

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2021.

View this article at: <http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2021>.

## 环状 RNA 在肿瘤免疫中的研究进展

赵国云, 朱梦迪 综述 孙宇辉 审校

(哈尔滨医科大学附属第一医院妇产科, 哈尔滨 150000)

**[摘要]** 非编码RNA(noncoding RNA, ncRNA)可以分为环状RNA(circular RNA, circRNA)和线性非编码RNA。ncRNA存在于不同的细胞类型中,包括正常细胞、肿瘤细胞和免疫细胞等。目前已经发现线性ncRNA,如长链非编码RNA(long noncoding RNA, lncRNA)和微小RNA(microRNA, miRNA),在调节肿瘤免疫和免疫治疗中起重要作用。但是, circRNA在肿瘤免疫和免疫治疗中的功能鲜为人知。

**[关键词]** 环状RNA; 非编码RNA; 微小RNA; 肿瘤免疫; 靶向治疗

## Research progress of circular RNA in tumor immunity

ZHAO Guoyun, ZHU Mengdi, SUN Yuhui

(Department of Obstetrics and Gynecology, The First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150000, China)

**Abstract** Non-coding RNA (ncRNA) can be divided into circular non-coding RNA (circRNA) and linear ncRNA. ncRNA exists in different cell types, including normal cells, tumor cells and immune cells. It has been found that linear ncRNAs, such as long noncoding RNA (lncRNA) and microRNA (miRNA), play an important role in regulating tumor immunity and immunotherapy. However, it's rarely known about the role of circRNA in tumor immunity.

**Keywords** circular RNA; non-coding RNA; microRNA; tumor immunity; targeted therapy

癌症发病率和病死率的逐年上升是对人类健康的主要威胁。对全世界的研究人员来说,如何安全有效的治愈癌症是一项巨大的挑战。传统的肿瘤治疗方法包括手术切除、放射治疗(以下简称放疗)和化学疗法,但依旧存在复发及耐药等一系列问题。随着肿瘤学、免疫学、分子生物学和其他相关学科的迅速发展,免疫疗法在癌症治疗方面带来了革命性的变化,其中包括免疫检查点抑制剂、肿瘤疫苗、过继细胞疗法等。2011年,美

国食品药品监督管理局批准了抗细胞毒性T淋巴细胞相关蛋白4(anti-cytotoxic T lymphocyte associated protein 4, CTLA-4)抗体、抑制程序性细胞死亡受体1(inhibition of programmed cell death receptor 1, PD-1)途径的帕姆单抗(pembrolizumab)用于治疗难治性黑色素瘤<sup>[1]</sup>,但是目前临床试验及临床应用发现上述疗法反应性不尽人意,并且出现不良反应及耐药性问题。因此,仍需对肿瘤免疫调节机制进行多方位研究。与调节免疫系统有关的重要的

收稿日期 (Date of reception): 2020-10-26

通信作者 (Corresponding author): 孙宇辉, Email: yuhui\_sun@vip.163.com

基金项目 (Foundation item): 哈尔滨医科大学附属第一医院科研创新基金 (2020M08)。This work was supported by Research and Innovation Fund of the First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, China (2020M08).

表观遗传因素包括非编码RNA(noncoding RNA, ncRNA), 这些ncRNA在转录后调控基因表达水平, 并且在固有和适应性免疫系统的调节中起重要作用。免疫调节性ncRNA的表达谱有望用作癌症免疫疗法反应性和临床结果的预测性生物标志物。在ncRNA调节肿瘤免疫方面中, 目前线性ncRNA, 尤其是miRNA的作用已广为人知<sup>[2]</sup>, 但是circRNA与肿瘤免疫的关系却研究甚少。

