

DOI: 10.13376/j.cblls/20210127

文章编号: 1004-0374(2021)09-1153-08

环状RNA翻译在癌症中的研究进展

潘大维¹, 赵源², 梁佳卉¹, 周波^{2*}, 刘娇^{3*}

(1 陆军特色医学中心消化内科, 重庆 400042; 2 陆军军医大学基础医学院, 重庆 400038; 3 北部战区总医院消化内科, 沈阳 110016)

摘要: 环状 RNA 是一类有着独特环状结构的非编码 RNA, 它在生物体内有微小 RNA 分子海绵、蛋白质脚手架、调控基因转录、调控可变剪接、进入外泌体等多种经典功能机制。虽然环状 RNA 被定义成一种非编码 RNA, 但随着生物信息学和翻译组学的发展与应用, 越来越多的研究发现, 环状 RNA 是能够被翻译的。该文介绍了现在主要的环状 RNA 翻译的调控机制, 总结了目前研究环状 RNA 翻译的常用数据库, 汇总了环状 RNA 翻译的蛋白质和多肽在癌症中的最新发现, 讨论了环状 RNA 翻译的应用前景和问题, 旨在促进发现更多由环状 RNA 编码的与肿瘤相关的蛋白质和多肽。

关键词: 环状 RNA; 非编码 RNA; 翻译; 胶质瘤; 结肠癌

中图分类号: R34; R730.2 文献标志码: A

Advances in circular RNAs translation in cancers

PAN Da-Wei¹, ZHAO Yuan², LIANG Jia-Hui¹, ZHOU Bo^{2*}, LIU Jiao^{3*}

(1 Department of Gastroenterology, Army Characteristic Medical Center, Chongqing 400042, China;

2 School of Basic Medicine, Army Medical University, Chongqing 400038, China;

3 Department of Gastroenterology, General Hospital of Northern Theater Command, Shenyang 110016, China)

Abstract: Circular RNA is a class of non-coding RNAs with unique circular structure, and it has classic functional mechanisms in organisms such as microRNA molecular sponges, protein scaffolds, regulating transcription, regulating alternative splicing, packaging into exosomes. Although circular RNA is defined as a kind of non-coding RNA, with the development and application of proteomics bioinformatics and translation profiling, a growing number of studies have found that circular RNA can be translated. In this article, we introduce the main regulatory mechanism of circular RNA translation, summarize the commonly used databases for studying circular RNA translation, describe the latest findings of circular RNA translation in cancer, and discuss the application prospect and problems of circular RNA translation, in order to promote the discovery of more tumor-related proteins and peptides encoded by circular RNAs.

Key words: circular RNA; non-coding RNA; translation; glioma; colon cancer

环状 RNA 由编码基因的反向剪接产生, 它与 mRNA 的不同点在于没有 5' 端的帽子和 3' 端的尾巴, 而是形成了共价封闭的环状结构。由于这种环状结构, 环状 RNA 避免了外切酶的识别和降解, 这使得它比 mRNA 表达更稳定^[1]。环状 RNA 在癌症发生发展中的许多调控途径已被阐明, 如它可以通过染色质的重塑、表观遗传的调控、蛋白质的修饰、RNA 的降解等途径来发挥作用^[2]。环状 RNA 在生物体内发挥微小 RNA 分子海绵、蛋白质脚手

架等功能已被熟知, 但大多数环状 RNA 的功能仍然不清楚。

1991 年, Nigro 等^[3]在高等真核生物中发现了环状 RNA, 当时只是被认为是 RNA 剪接的低丰度

收稿日期: 2021-03-30; 修回日期: 2021-04-30

基金项目: 国家自然科学基金项目(81802465)

*通信作者: E-mail: boom000721@163.com (周波);
liujiao861119@hotmail.com (刘娇)

副产物。1995年, 研究报道了环状RNA可以结合核糖体, 暗示了环状RNA有可以作为mRNA来指导蛋白质合成的可能性^[4]。1998年的一项研究表明在大肠杆菌中环状RNA能表达绿色荧光蛋白, 这提示了环状RNA翻译的可能性^[5]。然而, 传统的观点认为环状RNA是属于非编码RNA的一类, 是不能被翻译的, 尽管之后已经在人类活细胞^[6]、类病毒^[7]中检测到了环状RNA的翻译, 但环状RNA不能被翻译的传统观点仍然占据主要地位。到了2017年, 有研究证据表明了环状RNA不仅广泛地存在翻译^[8], 而且有几种环状RNA编码的多肽还被确切地验证过^[9-10]。于是, 环状RNA能被翻译的概念逐渐被接受。值得注意的是, 2019年, 在人类心脏中进行的翻译组学研究鉴定了40个环状RNA编码的多肽和蛋白质^[11], 并且它们还可能与心脏细胞的线粒体功能有关, 这项研究对环状RNA的翻译提供了又一个强有力的证据。总之, 从2017年到现在, 环状RNA的翻译逐渐被认同并成为了一个新的研究热点, 其编码的多肽和蛋白质为人类生理和疾病研究提供了一个新方向。

