

DOI:10.16781/j.0258-879x.2019.08.0885

• 综述 •

## 环状 RNA 在肺部疾病中的研究进展

王晨, 蒋勇, 朱邦晖, 伍国胜, 孙瑜\*, 贵道锋, 夏照帆  
海军军医大学(第二军医大学)长海医院烧伤科, 上海 200433

**[摘要]** 肺部疾病是临床常见病, 其发病率逐年升高且治疗难度日益增大, 严重威胁人类的生命健康。高通量测序和基因芯片技术的长足发展使得被学术界忽略已久的环状 RNA (circRNA) 再度成为研究热点。CircRNA 在生物体内均有广泛表达, 对生物功能发挥着重要的调控作用, 并具有高度的特异性、稳定性和保守性, 在疾病的诊疗方面潜力巨大。本文总结了 circRNA 在肺部疾病中的研究进展, 为肺部疾病的诊治提供一定的理论依据。

**[关键词]** 环状 RNA; 生物学标记; 肺疾病; 肺肿瘤

**[中图分类号]** R 563; R 734.2 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2019)08-0885-04

### Circular RNA in the lung diseases: research progress

WANG Chen, JIANG Yong, ZHU Bang-hui, WU Guo-sheng, SUN Yu\*, BEN Dao-feng, XIA Zhao-fan

Department of Burn, Changhai Hospital, Naval Medical University (Second Military Medical University), Shanghai 200433, China

**[Abstract]** Lung diseases, with high-incidence, are clinically common and difficult to treat, posing a serious threat to human health. With the development of gene detection and high-throughput sequencing technology, circular RNA (circRNA) has become a research focus again. CircRNA is widely expressed in organisms and plays important regulatory roles in biological progress. Due to its high specificity, conservation and stability, circRNA has great potential in the diagnosis and treatment of diseases. This paper summarizes the roles of circRNA in lung diseases research, hoping to provide theoretical support for the diagnosis and treatment of lung diseases.

**[Key words]** circular RNA; biological markers; lung diseases; lung neoplasms

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2019, 40(8): 885-888]

近年来,随着社会经济的发展,环境污染日益加剧,各类癌症和肺部相关疾病(如肺癌、肺炎、肺结核、低氧性肺动脉高压等)的发病率明显升高。我国国家癌症登记中心的统计结果显示,2015年度中国确诊的患癌人数和死亡人数分别超过400万和200万,其中肺癌患病人数和死亡人数分别为73万和61万,占据我国癌症类疾病发病率及死亡率的榜首<sup>[1]</sup>,因此,肺部疾病也成为当今研究的焦点。肺部疾病治疗难度大,寻找有效的预防和检测手段是研究的重点。高通量测序和基因芯片技术的长足进步使生物标志物相关领域获得迅猛发展,其在疾病诊断与判断分期等方面发挥着重要作用<sup>[2]</sup>。标志物的稳定程度决定其精准度,传统的生物标志物如微RNA(microRNA, miRNA)、短肽

等在体内的稳定性较差,而近年研究的明星分子环状RNA(circular RNA, circRNA)具有独特的环状结构,拥有高度的稳定性、保守性和特异性,发挥着重要的调控功能<sup>[3-4]</sup>。目前, circRNA的研究主要集中在肺癌方面,但在其他肺部疾病中的研究相对较少。本文从 circRNA 的发现过程出发,对其分类和在肺部相关疾病中的研究进展作一综述,以期能为肺部疾病的诊治提供一定的理论依据。

### 1 CircRNA 概述

区别于常规的线性RNA, circRNA 缺少5'-端帽子和3'-端多聚A尾结构,其通过共价键连接首尾形成不易被降解的闭环状结构<sup>[3-4]</sup>,半衰期长达48 h以上,具有高度的特异性、稳定性和保守性,

