of fusion-circRNAs derived from cancer-associated chromosomal translocations. *Cell*, 2016, 165(2): 289-302.
- [23] Gross JD, Moerke NJ, von der Haar T, et al. Ribosome loading onto the mRNA cap is driven by conformational coupling between eIF4G and eIF4E. *Cell*, 2003, 115(6): 739-750.
- [24] Lasda E, Parker R. Circular RNAs: diversity of form and function. *RNA*, 2014, 20(12): 1829-1842.
- [25] Yang Y, Wang ZF. IRES-mediated cap-independent translation, a path leading to hidden proteome. *J Mol Cell Biol*, 2019, 11(10): 911-919.
- [26] Zhang ML, Huang NN, Yang XS, et al. A novel protein encoded by the circular form of the SHPRH gene suppresses glioma tumorigenesis. *Oncogene*, 2018, 37(13): 1805-1814.
- [27] Zheng X, Chen LJ, Zhou Y, et al. A novel protein encoded by a circular RNA circPPP1R12A promotes tumor pathogenesis and metastasis of colon cancer via Hippo-YAP signaling. *Mol Cancer*, 2019, 18(1): 47.
- [28] Zhang ML, Zhao K, Xu XP, et al. A peptide encoded by circular form of LINC-PINT suppresses oncogenic transcriptional elongation in glioblastoma. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 4475.
- [29] Montero H, Pérez-Gil G, Sampieri CL. Eukaryotic initiation factor 4A (eIF4A) during viral infections. *Virus Genes*, 2019, 55(3): 267-273.
- [30] Pelletier J, Sonenberg N. Internal initiation of translation of eukaryotic mRNA directed by a sequence derived from poliovirus RNA. *Nature*, 1988, 334(6180): 320-325.
- [31] Godet AC, David F, Hantelys F, et al. IRES trans-acting factors, key actors of the stress response. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(4): 924.
- [32] Pelletier J, Sonenberg N. The organizing principles of eukaryotic ribosome recruitment. *Annu Rev Biochem*, 2019, 88: 307-335.
- [33] Kneller EL, Rakotondrafara AM, Miller WA. Cap-independent translation of plant viral RNAs. *Virus Res*, 2006, 119(1): 63-75.
- [34] Spriggs KA, Bushell M, Willis AE. Translational regulation of gene expression during conditions of cell stress. *Mol Cell*, 2010, 40(2): 228-237.
- [35] Stern-Ginossar N, Thompson SR, Mathews MB, et al. Translational control in virus-infected cells. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2019, 11(3): a033001.
- [36] Andreev DE, O'Connor PBF, Fahey C, et al. Translation of 5' leaders is pervasive in genes resistant

- to eIF₂ repression. *eLife*, 2015, 4: e03971.
- [37] Lan Q, Liu PY, Haase J, et al. The critical role of RNA m6A methylation in cancer. *Cancer Res*, 2019, 79(7): 1285-1292.
- [38] Meyer KD, Jaffrey SR. Rethinking m6A readers, writers, and erasers. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2017, 33: 319-342.
- [39] Lin SB, Choe J, Du P, et al. The m(6)A methyltransferase METTL3 promotes translation in human cancer cells. *Mol Cell*, 2016, 62(3): 335-345.
- [40] Liu JZ, Yue YN, Han DL, et al. A METTL3-METTL14 complex mediates mammalian nuclear RNA N⁶-adenosine methylation. *Nat Chem Biol*, 2014, 10(2): 93-95.
- [41] Ping XL, Sun BF, Wang L, et al. Mammalian WTAP is a regulatory subunit of the RNA N⁶-methyladenosine methyltransferase. *Cell Res*, 2014, 24(2): 177-189.
- [42] Schwartz S, Mumbach MR, Jovanovic M, et al. Perturbation of m6A writers reveals two distinct classes of mRNA methylation at internal and 5' sites. *Cell Rep*, 2014, 8(1): 284-296.
- [43] Mauer J, Sindelar M, Despic V, et al. FTO controls reversible m⁶A RNA methylation during snRNA biogenesis. *Nat Chem Biol*, 2019, 15(4): 340-347.
- [44] Shi HL, Zhang XL, Weng YL, et al. M6A facilitates *Hippocampus*-dependent learning and memory through YTHDF₁. *Nature*, 2018, 563(7730): 249-253.