1 环状RNA翻译的调控机制

环状RNA的翻译目前有两种主要的调控机制。第一个是RNA碱基的一种腺苷甲基化修饰, 即N⁶-甲基腺苷(m⁶A)修饰。有研究发现, 在雄性生殖细胞中, 大概有一半的环状RNA含有m⁶A修饰的开放阅读框, 并且质谱技术检测到这些环状RNA翻译出了数百个蛋白质和多肽, 提示了这些含有m⁶A修饰的环状RNA可以被翻译^[12]。此外, 还有研究表明, 环状RNA上的m⁶A修饰可以有效促进环状RNA的翻译起始, 而且单个的m⁶A修饰就足以启动翻译^[8]。m⁶A启动的环状RNA翻译依赖于YTHDF3 m⁶A阅读器和eIF4G2因子, 并且m⁶A去甲基化酶FTO减少了环状RNA的翻译, 腺苷甲基转移酶METTL3/14增加了环状RNA的翻译^[8]。第二个环状RNA翻译的调控机制是在环状RNA中的一个RNA功能元件, 即IRES(内部核糖体进位点)元件^[13]。IRES在环状RNA上可以形成二级结构的序列, 在部分或完全缺乏经典翻译起始因子时允许翻译启动。mRNA有帽子依赖的经典翻译起始方式和非帽子依赖的非经典翻译起始方式。由于环状RNA独特的环状结构, 环状RNA只能通过非经典的途径来启动翻译, 即通过IRES元件来招募核糖体启动翻译。

2 环状RNA翻译的常用数据库

随着环状RNA翻译的研究深入, 越来越多预测和识别环状RNA翻译的数据库被开发出来, 其中最新开发出来的是IRESbase^[14]、ncEP^[15]、TransCirc^[16]和riboCIRC^[17], 其他相关的常用数据库见表1。IRESbase相比于其他IRES数据库有以下优势: (1)数量多, IRESbase有1328条; (2)冗余度低, IRESbase只收集具有功能的最短核心区域; (3)信息量更丰富。ncEP是一个专门收集非编码RNA编码的蛋白质或多肽的数据库, 该数据库包含了在已发表文章中的由非编码RNA编码的经低通量实验验证的蛋白质或多肽。TransCirc数据库是一个环状RNA翻译潜力预测和分析的数据库, 该数据库整合并直观地呈现了各种与翻译相关的证据信息。该数据库为人类环状RNA的翻译潜能提供了7个方面的证据信息: (1)核糖体印迹或多聚核糖体分析的证据; (2)蛋白质谱证据; (3)IRES预测结果; (4)m⁶A修饰位点信息; (5)翻译起始位点信息; (6)潜在翻译产物序列分析; (7)开放阅读框信息。riboCIRC是在TransCirc之后新出的又一个关于环状RNA翻译的数据库。和TransCirc一样, riboCirc也提供了许多与环状RNA翻译相关的信息, 包括: (1)环状RNA翻译的实验证据; (2)质谱信息; (3)IRES信息; (4)m⁶A修饰信息; (5)开放阅读框信息; (6)环状RNA翻译产物的注释(结构/亚细胞定位等); (7)跨物种保守性。

3 环状RNA的翻译和肿瘤

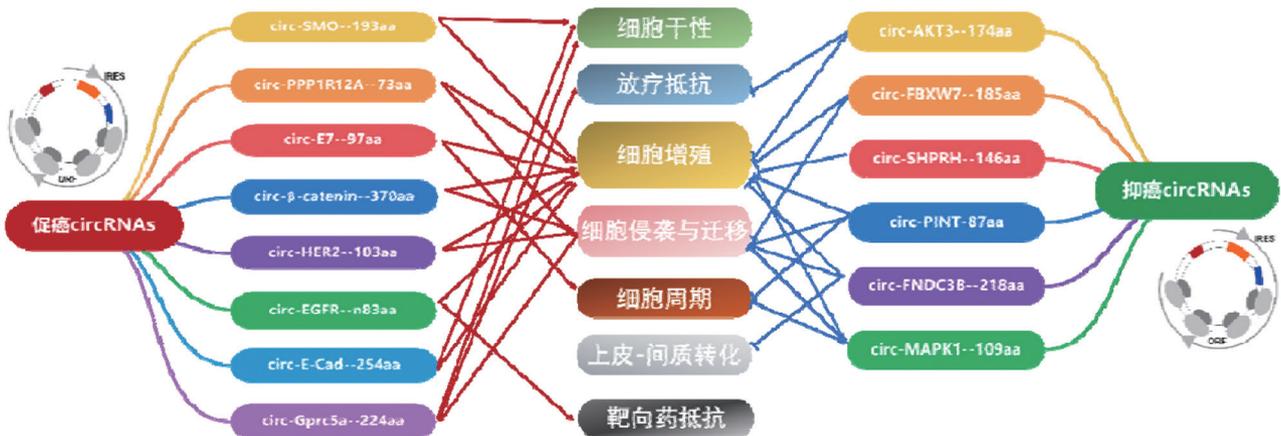
环状RNA可以通过微小RNA分子海绵、蛋白质脚手架、调控基因转录、调控可变剪接、进入外泌体等功能机制在癌症中发挥促癌或抑癌功能^[30]。相比于在癌症中环状RNA的经典调节机制的研究, 环状RNA翻译的研究起步较晚, 从2017年开始才有报道环状RNA翻译在癌症中的作用。随着环状RNA翻译逐渐受到关注, 其在癌症中的作用陆续被发现。本文把最近几年在癌症中报道的环状RNA产生的重要蛋白质和多肽进行了汇总, 并且用图1和图2更好地展示了环状RNA翻译在癌症中的研究进展。