## 1 环状 RNA 简介

环状RNA(circular RNA, circRNA)是一种内源性非编码RNA, 于1976年初在仙台病毒和植物感染的类病毒中被首次发现<sup>[3]</sup>。在随后的几十年中, circRNA一直被认为是细胞中错误剪接的副产物, 然而, 在21世纪, circRNA在真核生物中的重要功能越来越受到关注, 近年随着计算方法和生物信息学的出现和广泛应用, 目前已经发现circRNA在各种物种的不同细胞中均有表达, 并且既稳定又丰富, 如Jeck等<sup>[4]</sup>使用全基因组RNase R富集方法检测到成纤维细胞中的25 000余个circRNA, Wang等<sup>[5]</sup>发现在真菌, 植物和原核生物中亦有circRNA的表达。

### 1.1 circRNA 的分类及特征

circRNA根据产生机制可分为4类: 外显子circRNA, 内含子circRNA, 外显子-内含子circRNA和基因间circRNA<sup>[6]</sup>。与线性RNA相比, circRNA具有显著的特征, 使circRNA成为临床中有价值的潜在生物标志物或治疗靶标。其特征包括: 1)高稳定性, circRNA表现出共价闭环结构, 不含5'和3'末端, 并且具有抵抗RNA酶的活性<sup>[4]</sup>; 2)表达特异性, 目前虽已鉴定出多种circRNA在各种物种中均显示出丰度, 并在唾液和血液中发现circRNA的富集<sup>[7]</sup>, 但是circRNA在不同组织、不同发育阶段呈现特异性表达<sup>[8]</sup>; 3)保守性, 大多数circRNA在不同物种中表现出很高的保守性<sup>[5]</sup>。然而, circRNA的生物发生机制及特征仍需更多的研究, 以揭示circRNA在机体关键过程中的潜在作用。

### 1.2 circRNA 的功能机制

一些新兴研究已认定circRNA为各种癌症中的重要调控因子, 如hsa\_circRNA\_101996通过限制miR-8075激活TPX2基因表达, 从而增加宫颈癌的增殖和侵袭<sup>[9]</sup>, circSLC8A1充当miR-130b/miR-

494的海绵, 通过调节PTEN抑制膀胱癌的进展<sup>[10]</sup>等。从机制上讲, circRNA可以充当miRNA海绵和转录调节剂, 并可与RNA结合蛋白(RNA binding protein, RBP)相互作用<sup>[11]</sup>, 少数circRNA甚至可以翻译成蛋白质/肽<sup>[12]</sup>, 本文重点介绍充当miRNA海绵机制。circRNA分子富含miRNA结合位点, 通过充当miRNA海绵解除miRNA对其靶基因的抑制, 升高靶基因的表达水平, 这一作用机制被称为竞争性内源RNA(competitive endogenous RNA, ceRNA)机制。通过与疾病关联的miRNA相互作用, circRNA在疾病的发生、发展中发挥重要的调控作用。例如, 显示为miRNA海绵的第一个circRNA是ciRS-7, 其中包含70多个miRNA-7的结合位点<sup>[13]</sup>, 最近, 有研究<sup>[14]</sup>发现ciRS-7在多种癌症中高表达, 包括结直肠癌、胃癌、食道鳞状细胞癌和非小细胞肺癌。目前, 已确认大量的circRNA可作为miRNA的海绵, 因此有学者<sup>[15]</sup>称ceRNA可能适用于所有的circRNA, 但是, 这一假设很快被击破。Militello等<sup>[16]</sup>研究发现只有一小部分circRNA具有特异性miRNA的结合位点, 所以关于circRNA的功能机制还需进一步研究, 以更好地发现其潜在作用。