- [45] Zheng GQ, Dahl JA, Niu YM, et al. ALKBH₅ is a mammalian RNA demethylase that impacts RNA metabolism and mouse fertility. *Mol Cell*, 2013, 49(1): 18-29.
- [46] Li JF, Meng S, Xu MJ, et al. Downregulation of N⁶-methyladenosine binding YTHDF₂ protein mediated by miR-493-3p suppresses prostate cancer by elevating N⁶-methyladenosine levels. *Oncotarget*, 2017, 9(3): 3752-3764.
- [47] Shi HL, Wei JB, He C. Where, when, and how: context-dependent functions of RNA methylation writers, readers, and erasers. *Mol Cell*, 2019, 74(4): 640-650.
- [48] Haussmann IU, Bodi Z, Sanchez-Moran E, et al. M6A potentiates Sxl alternative pre-mRNA splicing for robust *Drosophila* sex determination. *Nature*, 2016, 540(7632): 301-304.
- [49] Alarcón CR, Goodarzi H, Lee H, et al. HNRNPA2B1 is a mediator of m(6)A-dependent nuclear RNA processing events. *Cell*, 2015, 162(6): 1299-1308.
- [50] Yang YB, Gao XY, Zhang ML, et al. Novel role of FBXW7 circular RNA in repressing glioma tumorigenesis. *J Natl Cancer Inst*, 2018, 110(3): 304-315.
- [51] Xia X, Li XX, Li FY, et al. A novel tumor suppressor protein encoded by circular AKT3 RNA inhibits glioblastoma tumorigenicity by competing with active phosphoinositide-dependent Kinase-1. *Mol Cancer*, 2019, 18(1): 131.
- [52] Gao XY, Xia X, Li FY, et al. Circular RNA-encoded oncogenic E-cadherin variant promotes glioblastoma tumorigenicity through activation of EGFR-STAT3 signalling. *Nat Cell Biol*, 2021, 23(3): 278-291.
- [53] Wu XJ, Xiao SH, Zhang ML, et al. A novel protein encoded by circular SMO RNA is essential for Hedgehog signaling activation and glioblastoma tumorigenicity. *Genome Biol*, 2021, 22(1): 33.
- [54] Liu Y, Li ZJ, Zhang ML, et al. Rolling-translated EGFR variants sustain EGFR signaling and promote glioblastoma tumorigenicity. *Neuro-oncology*, 2021, 23(5): 743-756.
- [55] Pan ZH, Cai JY, Lin JT, et al. A novel protein encoded by circFNDC3B inhibits tumor progression and EMT through regulating Snail in colon cancer. *Mol Cancer*, 2020, 19(1): 71.
- [56] Jiang TL, Xia YW, Lv JL, et al. A novel protein encoded by circMAPK₁ inhibits progression of gastric cancer by suppressing activation of MAPK signaling. *Mol Cancer*, 2021, 20(1): 66.
- [57] Zhang Y, Jiang JJ, Zhang JY, et al. CircDIDO1 inhibits gastric cancer progression by encoding a novel DIDO1-529 aa protein and regulating PRDX2 protein stability. *Mol Cancer*, 2021, 20(1): 101.
- [58] Zhao JW, Lee EE, Kim J, et al. Transforming activity of an oncoprotein-encoding circular RNA from human papillomavirus. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 2300.
- [59] Li J, Ma MG, Yang XS, et al. Circular HER2 RNA positive triple negative breast cancer is sensitive to Pertuzumab. *Mol Cancer*, 2020, 19(1): 142.
- [60] Tang XZ, Guo MJ, Ding PG, et al. BUB1B and circBUB1B_{544aa} aggravate multiple myeloma malignancy through evoking chromosomal instability. *Signal Transduct Target Ther*, 2021, 6(1): 361.
- [61] Di Timoteo G, Dattilo D, Centrón-Broco A, et al. Modulation of circRNA metabolism by m6A modification. *Cell Rep*, 2020, 31(6): 107641.
- [62] Liang WC, Wong CW, Liang PP, et al. Translation of the circular RNA circ β -catenin promotes liver cancer cell growth through activation of the Wnt pathway. *Genome Biol*, 2019, 20(1): 84.

(本文责编 陈宏宇)