3.1 环状RNA的翻译与胶质瘤

2017年, 环状RNA在国际上首次被报道可以在癌症中翻译出全新蛋白质, 并且发挥重要的抑癌功能。首次被发现的环状RNA是*circ-FBXW7*^[31],

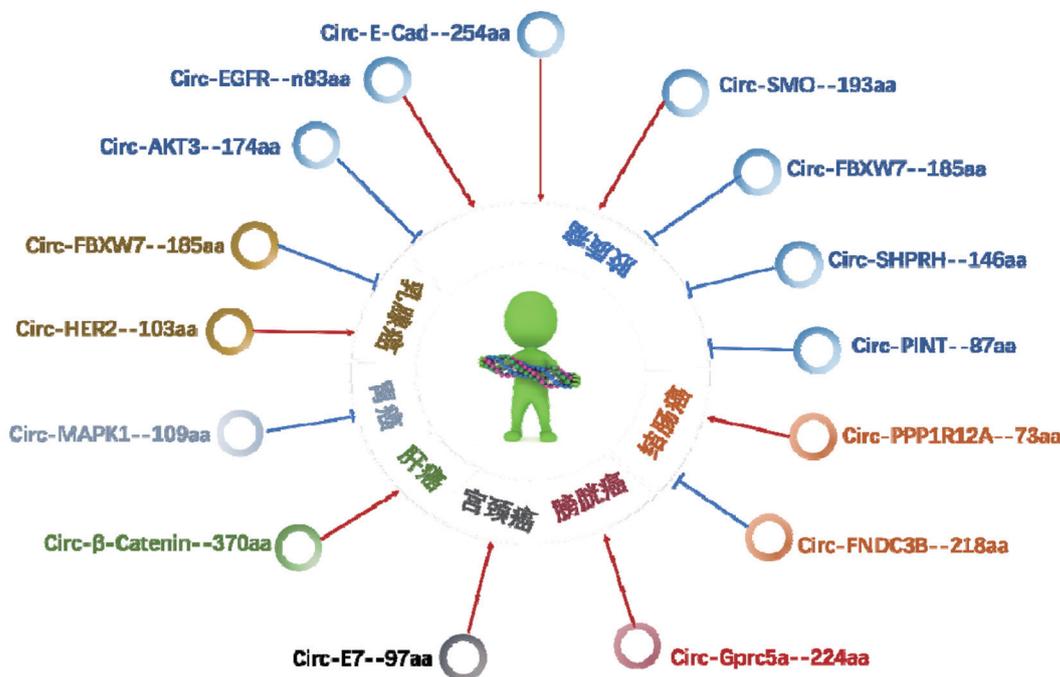
表1 常用的环状RNA翻译数据库

数据库	数据库简介	链接	文献
IRESbase	收集了不少被实验证实的包含IRES结构的环状RNA	http://reprod.njmu.edu.cn/cgi-bin/iresbase/index.php	[14]
ncEP	专门收集了非编码RNA编码的蛋白质或肽	http://www.jianglab.cn/ncEP/	[15]
TransCirc	收集了有关环状RNA翻译多个方面的证据信息, 并预测和分析环状RNA的翻译	https://www.biosino.org/transcirc/	[16]
riboCIRC	综合了许多环状RNA翻译相关的证据信息, 可预测环状RNA的翻译潜能	http://www.ribocirc.com/index.html	[17]
circRNADb	展示了环状RNA的开放阅读框和IRES的信息	http://reprod.njmu.edu.cn/circrnadb	[18]
circBase	提供支持环状RNA表达的证据	http://cirbase.org/	[19]
CircPro	预测和发现有翻译潜能的环状RNA	http://bis.zju.edu.cn/CircPro	[20]
CircCode	高准确度地识别翻译的环状RNA	https://github.com/PSSUN/CircCode	[21]
TISdb	搜寻高信度的翻译起始位点和相关的开放阅读框	http://tisdb.human.cornell.edu	[22]
SmProt	记录了小开放阅读框产生的小肽和小蛋白的多方面信息	http://bioinfo.ibp.ac.cn/SmProt	[23]
sORFs.org	提供小开放阅读框翻译的证据, 并且检测小开放阅读框的翻译潜力	http://www.sorfs.org	[24]
IRESite	评估环状RNA上的IRES元件	http://www.iresite.org	[25]
CircAtlas	包含了环状RNA翻译相关的开放阅读框和IRES信息	http://circatlas.biols.ac.cn/	[26]
Circad	最新地提供了目前疾病相关的环状RNA	http://clingen.igib.res.in/circad/	[27]
Circbank	预测到大量环状RNA包含IRES元件	http://www.circbank.cn	[28]
IRESfinder	对IRES进行预测和分析	https://github.com/xiaofengsong/IRESfinder	[29]



Circ-SMO、*circ-PPP1R12A*、*circ-E7*、*circ-β-catenin*、*circ-HER2*、*circ-EGFR*、*circ-E-Cad*、*circ-Gprc5a*是有翻译能力的促癌环状RNA。*Circ-SMO*翻译出了由193个氨基酸组成的蛋白质来促进细胞干性和细胞增殖；*circ-PPP1R12A*翻译出了由73个氨基酸组成的多肽来促进细胞侵袭与转移；*circ-E7*翻译出了由97个氨基酸组成的多肽来促进细胞增殖、加快细胞周期；*circ-β-catenin*翻译出了由370个氨基酸组成的蛋白质来促进细胞增殖、侵袭与转移；*circ-HER2*翻译出了由103个氨基酸组成的蛋白质来促进细胞增殖、侵袭与转移；*circ-EGFR*的滚环翻译形成了83个氨基酸的不同倍数的一系列翻译产物，这些产物促进细胞增殖、靶向药抵抗；*circ-E-Cad*翻译出了由254个氨基酸组成的蛋白质来促进细胞干性和细胞增殖；*circ-Gprc5a*翻译出了由224个氨基酸组成的蛋白质来促进细胞干性、放疗抵抗以及细胞侵袭和转移。*Circ-AKT3*、*circ-FBXW7*、*circ-SHPRH*、*circ-PINT*、*circ-FNDC3B*、*circ-MAPK1*是有翻译能力的抑癌环状RNA。*Circ-AKT3*翻译出了由174个氨基酸组成的蛋白质来抑制放疗抵抗和细胞增殖；*circ-FBXW7*翻译出了由185个氨基酸组成的蛋白质来抑制细胞增殖、侵袭与转移；*circ-SHPRH*翻译出了由146个氨基酸组成的蛋白质来抑制细胞增殖；*circ-PINT*翻译出了由87个氨基酸组成的多肽来抑制细胞增殖、侵袭与转移以及控制细胞周期；*circ-FNDC3B*翻译出了由218个氨基酸组成的蛋白质来抑制抑制细胞增殖、侵袭与转移、上皮与间质间的转化；*circ-MAPK1*翻译出了由109个氨基酸组成的蛋白质来控制细胞周期和抑制细胞增殖。