**[收稿日期]** 2019-02-26 **[接受日期]** 2019-03-29

**[基金项目]** 国家自然科学基金(81772125)。Supported by National Natural Science Foundation of China (81772125)。

**[作者简介]** 王晨, 博士生。E-mail: davy233@sina.com

\*通信作者(Corresponding author)。Tel: 021-31161831, E-mail: littlefish0916@126.com

能稳定存在于细胞质内<sup>[5]</sup>,这些特性使其有望成为疾病诊疗的标志物和作用靶点。

**1.1 CircRNA 的发现** 1977年, Hewlett 等<sup>[6]</sup>率先用电镜在病毒中观察到单链闭合的 circRNA 分子,揭开了 circRNA 的研究大幕。2年后, Hsu 和 Coca-Prados<sup>[7]</sup>首次在真核细胞中发现了 circRNA。随后, Arnberg 等<sup>[8]</sup>和 Cocquerelle 等<sup>[9]</sup>分别在酵母细胞和人体细胞的研究中取得突破,证实 circRNA 是广泛存在的。但此后的近 20 年, circRNA 作为非编码序列其功能一直未被学术界得知,相关研究进入了空窗期。直到 2012 年,借助先进的 RNA 检测技术, Salzman 等<sup>[10]</sup>证实了 circRNA 在人类癌细胞及胚胎干细胞中广泛存在,使得 circRNA 再度成为研究热点之一。

**1.2 CircRNA 的分类** 从 2013 年 Jeck 等<sup>[5]</sup>提出“外显子环化”理论到 2014 年 Zhang 等<sup>[11-12]</sup>提出“内含子环化”现象,关于 circRNA 的产生机制仍在不断完善。根据成环方式的不同, circRNA 可分为 3 种类型:外显子环化形成的 circRNA (exonic circular RNA, ecircRNA)<sup>[5]</sup>、内含子环化形成的 circRNA (intronic circular RNA, ciRNA)<sup>[11-12]</sup>、外显子-内含子环化形成的 circRNA (exon-intron circular RNA, EircRNA)<sup>[13]</sup>。其中,以 ecircRNA 最为常见<sup>[14]</sup>。

**1.3 CircRNA 的作用机制** CircRNA 的作用机制可分为如下几方面:(1)内源性竞争 RNA。Memczak 等<sup>[15]</sup>的研究表明,每个 CDR1as 分子能结合 63 个 miRNA-7 分子,从而影响靶基因的表达;进一步实验发现 CDR1as 过表达会导致机体发育迟滞,此时人工给予 CDR1as 可改善发育情况,证明 CDR1as 通过与 miRNA-7 结合而发挥作用。Hansen 等<sup>[16]</sup>研究证实,人和小鼠脑组织中的 ciRS-7 含 70 个 miRNA-7 结合位点,能抑制 miRNA-7 的表达。上述研究说明 circRNA 具有明显的 miRNA 海绵作用,有望成为基因诊疗层面的突破点。(2)调控基因转录过程。Zhang 等<sup>[12]</sup>研究表明,来源于内含子的 ciRNA 之所以能在细胞内积累,是因为它能逃离脱支酶的分解作用,并能与 RNA 结合酶 II 相互作用,从而正向调节基因转录。(3)与 RNA 结合蛋白作用。EcircRNA 能特异性结合细胞蛋白和 RNA/DNA 分子,如 ecircRNA 可同时作用于 AGO 蛋白和 RNA 聚合酶 II,从而调控基因转录<sup>[17]</sup>。(4)其他。研究证实

circRNA 与线性 RNA 竞争剪接因子影响 mRNA 形成,进而影响蛋白质的合成<sup>[18]</sup>。

## 2 CircRNA 与肺癌

CircRNA 在肺癌中的作用已有较多研究涉及,但作为生物标志物及其作用机制仍需进一步研究阐明。

肺腺癌作为非小细胞肺癌 (non-small cell lung cancer, NSCLC) 的亚类,目前已有大量相关的研究。Zhu 等<sup>[19]</sup>首次运用微阵列芯片技术筛选肺腺癌组织中的 circRNA,发现近 60 个 circRNA 分子的表达有改变,并证实 hsa\_circ\_0013958 表达上调与癌细胞的增殖、转移密切相关;此外,它含有大量 miRNA-134 结合位点,能特异性结合并抑制 miRNA-134 的作用,有望成为肺腺癌潜在标志物和诊疗靶点。Zhao 等<sup>[20]</sup>通过对 4 例早期肺腺癌患者的肿瘤样本和癌旁正常组织的测序分析,筛选出 357 个差异表达的 circRNA,随后在 14 个样本中 (4 例肺腺癌, 10 例癌旁正常组织) 用 PCR 技术验证了其中 5 个 circRNA (hsa\_circ\_0404833、0406483、0006411、0401977、0001640), 结果与生物信息学分析一致,表明 circRNA 能为此类疾病的早期诊断与干预治疗提供潜在靶点。