## 2 线性 ncRNA 与肿瘤免疫

线性ncRNA在免疫调节中起至关重要的作用, 其中miRNA是人类基因组分子物质中研究最多的调节性非编码RNA分子, 参与癌症和免疫细胞的许多途径的调节。

肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME)是癌症发展各阶段的关键因素, 是一个复杂的生态系统, 涉及癌细胞和周围基质的同步变化。现研究<sup>[17]</sup>表明多种miRNA通过调节TME中基质细胞参与免疫调节过程。Li等<sup>[18]</sup>报道了miRNA-1直接靶向CXCL12, 进而降低癌症相关内皮细胞的旁分泌作用对肺癌细胞增殖和化学耐药性的影响。肿瘤相关巨噬细胞在不同的TME刺激下可极化为M1型和M2型, M1型具有杀菌和抗肿瘤活性, 而M2型表现为促进血管生成、基质重塑和适应性免疫的抑制作用。据Lin等<sup>[19]</sup>报道miRNA-130a和miRNA-1207-5p有利于M1巨噬细胞极化, 而miRNA-103-a和miRNA-146-a介导巨噬细胞向M2型极化<sup>[20-21]</sup>。在癌症治疗方面, 迄今为止, 针对miRNA-16的miRNA模拟物TargomiRs<sup>[22]</sup>是唯一完成I期临床试验的药物, 其主要针对复发性恶性胸膜间皮瘤和非小细胞肺癌患者的治疗。

### 3 circRNA与肿瘤免疫

随着基因测序技术和生物信息学工具的迅猛发展, circRNA越来越被重视并得到了广泛的研究。作为多方面的调节剂, circRNA通过直接调节肿瘤细胞或调节TME来促进肿瘤进展。

#### 3.1 circRNA与TME

多种不同因素共同构成独特的肿瘤微环境, 包括抑制分子的表达, 乳酸的分泌以及肿瘤细胞与免疫细胞之间营养的竞争<sup>[23]</sup>等, 共同提高了肿瘤的免疫耐受性。TME主要由基底膜、毛细血管、基质细胞和细胞外基质组成, 其中基质细胞包括免疫细胞[T细胞, 肿瘤相关的巨噬细胞(tumor-associated macrophages, TAM), 树突状细胞(dendritic cells, DC), 肥大细胞等], 癌症相关的内皮细胞(cancer-related endothelial cells, CAE), 癌症相关的成纤维细胞(cancer-related fibroblasts, CAF)和癌症干细胞(cancer stem cells, CSC)等<sup>[24]</sup>。

免疫细胞代表了TME中最丰富的细胞成分, 因其强大的细胞毒性能力而成为人们关注的靶标。CircRNA可通过影响正常的T细胞功能使肿瘤逃逸, 进而参与到复杂的免疫抑制网络系统, 如相关研究<sup>[25]</sup>显示: hsa\_circ\_0005519激活了免疫反应, 因其通过调节CD4<sup>+</sup> T细胞中的hsa-let-7a-5p诱导细胞因子IL-13和IL-6表达; circRNA-002178可以通过海绵miR-34诱导PD-1表达, 从而诱导T细胞衰竭, 同时circRNA100783的重叠表达使其可能成为一种纵向跟踪CD28相关CD8<sup>+</sup> T细胞衰老和整体免疫衰老的新型生物标志物<sup>[26]</sup>。同样在大肠癌细胞中增强PD-1/PD-L1作用的还有hsa\_circ\_0020397, 具体机制可能是通过与miRNA-138结合而上调PD-L1的表达<sup>[27]</sup>。

除免疫细胞外, 癌细胞之间的沟通、细胞因子的释放等同样参与肿瘤免疫的调节, 并进一步促进癌症的发生发展。与TME相关的circRNA能够影响多种生理和病理活动, 如影响肿瘤血管生成<sup>[28]</sup>, 最近, Zou等<sup>[29]</sup>鉴定了circ-CDR1as对血管生成的促进作用, 并发现circ-CDR1as与CAE的浸润水平呈正相关, 而CAE是TME中肿瘤基质的重要组成部分, 排列在肿瘤血管和淋巴管的内表面, 可以负责支持血管形成和肿瘤新脉管系统<sup>[30]</sup>。同样Zhong等<sup>[28]</sup>的另一项研究表明, circ-MYLK可以减轻miR-29a对乳腺癌中靶向血管内皮生长因子A的抑制作用, 从而促进肿瘤血管生成,