图1 环状RNA的翻译在癌症中的功能性作用



在胶质瘤中, *circ-AKT3*、*circ-FBXW7*、*circ-SHPRH*、*circ-PINT*通过翻译出蛋白质或多肽来发挥抑癌功能, *circ-SMO*、*circ-EGFR*、*circ-E-Cad*通过翻译出蛋白质或多肽来发挥促癌功能。在结肠癌中, *circ-PPP1R12A*翻译出多肽来发挥促癌功能, *circ-FNDC3B*翻译出蛋白质来发挥抑癌功能。在膀胱癌中, *circ-Gprc5a*翻译出蛋白质来发挥促癌功能。在宫颈癌中, *circ-E7*翻译出多肽来发挥促癌功能。在肝癌中, *circ-β-catenin*翻译出蛋白质来发挥促癌功能。在胃癌中, *circ-MAPK1*翻译出蛋白质来发挥抑癌功能。在乳腺癌中, *circ-HER2*翻译出蛋白质来发挥促癌功能, *circ-FBXW7*翻译出蛋白质来发挥抑癌功能。

图2 各种癌症中环状RNA的翻译

在正常人脑组织中高表达, 且临床数据分析发现 *circ-FBXW7* 的表达与胶质瘤患者的生存期呈正相关。*Circ-FBXW7* 编码一个名为 FBXW7-185aa 的蛋白质, 其过表达明显抑制了体内外癌细胞的增殖。机制上, *c-Myc* 是著名的原癌基因, USP28 是一种与 *c-Myc* 结合并稳定的去泛素化酶, FBXW7-185aa 可以拮抗 USP28 诱导的 *c-Myc* 的稳定, 从而抑制胶质瘤的发生发展。

2018年, 研究报道了在胶质瘤中环状 RNA 翻译的两项进展。第一项进展是 *circ-SHPRH* 所翻译的含有 146 个氨基酸的肿瘤抑制蛋白, 名为 SHPRH-146aa^[32]。在胶质瘤细胞中, SHPRH-146aa 表达升高降低其恶性行为, 并且可以延长胶质瘤患者的生存时间。机制上, 全长 SHPRH 作为 E3 泛素连接酶可以泛素化增殖细胞核抗原, 抑制细胞增殖和致癌性; 而 SHPRH-146aa 作为一种保护性诱饵分子, 可以保护全长 SHPRH 不被泛素蛋白酶体降解, 从而抑制肿瘤增殖。第二项进展是 *circ-PINT* 所编码的含有 87 个氨基酸的多肽^[33]。与正常组织相比, 该多肽的表达在肿瘤中显著下调, 并且实验表明, 该多肽抑制了胶质瘤细胞在体内外的增殖。机制上,

该多肽通过与聚合酶相关因子复合物基因 PAF1 结合后, 抑制了多种原癌基因的转录延伸, 进而抑制胶质瘤的发生发展。

2019年, 关于环状 RNA 翻译在胶质瘤中的研究又取得进展。与相邻的正常组织相比, *circ-AKT3* 在胶质瘤组织中表达水平明显降低。*Circ-AKT3* 通过重叠密码子编码新的功能性蛋白, 并命名为 AKT3-174aa^[34]。AKT3-174aa 是一个具有抑癌功能的蛋白质, 它在肿瘤里低水平表达并且和生存期相关联, 而 AKT3-174aa 的过表达能抑制肿瘤增殖以及增加放疗诱导的细胞凋亡。机制上, AKT3 作为 PI3K/AKT 信号转导通路的关键枢纽分子在癌症的发生发展中发挥重要作用, 而 AKT3-174aa 与磷酸化的 PDK1 结合并相互作用后, 会降低 AKT 的磷酸化, 从而负调控 PI3K/AKT 信号通路来抑制胶质瘤的发生发展。

2020年, 又有研究报道了环状 RNA 翻译在胶质瘤中的作用。来源于 *EGFR* 基因的 *circ-EGFR* 的表达水平在胶质瘤中显著升高, 且高表达 *circ-EGFR* 的患者预后更差。有趣的是, *circ-EGFR* 中存在无限循环的开放阅读框, 可以翻译成一系列的每 83

个氨基酸一个循环的不同次数的翻译产物, 称为滚环翻译 EGFR^[35]。功能上, 滚环翻译 EGFR 具有促进癌细胞成瘤的能力。重要的是, 尼妥珠单抗这种靶向 EGFR 基因的单抗药物在胶质瘤中的疗效较差, 但降低 *circ-EGFR* 可以明显促进胶质瘤对尼妥珠单抗药物敏感。机制上, 滚环翻译 EGFR 可以结合并稳定 EGFR, 从而促进胶质瘤细胞成瘤并对尼妥珠单抗药物耐药。

2021年, Wu等^[36]发现了 *circ-SMO* 在胶质瘤中表达水平显著升高, 且 *circ-SMO* 表达水平高的患者预后更差。*Circ-SMO* 编码了一个全新的命名为 SMO-193aa 的蛋白质。功能上, 干扰 *circ-SMO* 后显著抑制了胶质瘤细胞增殖能力以及胶质瘤干细胞的自我更新能力。机制上, Hedgehog 通路参与调控细胞增殖和干细胞分化, 在正常的成人人体内组织中该通路关闭, 当有胶质瘤时该通路被重新激活来促进肿瘤的发生发展。SMO-193aa 的过表达促进了 Hedgehog 通路的活化, 从而促进胶质瘤的肿瘤进展。