此外, Jiang 等<sup>[21]</sup>的研究表明, hsa\_circ\_0007385 参与 NSCLC 的发生、发展进程,有望成为潜在的标志物和诊疗靶点。Zhang 等<sup>[22]</sup>的研究结果显示 hsa\_circ\_0014130 与 NSCLC 密切相关,可以作为 NSCLC 的一种生物标志物。Yao 等<sup>[23]</sup>的研究证实, hsa\_circ\_100876 在 NSCLC 组织中的表达水平升高, Kaplan-Meier 生存分析表明其高表达患者的总生存时间较短,认为 hsa\_circ\_100876 与 NSCLC 病程发展密切相关,有望成为 NSCLC 的特异性标志物和治疗靶点。Luo 等<sup>[24]</sup>的研究提示肺癌组织中 hsa\_circ\_0000064 表达升高,并且与 TNM 分期呈正相关,可作为肺癌的潜在生物标志物。

## 3 CircRNA 与其他肺部疾病

**3.1 肺结核** Huang 等<sup>[25]</sup>发现,外周活化的单核细胞中存在一系列解除控制的 circRNA,并证明 hsa\_circ\_0001937 与肺结核发生密切相关。此外,肺结核患者血浆中 hsa\_circ\_0009024 的表达升高,而且经过抗结核治疗后其表达水平下降,有望成为

肺结核诊疗的特异性标志物<sup>[26]</sup>。

3.2 致病菌导致的肺部疾病 (1) 链球菌。Hirai 等<sup>[27]</sup>通过基因序列分析精确鉴定了链球菌的分类, 并挑选出致病性最强的菌株, 该菌株的作用也被证实与 circRNA 有关。(2) 社区获得性耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 (community acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, CA-MASA)。Wan 等<sup>[28]</sup>完整检测了西伯利亚 ST8/SCCmecIV 的环状基因组序列, 发现 36.0% 的基因组与美国菌株相比是反向的, 正是这个原因导致该菌强大的致病性和免疫耐受性。(3) 鸟杆菌属。鸟杆菌属 ORT-UMN 88 是一种革兰阴性菌, 会导致家禽肺炎及肺泡炎。该菌株从火鸡肺中分离得到, 成为研究细菌潜在毒素的研究热点。通过基因组测序发现 ORT-UMN 88 包含 1 个含 2 397 867 碱基对的环状染色体, 证实该肺炎与 circRNA 密切相关<sup>[29]</sup>。

(4) 真菌。Blasi 等<sup>[30]</sup>发现, 外伤性皮炎致病菌黑色酵母菌的细胞壁厚而有力, 能耐受各种极端的温度、酸碱度等, 该酵母菌除了蛋白质编码基因以外, 非编码 RNA、circRNA 及融合-转录基因均受到不同程度的调节, 而且融合-转录基因的功能被证实与温度适应有关。

3.3 低氧性肺动脉高压 研究者发现, 在低氧性肺动脉高压模型组肺组织中发现了 60 多个表达改变的 circRNA, 证明 circRNA 可能参与低氧性肺动脉高压调控机制<sup>[31]</sup>。Wang 等<sup>[32]</sup>的研究选择了 12 个不同表达的 circRNA, 预测了可能与 circRNA 结合的 miRNA, 结果表明这些 circRNA 可能是疾病的生物标志物和潜在治疗靶点。

3.4 先天性心脏病肺动脉高压 研究人员通过检测先天性心脏病肺动脉高压患者的血清样本, 证实 hsa\_circ\_0029642 表达下调, 提示 hsa\_circ\_0029642 有望成为肺动脉高压疾病的生物标志物<sup>[33]</sup>。

#### 4 小结

研究表明 circRNA 在真核细胞中广泛存在并发挥着重要作用。相对于传统的生物标志物, circRNA 具有高度的稳定性、特异性和保守性, 已逐渐成为新一代的生物标志物和治疗靶点。肺部疾病的诊疗缺乏病程早期预防及诊断的特异性预测因子, 目前 circRNA 在肺部疾病的研究中取得了一定进展, 特别是在肺癌方面 (如 hsa\_circ\_0013958

在肺腺癌、hsa\_circ\_0007385 在 NSCLC 中均能起到生物标志物和潜在治疗靶点的作用), 但对其作用机制的探讨相对较少。当前肺部疾病研究主要集中在肺癌方面, 其他病种涉及相对较少; 已报道的 circRNA 成环方式以外显子环化为主, 而其他生成方式 (如内含子环化、外显子-内含子环化) 的研究报道相对较少, 仍需进一步探索。