这种circ-MYLK介导的ceRNA网络将为乳腺癌的治疗靶点提供新的希望。

NF- $\kappa$ B被识别为介导细胞应激反应、细胞因子生产和免疫反应过程的关键通路, 在肿瘤细胞和免疫细胞, 例如巨噬细胞和树突状细胞中已显示出独特的作用<sup>[31]</sup>, NF- $\kappa$ B信号转导是circRNA-000911/miR-449a轴的功能靶标, 可能负责乳腺癌细胞的部分活性<sup>[32]</sup>。除此之外还有研究<sup>[33]</sup>表明, 多种circRNA在KRAS突变细胞中明显减少, 并可以转移至肿瘤细胞分泌的外泌体种, circRNA可以与外泌体中的肿瘤特异性miRNA或mRNA结合, 可以作为调节免疫应答的新肿瘤抗原。

可见, circRNA可以作为肿瘤免疫方面的多效调节剂, 通过直接调节肿瘤细胞或调节TME多个靶标来促进肿瘤进展。

#### 3.2 circRNA与肿瘤免疫治疗

鉴于以上论证和现有的相关研究, circRNA在TME中的强大调控作用及其特征(例如稳定性、丰富性、差异性), 将circRNA作为癌症免疫治疗的新靶标不失为一种新希望。

CircRNA可以在免疫细胞中充当肿瘤抗原, 与疫苗佐剂或与其他分子(例如miRNA或蛋白质)一起使用, 用于肿瘤免疫治疗。例如近年有研究<sup>[34]</sup>发现在骨肉瘤患者中, circ-0000190在细胞外囊泡和组织中下调, 从正常细胞传递到骨肉瘤细胞的circ-0000190胶囊会损害骨肉瘤细胞的迁移、增殖和侵袭能力, 这暗示用circ-0000190包裹的人造纳米囊泡可以一定程度上阻碍骨肉瘤细胞进展。

然而, 复杂的肿瘤调控网络使circRNA的研究仍处于起步阶段, circRNA的调控方式可能与肿瘤类型、TME类型有关。检测circRNA的算法和技术还不够发达等亦为研究过程的障碍, 此外, 如前所述尽管大多数circRNA不具有miRNA的结合位点, 但目前大多数现有研究集中在circRNA的海绵功能上, 几种生物信息学数据库可用于预测可与miRNA结合的circRNA, 包括circbase, starBasev2.0和circactactome<sup>[35]</sup>以及新兴的circBank<sup>[36]</sup>。circRNA仍然存在许多未知, 但其与肿瘤免疫之间的调节作用是治疗的新希望, 有待进一步深入探索。

### 4 结语

免疫疗法作为癌症治疗的新希望, 近年成为研究热点, 虽已取得显著成效, 但依旧处于始发阶段, 仍需更多的研究揭示其调节机制, 以便更



好的受益癌症患者。重编程TME是根除肿瘤、提高肿瘤免疫治疗疗效的有效策略之一, circRNA是多功能分子, 在肿瘤进展中起重要作用, 细胞质中的circRNA可能充当miRNA海绵, 而细胞核中的circRNA则可能与蛋白质相互作用, 或通过促进/抑制其宿主基因的作用而引起作用, 因此在TME中诱导异常功能的circRNA可能是治疗癌症的有价值的新靶标, 或成为免疫疗法的新生标志物。