此外, 2021年还报道了来源于 *E-Cadherin* 基因的 *circ-E-Cad* 可以翻译产生一个含有 254 个氨基酸的新型蛋白质 C-E-Cad^[37]。该蛋白质在癌组织中的表达显著高于癌旁组织, 并且高表达该蛋白的患者预后更差。功能上, C-E-Cad 促进了肿瘤干细胞的干性和自我更新, 以及促进了颅内肿瘤的生长。机制上, C-E-Cad 分泌至胞外, 然后结合并独立激活 EGFR 和 EGFRvIII 突变体, 并且通过 EGFR 实现 STAT3 的磷酸化激活。有趣的是, 该研究结果揭示了来源于抑癌基因的环状 RNA 也可以具有促癌的效果。另外, 动物实验结果表明 C-E-Cad 中和抗体与 EGFR 靶向药尼妥珠单抗在抑制肿瘤生长时发挥了协同作用, 这提示了两者的联合治疗显著抑制了肿瘤进程, 延长了裸鼠生存期, 这为未来开发靶向这一靶点的药物提供了依据。

3.2 环状RNA的翻译与乳腺癌

三阴性乳腺癌是乳腺癌的一种类型, 因为缺乏孕激素受体、雌激素受体以及受体酪氨酸激酶的表达, 所以, 其侵袭性和转移能力强、总体生存率低、复发率高。因此, 寻找更多针对三阴性乳腺癌有效的治疗靶点是有必要的。*Circ-FBXW7* 在三阴性乳腺癌细胞中表达下调, 而且 *circ-FBXW7* 低表达时临床结局较差。之前在胶质瘤中发现了 *circ-FBXW7* 编码有抑癌功能的蛋白质, 有意思的是, 研究者在三阴性乳腺癌中也发现 *circ-FBXW7* 编码同样的蛋白质^[38], 并且该蛋白质通过同样的机制抑制了三阴

性乳腺癌的发生发展。因此, *circ-FBXW7* 不仅可以作为胶质瘤潜在的治疗靶点, 也可以作为三阴性乳腺癌潜在的治疗靶点。

2020年, 研究发现, *circ-HER2* 约在 30% 的三阴性乳腺癌的癌组织中高表达, 并且 *circ-HER2* 高表达的患者治疗效果明显更差。通过实验证实, *circ-HER2* 编码一个含有 103 个氨基酸的多肽, 名为 HER2-103^[39]。HER2-103 表现出促进三阴性乳腺癌细胞增殖和侵袭的重要功能。机制上, HER2-103 通过与 EGFR 或 HER3 直接相互作用诱导 EGFR/EGFR 或 EGFR/HER3 的二聚化, 进而加强下游的 AKT 通路来促进肿瘤增殖。有趣的是, 帕妥珠单抗可以特异地靶向抑制 HER2-103 来减少下游 AKT 通路的激活, 从而抑制了三阴性乳腺癌的发生和发展。

3.3 环状RNA的翻译与肝癌

与邻近的正常组织相比, *circ-β-catenin* 在肝癌组织中的表达水平明显上调。在体内外实验中, 敲低 *circ-β-catenin* 表达后癌细胞的增殖、迁移和侵袭能力明显降低。*Circ-β-catenin* 编码了一个全新的蛋白质, 名为 β-catenin-370aa^[40]。GSK3β 蛋白激酶可以磷酸化 β-catenin, 磷酸化的 β-catenin 被泛素化后经蛋白酶体降解。β-catenin-370aa 与 GSK3β 蛋白激酶结合, 竞争性地抑制 GSK3β 蛋白激酶与 β-catenin 结合, 从而拮抗了 β-catenin 的泛素化降解, 激活了 Wnt 通路。综上所述, *circ-β-catenin* 编码的 β-catenin-370aa 蛋白竞争性抑制了 β-catenin 的泛素化降解, 导致正反馈激活 Wnt 信号通路, 促进了肝癌细胞的生长、增殖和转移。

3.4 环状RNA的翻译与宫颈癌

人乳头瘤病毒 (HPV) 是球形双链 DNA 病毒, 有 100 多种亚型, 其中高风险 HPV 的毒株有 HPV16 和 18, 可引起宫颈癌。2019年, Zhao等^[41]研究表明, 高风险 HPV16 的 *circ-E7* 翻译的 E7 多肽可促进子宫颈癌细胞发生转化。*Circ-E7* 存在一定水平的 m⁶A 修饰, 当 *circ-E7* 的 m⁶A 修饰突变时, 明显抑制了 E7 多肽的表达。在宫颈癌细胞中, 敲低 *circ-E7* 表达并降低 E7 多肽的表达水平, 在体内外都抑制了肿瘤细胞的增殖和生长。由于 *circ-E7* 的稳定性和 E7 多肽的致癌作用, *circ-E7* 和 E7 多肽可作为在宫颈癌中潜在的肿瘤标志物。虽然 *circ-E7* 和 E7 肽在致癌中发挥重要作用, 但是 E7 多肽的确切作用机制尚不清楚, 其机制的阐明还需要更多的研究。