#### [参考文献]

- [1] CHEN W, ZHENG R, BAADE P D, ZHANG S, ZENG H, BRAY F, et al. Cancer statistics in China, 2015[J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66: 115-132.
- [2] FAN P C, CHANG C H, CHANG Y. Biomarkers for acute cardiorenal syndrome[J]. Nephrology (Carlton), 2018, 23(Suppl 4): 68-71.
- [3] CHEN L L, YANG L. Regulation of circRNA biogenesis[J]. RNA Biol, 2015, 12: 381-388.
- [4] HENTZE M W, PREISS T. Circular RNAs: splicing's enigma variations[J]. EMBO J, 2013, 32: 923-925.
- [5] JECK W R, SORRENTINO J A, WANG K, SLEVIN M K, BURD C E, LIU J, et al. Circular RNAs are abundant, conserved, and associated with ALU repeats[J]. RNA, 2013, 19: 141-157.
- [6] HEWLETT M J, PETERSSON R F, BALTIMORE D. Circular forms of Uukuniemi virion RNA: an electron microscopic study[J]. J Virol, 1977, 21: 1085-1093.
- [7] HSU M T, COCA-PRADOS M. Electron microscopic evidence for the circular form of RNA in the cytoplasm of eukaryotic cells[J]. Nature, 1979, 280: 339-340.
- [8] ARNBERG A C, VAN OMMEN G J, GRIVELL L A, VAN BRUGGEN E F, BORST P. Some yeast mitochondrial RNAs are circular[J]. Cell, 1980, 19: 313-319.
- [9] COCQUERELLE C, MASCREZ B, HÉTUIN D, BAILLEUL B. Mis-splicing yields circular RNA molecules[J]. FASEB J, 1993, 7: 155-160.
- [10] SALZMAN J, GAWAD C, WANG P L, LACAYO N, BROWN P O. Circular RNAs are the predominant transcript isoform from hundreds of human genes in diverse cell types[J/OL]. PLoS One, 2012, 7: e30733. doi: 10.1371/journal.pone.0030733.
- [11] ZHANG X O, WANG H B, ZHANG Y, LU X, CHEN L L, YANG L. Complementary sequence-mediated exon circularization[J]. Cell, 2014, 159: 134-147.
- [12] ZHANG Y, ZHANG X O, CHEN T, XIANG J F, YIN Q F, XING Y H, et al. Circular intronic long noncoding RNAs[J]. Mol Cell, 2013, 51: 792-806.
- [13] LI Z, HUANG C, BAO C, CHEN L, LIN M, WANG X, et al. Exon-intron circular RNAs regulate transcription in the nucleus[J]. Nat Struct Mol Biol, 2015, 22: 256-264.