## 参考文献

- Yang Y. Cancer immunotherapy: harnessing the immune system to battle cancer[J]. *J Clin Invest*, 2015, 125(9): 3335-3337.
- Omar HA, El-Serafi AT, Hersi F, et al. Immunomodulatory MicroRNAs in cancer: targeting immune checkpoints and the tumor microenvironment[J]. *FEBS*, 2019, 286(18): 3540-3557.
- Hsu MT, Coca-Prados M. Electron microscopic evidence for the circular form of RNA in the cytoplasm of eukaryotic cells[J]. *Nature*, 1979, 280(5720): 339-340.
- Jeck WR, Sorrentino JA, Wang K, et al. Circular RNAs are abundant, conserved, and associated with ALU repeats [J]. *RNA*, 2013, 19(2): 141-157.
- Wang PL, Bao Y, Yee MC, et al. Circular RNA is expressed across the eukaryotic tree of life [J]. *PLoS One*, 2014, 9(6): e90859.
- Wang F, Nazarali AJ, Ji S. Circular RNAs as potential biomarkers for cancer diagnosis and therapy[J]. *Am J Cancer Res*, 2016, 6(6): 1167-1176.
- Salzman J, Gawad C, Wang PL, et al. Circular RNAs are the predominant transcript isoform from hundreds of human genes in diverse cell types[J]. *PLoS One*, 2012, 7(2): e30733.
- Rybak-Wolf A, Stottmeister C, Glažar P, et al. Circular RNAs in the mammalian brain are highly abundant, conserved, and dynamically expressed[J]. *Mol Cell*, 2015, 58(5): 870-885.
- Song T, Xu A, Zhang Z, et al. CircRNA hsa\_circRNA\_101996 increases cervical cancer proliferation and invasion through activating TPX2 expression by restraining miR-8075[J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(8): 14296-14305.
- Lu Q, Liu T, Feng H, et al. Circular RNA circSLC8A1 acts as a sponge of miR-130b/miR-494 in suppressing bladder cancer progression via regulating PTEN[J]. *Mol Cancer*, 2019, 18(1): 111.
- Du WW, Yang W, Liu E, et al. Foxo3 circular RNA retards cell cycle progression via forming ternary complexes with p21 and CDK2[J]. *Nucleic Acids Res*, 2016, 44(6): 2846-2858.
- Pamudurti NR, Bartok O, Jens M, et al. Translation of CircRNAs[J]. *Mol Cell*, 2017, 66(1): 9-21.
- Hansen TB, Jensen TI, Clausen BH, et al. Natural RNA circles function as efficient microRNA sponges[J]. *Nature*, 2013, 495(7441): 384-388.
- Zheng XB, Zhang M, Xu MQ. Detection and characterization of ciRS-7: a potential promoter of the development of cancer[J]. *Neoplasma*, 2017, 64(3): 321-328.
- Qi X, Zhang DH, Wu N, et al. ceRNA in cancer: possible functions and clinical implications[J]. *Med Genet*, 2015, 52(10): 710-718.
- Militello G, Weirick T, John D, et al. Screening and validation of lncRNAs and circRNAs as miRNA sponges[J]. *Brief Bioinform*, 2017, 18(5): 780-788.
- Cortez MA, Anfossi S, Ramapriyan R, et al. Role of miRNAs in immune responses and immunotherapy in cancer[J]. *Genes Chromosomes Cancer*, 2019, 58(4): 244-253.
- Li J, Guan J, Long X, et al. mir-1-mediated paracrine effect of cancer-associated fibroblasts on lung cancer cell proliferation and chemoresistance[J]. *Oncol Rep*, 2016, 35(6): 3523-3531.
- Lin L, Lin H, Wang L, et al. miR-130a regulates macrophage polarization and is associated with non-small cell lung cancer[J]. *Oncol Rep*, 2015, 34(6): 3088-3096.
- Hsu YL, Hung JY, Chang WA, et al. Hypoxic Lung-Cancer-Derived Extracellular Vesicle MicroRNA-103a Increases the Oncogenic Effects of Macrophages by Targeting PTEN[J]. *Mol Ther*, 2018, 26(2): 568-581.
- Gao J, Wang D, Liu D, et al. Tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand induces the expression of proinflammatory cytokines in macrophages and re-educates tumor-associated macrophages to an antitumor phenotype[J]. *Mol Biol Cell*, 2015, 26(18): 3178-3189.
- Merhautova J, Demlova R, Slaby O. MicroRNA-Based Therapy in Animal Models of Selected Gastrointestinal Cancers[J]. *Front Pharmacol*, 2016, 7: 329.
- A multicenter phase I study of MRX34, microRNA miR-RX34 liposomal injection[Z]. 2013. <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01829971>.
- Quail DF, Joyce JA. Microenvironmental regulation of tumor progression and metastasis[J]. *Nat Med*, 2013, 19(11): 1423-1437.
- Belli C, Trapani D, Viale G, et al. Targeting the microenvironment in solid tumors[J]. *Cancer Treat Rev*, 2018, 65: 22-32.
- Huang Z, Cao Y, Zhou M, et al. Hsa\_circ\_0005519 increases IL-13/IL-6 by regulating hsa-let-7a-5p in CD4+ T cells to affect asthma[J]. *Clin Exp Allergy*, 2019, 49(8): 1116-1127.
- Zhang XL, Xu LL, Wang F. Hsa\_circ\_0020397 regulates colorectal cancer cell viability, apoptosis and invasion by promoting the expression of the miR-138 targets TERT and PD-L1[J]. *Cell Biol Int*, 2017, 41(9): 1056-1064.
- Zhong Z, Huang M, Lv M, et al. Circular RNA MYLK as a competing endogenous RNA promotes bladder cancer progression through