3.5 环状RNA的翻译与膀胱癌

相比于癌旁组织,膀胱癌组织和膀胱癌干细胞中 *circ-Gprc5a* 的表达水平明显上调,并且 *circ-Gprc5a* 表达水平高的患者生存率明显降低。*Circ-Gprc5a* 过表达时促进膀胱癌干细胞的自我更新和转移,而下调 *circ-Gprc5a* 表达水平则相反。*Gprc5a* 是膀胱癌干细胞所需的重要蛋白, *circ-Gprc5a* 翻译出的含有 224 个氨基酸的蛋白质与 *Gprc5a* 结合后可促进膀胱癌的转移^[42]。值得注意的是,研究者建立了 *circ-Gprc5a* 不能产生肽的突变细胞,导致 *circ-Gprc5a* 功能受损,膀胱癌的成瘤能力和膀胱癌干细胞的比例明显下降,提示 *circ-Gprc5a* 翻译的蛋白质有重要的致癌功能。

3.6 环状RNA的翻译与结肠癌

与正常组织相比,在结肠癌组织中 *circ-FNDC3B* 显著低表达,并且 *circ-FNDC3B* 表达低的患者预后更差、生存期更短。*Circ-FNDC3B* 编码了一个新的蛋白质,名为 *circ-FNDC3B-218aa*^[43]。功能上, *circ-FNDC3B* 的过表达抑制了癌细胞的增殖、侵袭和迁移,下调 *circ-FNDC3B* 则促进癌细胞的增殖和迁移侵袭。机制上, *circ-FNDC3B* 通过翻译出的 *circ-FNDC3B-218aa* 降低 *Snai1* 的表达,最终抑制了上皮-间质转化和肿瘤进展。*Circ-PPP1R12A* 在结肠癌组织中的表达水平显著升高,并且 *circ-PPP1R12A* 表达水平高的患者的生存期明显变短。*Circ-PPP1R12A* 编码一个全新的多肽^[44]。功能上,该多肽在体内外都促进了结肠癌细胞的增殖、迁移和侵袭;机制上,该多肽通过激活 Hippo-YAP 信号通路来促进结肠癌细胞的生长和转移。总之, *circ-FNDC3B-218aa* 和 *circ-PPP1R12A-73aa* 可能成为结肠癌的潜在治疗靶点。

3.7 环状RNA的翻译与胃癌

MAPK 通路在肿瘤发生发展中发挥着重要的作用,来源于 MAPK1 基因的环状 RNA,即 *circ-MAPK1* 在胃癌组织中显著下调,并且 *circ-MAPK1* 表达低的胃癌患者预后更差^[45]。*Circ-MAPK1* 主要定位于细胞质中,它可编码出一个含有 109 个氨基酸的新型蛋白质,即 *circMAPK1-109aa*。生存分析表明 *circMAPK1-109aa* 低表达的胃癌患者预后更差,提示 *circMAPK1-109aa* 可能发挥抑癌作用。功能上,实验结果验证了 *circMAPK1-109aa* 具有抑癌作用,过表达 *circMAPK1-109aa* 显著抑制了细胞增殖和迁移侵袭。机制上, *circMAPK1-109aa* 竞争性结合 MEK1,抑制了 MAPK1 与 MEK1 的有效结合,从而抑制了

MAPK1 的磷酸化,发挥了对 MAPK 通路的调控作用。总之, *circMAPK1-109aa* 通过调控 MAPK 通路抑制了胃癌的发生发展。

4 总结与展望

除了环状 RNA,目前也报道了长非编码 RNA^[46-51] 和 mRNA 的非翻译区域^[52] 在癌症中编码了有致癌和抑癌功能的多肽和蛋白质。因此,非编码 RNA,尤其是环状 RNA 编码的多肽和蛋白质有很好的应用前景,可能成为抑制肿瘤的治疗靶点、诊断癌症的肿瘤标志物、预测癌症患者预后的标志物。癌症体液活检的传统标志物有体液循环中的肿瘤细胞、代谢物、蛋白质、游离 DNA 和游离 RNA 等。相比于其他标志物,环状 RNA 的优势是:(1)环状 RNA 因其闭环结构具有高度稳定性;(2)虽然大多数环状 RNA 在组织中表达丰度低,但其中还是有一些有重要功能的环状 RNA 的表达水平要比对应的线性 RNA 高;(3)环状 RNA 的表达水平具有组织细胞特异性和时间特异性;(4)在癌症患者和健康人之间,某些环状 RNA 在体液中的表达水平有明显差异。以上这些特征提示,相比于其他标志物,环状 RNA 用作生物标志物时可能具有更好的分析有效性,包括特异性、准确性、可重复性^[53],这表明体液中的环状 RNA 有望在临床上应用于癌症诊断和癌症发展监测。如果在体液中环状 RNA 能明显表达出多肽或蛋白质,那么在体液中的环状 RNA 翻译产物就有可能应用于诊断癌症和监测癌症发展。

细胞外环状 RNA 可以在癌细胞增殖、癌症转移、耐药性等生物学过程中发挥至关重要的作用,至今已有许多细胞外环状 RNA 在癌症治疗中的研究^[53]。另外,环状 RNA 的翻译也有巨大的治疗癌症的潜力:一方面,靶向减少环状 RNA 编码的有致癌功能的多肽或蛋白质可以成为治疗癌症的方向;另一方面,多肽和蛋白质被认为是安全、高选择性和有良好耐受性的治疗方法,可以通过设计环状 RNA 编码出抑制肿瘤的肽或蛋白质来进行癌症的治疗。之前有研究设计了有翻译能力的环状 RNA,并利用载体把环状 RNA 导入到细胞中,结果显示能检测到环状 RNA 的翻译^[54-56],这表明可以通过设计具有翻译能力的环状 RNA 来稳定表达多肽或蛋白质。