- [14] PANDA A C, DE S, GRAMMATIKAKIS I, MUNK R, YANG X, PIAO Y, et al. High-purity circular RNA isolation method (RPAD) reveals vast collection of intronic circRNAs[J/OL]. *Nucleic Acids Res*, 2017, 45: e116. doi: 10.1093/nar/gkx297.
- [15] MEMCZAK S, JENS M, ELEFSINIOTI A, TORTI F, KRUEGER J, RYBAK A, et al. Circular RNAs are a large class of animal RNAs with regulatory potency[J]. *Nature*, 2013, 495: 333-338.
- [16] HANSEN T B, JENSEN T I, CLAUSEN B H, BRAMSEN J B, FINSEN B, DAMGAARD C K, et al. Natural RNA circles function as efficient microRNA sponges[J]. *Nature*, 2013, 495: 384-388.
- [17] SCHNEIDER T, HUNG L H, SCHREINER S, STARKE S, ECKHOF H, ROSSBACH O, et al. CircRNA-protein complexes: IMP3 protein component defines subfamily of circRNPs[J/OL]. *Sci Rep*, 2016, 6: 31313. doi:10.1038/srep 31313.
- [18] ASHWAL-FLUSS R, MEYER M, PAMUDURTI N, IVANOV A, BARTOK O, HANAN M, et al. CircRNA biogenesis competes with pre-mRNA splicing[J]. *Mol Cell*, 2014, 56: 55-66.
- [19] ZHU X, WANG X, WEI S, CHEN Y, CHEN Y, FAN X, et al. Hsa\_circ\_0013958: a circular RNA and potential novel biomarker for lung adenocarcinoma[J]. *FEBS J*, 2017, 284: 2170-2182.
- [20] ZHAO J, LI L, WANG Q, HAN H, ZHAN Q, XU M. CircRNA expression profile in early stage lung adenocarcinoma patients[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 44: 2138-2146.
- [21] JIANG M M, MAI Z T, WAN S Z, CHI Y M, ZHANG X, SUN B H, et al. Microarray profiles reveal that circular RNA hsa\_circ\_0007385 functions as an oncogene in non-small cell lung cancer tumorigenesis[J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2018, 144: 667-674.
- [22] ZHANG S, ZENG X, DING T, GUO L, LI Y, OU S, et al. Microarray profile of circular RNAs identifies hsa\_circ\_0014130 as a new circular RNA biomarker in non-small cell lung cancer[J/OL]. *Sci Rep*, 2018, 8: 2878. doi: 10.1038/S41598-21300-5.
- [23] YAO J T, ZHAO S H, LIU Q P, LV M Q, ZHOU D X, LIAO Z J, et al. Over-expression of circRNA\_100876 in non-small cell lung cancer and its prognostic value[J]. *Pathol Res Pract*, 2017, 213: 453-456.
- [24] LUO Y H, ZHU X Z, HUANG K W, ZHANG Q, FAN Y X, YAN P W, et al. Emerging roles of circular RNA hsa\_circ\_0000064 in the proliferation and metastasis of lung cancer[J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 96: 892-898.
- [25] HUANG Z K, YAO F Y, XU J Q, DENG Z, SU R G, PENG Y P, et al. Microarray expression profile of circular RNAs in peripheral blood mononuclear cells from active tuberculosis patients[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 45: 1230-1240.
- [26] 黄自坤,黄清水,罗清,姚芳苒,彭亦平,徐建青,等. 血浆环状 RNA hsa\_circ\_0009024 表达在肺结核诊疗中的应用价值[J]. *中华检验医学杂志*, 2018, 41: 399-404.
- [27] HIRAI J, SAKANASHI D, HAGIHARA M, HARANAGA S, UECHI K, KATO H, et al. Bacteremia due to *Streptococcus tigurinus*: a case report and literature review[J]. *J Infect Chemother*, 2016, 22: 762-766.
- [28] WAN T W, KHOKHLOVA O E, IWAO Y, HIGUCHI W, HUNG W C, REVA I V, et al. Complete circular genome sequence of successful ST8/SCCmecIV community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (OC8) in Russia: one-megabase genomic inversion, IS256's spread, and evolution of Russia ST8-IV[J/OL]. *PLoS One*, 2016, 11: e0164168. doi: 10.1371/journal.pone.0164168.
- [29] ZEHR E S, BAYLES D O, BOATWRIGHT W D, TABATABAI L B, REGISTER K B. Complete genome sequence of *Ornithobacterium rhinotracheale* strain ORT-UMN 88[J/OL]. *Stand Genomic Sci*, 2014, 9: 16. doi: 10.1186/1944-3277-9-16.
- [30] BLASI B, TAFER H, TESEI D, STERFLINGER K. From glacier to sauna: RNA-Seq of the human pathogen black fungus *Exophiala dermatitidis* under varying temperature conditions exhibits common and novel fungal response[J/OL]. *PLoS One*, 2015, 10: e0127103. doi: 10.1371/journal.pone.0127103.
- [31] 夏世金,邵先桃,李炳,苏晋燕,狄桦,刘露梅,等. 低氧性肺动脉高压小鼠肺的环状 RNA 表达谱研究[J/CD]. *中华肺部疾病杂志(电子版)*, 2015, 8: 34-38.
- [32] WANG J, ZHU M C, KALIONIS B, WU J Z, WANG L L, GE H Y, et al. Characteristics of circular RNA expression in lung tissues from mice with hypoxia-induced pulmonary hypertension[J]. *Int J Mol Med*, 2018, 42: 1353-1366.
- [33] 彭文林,蹇朝,刘超,孟永胜,朱昀,姜云瀚,等. 循环环状 RNA hsa\_circ\_0029642 与成人先天性心脏病肺动脉高压的关系[J]. *第三军医大学学报*, 2017, 39: 1005-1008.

[本文编辑] 尹 茶