- modulating VEGFA/VEGFR2 signaling pathway[J]. *Cancer Lett*, 2017, 403: 305-317.
29. Zou Y, Zheng S, Deng X, et al. The Role of Circular RNA CDR1as/ciRS-7 in Regulating Tumor Microenvironment: A Pan-Cancer Analysis[J]. *Biomolecules*, 2019, 9(9): 429.
30. Kugeratski FG, Atkinson SJ, Neilson LJ, et al. Hypoxic cancer-associated fibroblasts increase NCBP2-AS2/HIAR to promote endothelial sprouting through enhanced VEGF signaling[J]. *Sci Signal*, 2019, 12(567): eaan8247.
31. Köhler UA, Böhm F, Rolfs F, et al. NF- $\kappa$ B/RelA and Nrf2 cooperate to maintain hepatocyte integrity and to prevent development of hepatocellular adenoma[J]. *J Hepatol*, 2016, 64(1): 94-102.
32. Wang H, Xiao Y, Wu L, et al. Comprehensive circular RNA profiling reveals the regulatory role of the circRNA-000911/miR-449a pathway in breast carcinogenesis[J]. *Int J Oncol*, 2018, 52(3): 743-754.
33. Li X, Liu CX, Xue W, et al. Coordinated circRNA Biogenesis and Function with NF90/NF110 in Viral Infection[J]. *Mol Cell*, 2017, 67(2): 214-227.
34. Li S, Pei Y, Wang W, et al. Extracellular nanovesicles-transmitted circular RNA has\_circ\_0000190 suppresses osteosarcoma progression[J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24(3): 2202-2214.
35. Liu J, Liu T, Wang X, He A. Circles reshaping the RNA world: from waste to treasure[J]. *Mol Cancer*, 2017, 16(1): 58.
36. Liu M, Wang Q, Shen J, et al. Circbank: a comprehensive database for circRNA with standard nomenclature[J]. *RNA Biol*, 2019, 16(7): 899-905.

**本文引用:** 赵国云, 朱梦迪, 孙宇辉. 环状RNA在肿瘤免疫中的研究进展[J]. *临床与病理杂志*, 2021. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2021.

**Cite this article as:** ZHAO Guoyun, ZHU Mengdi, SUN Yuhui. Research progress of circular RNA in tumor immunity[J]. *Journal of Clinical and Pathological Research*, 2021. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2021.