尽管环状 RNA 翻译有很大的应用前景,但有几个问题值得思考。环状 RNA 翻译的调控机制还有哪些;哪些条件会影响环状 RNA 的翻译;除了

目前发现的非编码 RNA 翻译, 其他非编码 RNA (如 tRNA、rRNA、piRNA、snoRNA) 是否也能编码功能性的多肽或蛋白质; 能否改善现有的翻译组学技术来识别、确认更多的与疾病相关的多肽或蛋白质。环状 RNA 翻译还存在一些挑战, 如一般情况下多数环状 RNA 表达丰度低, 这导致很难确定这些环状 RNA 是否重要, 而且由于环状 RNA 低水平表达会导致其翻译产物水平太低, 从而可能会检测不出其翻译产物并忽略环状 RNA 的翻译能力。另外, 环状 RNA 翻译的效率会出现不高的情况, 这也会导致忽略环状 RNA 的翻译能力。现在除了用数据库和工具多方面预测其是否有翻译潜能, 还要有多个实验证据来验证环状 RNA 的翻译, 如通过核糖体测序、RNA 测序、质谱、western blot、免疫荧光来验证, 但鉴定环状 RNA 的翻译能力还存在不足, 如何优化预测方法、改善实验鉴定技术以及开发更有效的鉴定技术是未来研究环状 RNA 翻译所需要思考的。

致谢: 感谢陆军特色医学中心消化内科兰春慧教授对这项工作的指导以及支持。

[参 考 文 献]

- [1] Kristensen LS, Andersen MS, Stagsted LVW, et al. The biogenesis, biology and characterization of circular RNAs. *Nat Rev Genet*, 2019, 20: 675-91
- [2] Chen LL. The expanding regulatory mechanisms and cellular functions of circular RNAs. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2020, 21: 475-90
- [3] Nigro JM, Cho KR, Fearon ER, et al. Scrambled exons. *Cell*, 1991, 64: 607-13
- [4] Chen CY, Sarnow P. Initiation of protein synthesis by the eukaryotic translational apparatus on circular RNAs. *Science*, 1995, 268: 415-7
- [5] Perriman R, Ares M Jr. Circular mRNA can direct translation of extremely long repeating-sequence proteins *in vivo*. *RNA*, 1998, 4: 1047-54
- [6] Wang Y, Wang Z. Efficient backsplicing produces translatable circular mRNAs. *RNA*, 2015, 21: 172-9
- [7] AbouHaidar MG, Venkataraman S, Golshani A, et al. Novel coding, translation, and gene expression of a replicating covalently closed circular RNA of 220 nt. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2014, 111: 14542-7
- [8] Yang Y, Fan X, Mao M, et al. Extensive translation of circular RNAs driven by N⁶-methyladenosine. *Cell Res*, 2017, 27: 626-41
- [9] 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: 22-37, e29
- [10] Pamudurti NR, Bartok O, Jens M, et al. Translation of circRNAs. *Mol Cell*, 2017, 66: 9-21, e27
- [11] van Heesch S, Witte F, Schneider-Lunitz V, et al. The translational landscape of the human heart. *Cell*, 2019, 178: 242-60, e229
- [12] Tang C, Xie Y, Yu T, et al. m⁶A-dependent biogenesis of circular RNAs in male germ cells. *Cell Res*, 2020, 30: 211-28
- [13] Yang Y, Wang Z. IRES-mediated cap-independent translation, a path leading to hidden proteome. *J Mol Cell Biol*, 2019, 11: 911-9
- [14] Zhao J, Li Y, Wang C, et al. IRESbase: a comprehensive database of experimentally validated internal ribosome entry sites. *Genom Proteom Bioinf*, 2020, 18: 129-39
- [15] Liu H, Zhou X, Yuan M, et al. ncEP: a manually curated database for experimentally validated ncRNA-encoded proteins or peptides. *J Mol Biol*, 2020, 432: 3364-8
- [16] Huang W, Ling Y, Zhang S, et al. TransCirc: an interactive database for translatable circular RNAs based on multi-omics evidence. *Nucleic Acids Res*, 2021, 49: D236-42
- [17] Li H, Xie M, Wang Y, et al. riboCIRC: a comprehensive database of translatable circRNAs. *Genome Biol*, 2021, 22: 79
- [18] Chen X, Han P, Zhou T, et al. circRNADb: a comprehensive database for human circular RNAs with protein-coding annotations. *Sci Rep*, 2016, 6: 34985
- [19] Glazar P, Papavasileiou P, Rajewsky N. circBase: a database for circular RNAs. *RNA*, 2014, 20: 1666-70
- [20] Meng X, Chen Q, Zhang P, et al. CircPro: an integrated tool for the identification of circRNAs with protein-coding potential. *Bioinformatics*, 2017, 33: 3314-6
- [21] Sun P, Li G. CircCode: a powerful tool for identifying circRNA coding ability. *Front Genet*, 2019, 10: 981
- [22] Wan J, Qian SB. TISdb: a database for alternative translation initiation in mammalian cells. *Nucleic Acids Res*, 2014, 42: D845-50
- [23] Hao Y, Zhang L, Niu Y, et al. SmProt: a database of small proteins encoded by annotated coding and non-coding RNA loci. *Brief Bioinform*, 2018, 19: 636-43
- [24] Olexiuk V, Van Criekinge W, Menschaert G. An update on sORFs.org: a repository of small ORFs identified by ribosome profiling. *Nucleic Acids Res*, 2018, 46: D497-502
- [25] Mokrejs M, Masek T, Vopalensky V, et al. IRESite -- a tool for the examination of viral and cellular internal ribosome entry sites. *Nucleic Acids Res*, 2010, 38: D131-6
- [26] Wu W, Ji P, Zhao F. CircAtlas: an integrated resource of one million highly accurate circular RNAs from 1070 vertebrate transcriptomes. *Genome Biol*, 2020, 21: 101
- [27] Rophina M, Sharma D, Poojary M, et al. Circad: a comprehensive manually curated resource of circular RNA associated with diseases. *Database (Oxford)*, 2020, 2020: baaa019
- [28] Liu M, Wang Q, Shen J, et al. Circbank: a comprehensive database for circRNA with standard nomenclature. *RNA Biol*, 2019, 16: 899-905
- [29] Zhao J, Wu J, Xu T, et al. IRESfinder: identifying RNA internal ribosome entry site in eukaryotic cell using

- framed k-mer features. *J Genet Genomics*, 2018, 45: 403-6
- [30] Xiao MS, Ai Y, Wilusz JE. Biogenesis and functions of circular RNAs come into focus. *Trends Cell Biol*, 2020, 30: 226-40
- [31] Yang Y, Gao X, Zhang M, et al. Novel role of FBXW7 circular RNA in repressing glioma tumorigenesis. *J Natl Cancer Inst*, 2018, 110: 304-15
- [32] Zhang M, Huang N, Yang X, et al. A novel protein encoded by the circular form of the SHPRH gene suppresses glioma tumorigenesis. *Oncogene*, 2018, 37: 1805-14
- [33] Zhang M, Zhao K, Xu X, et al. A peptide encoded by circular form of LINC-PINT suppresses oncogenic transcriptional elongation in glioblastoma. *Nat Commun*, 2018, 9: 4475
- [34] Xia X, Li X, Li F, 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: 131
- [35] Liu Y, Li Z, Zhang M, et al. Rolling-translated EGFR variants sustain EGFR signaling and promote glioblastoma tumorigenicity. *Neuro Oncol*, 2021, 23: 743-56
- [36] Wu X, Xiao S, Zhang M, et al. A novel protein encoded by circular SMO RNA is essential for Hedgehog signaling activation and glioblastoma tumorigenicity. *Genome Biol*, 2021, 22: 33
- [37] Gao X, Xia X, Li F, et al. Circular RNA-encoded oncogenic E-cadherin variant promotes glioblastoma tumorigenicity through activation of EGFR-STAT3 signalling. *Nat Cell Biol*, 2021, 23: 278-91
- [38] Ye F, Gao G, Zou Y, et al. circFBXW7 inhibits malignant progression by sponging miR-197-3p and encoding a 185-aa protein in triple-negative breast cancer. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2019, 18: 88-98
- [39] Li J, Ma M, Yang X, et al. Circular HER2 RNA positive triple negative breast cancer is sensitive to Pertuzumab. *Mol Cancer*, 2020, 19: 142
- [40] 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: 84
- [41] Zhao J, Lee EE, Kim J, et al. Transforming activity of an oncoprotein-encoding circular RNA from human papillomavirus. *Nat Commun*, 2019, 10: 2300
- [42] Gu C, Zhou N, Wang Z, et al. circGprc5a promoted bladder oncogenesis and metastasis through Gprc5a-targeting peptide. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2018, 13: 633-41
- [43] Pan Z, Cai J, Lin J, et al. A novel protein encoded by circFNDC3B inhibits tumor progression and EMT through regulating Snail in colon cancer. *Mol Cancer*, 2020, 19: 71
- [44] Zheng X, Chen L, 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: 47
- [45] Jiang T, Xia Y, Lv J, et al. A novel protein encoded by circMAPK1 inhibits progression of gastric cancer by suppressing activation of MAPK signaling. *Mol Cancer*, 2021, 20: 66
- [46] Huang JZ, Chen M, Chen, et al. A peptide encoded by a putative lncRNA HOXB-AS3 suppresses colon cancer growth. *Mol Cell*, 2017, 68:171-84,e176
- [47] Guo B, Wu S, Zhu X, et al. Micropeptide CIP2A-BP encoded by LINC00665 inhibits triple-negative breast cancer progression. *EMBO J*, 2020, 39: e102190
- [48] Meng N, Chen M, Chen, et al. Small protein hidden in lncRNA LOC90024 promotes "cancerous" RNA splicing and tumorigenesis. *Adv Sci (Weinh)*, 2020, 7: 1903233
- [49] Pang Y, Liu Z, Han H, et al. Peptide SMIM30 promotes HCC development by inducing SRC/YES1 membrane anchoring and MAPK pathway activation. *J Hepatol*, 2020, 73: 1155-69
- [50] Wang Y, Wu S, Zhu X, et al. LncRNA-encoded polypeptide ASRPS inhibits triple-negative breast cancer angiogenesis. *J Exp Med*, 2020, 217: 1-18
- [51] Zhu S, Wang JZ, Chen, et al. An oncopeptide regulates m⁶A recognition by the m⁶A reader IGF2BP1 and tumorigenesis. *Nat Commun*, 2020, 11: 1685
- [52] Huang N, Li F, Zhang M, et al. An upstream open reading frame in phosphatase and tensin homolog encodes a circuit breaker of lactate metabolism. *Cell Metab*, 2021, 33: 128-44.e129
- [53] Wen G, Zhou T, Gu W. The potential of using blood circular RNA as liquid biopsy biomarker for human diseases. *Protein Cell*, 2020 [Online ahead of print]
- [54] Wesselhoeft RA, Kowalski PS, Anderson DG. Engineering circular RNA for potent and stable translation in eukaryotic cells. *Nat Commun*, 2018, 9: 2629
- [55] Meganck RM, Borchardt EK, Castellanos Rivera RM, et al. Tissue-dependent expression and translation of circular RNAs with recombinant AAV vectors *in vivo*. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2018, 13: 89-98
- [56] Wesselhoeft RA, Kowalski PS, Parker-Hale FC, et al. RNA circularization diminishes immunogenicity and can extend translation duration *in vivo*. *Mol Cell*, 2019, 74: 508-20,e504