

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2018.07.012

· 临床研究 ·

ciRS-7 在食管癌组织中的表达及其对食管癌细胞 TE1 生物学特性的影响

孟令娇^a, 丁平安^b, 巨英超^c, 刘飞^a, 刘世娜^a, 刘思桦^a, 常胜^a, 谷丽娜^a, 桑梅香^a (河北医科大学第四医院 a. 科研中心; b. 普通外科三科; c. 实验动物中心, 河北 石家庄 050011)

[摘要] **目的:** 探讨环状 RNA (circRNA) ciRS-7 在食管鳞状细胞癌 (esophageal squamous cell carcinoma, ESCC) 组织中的表达及对 ESCC 细胞株增殖、迁移和侵袭的影响。**方法:** 选取河北医科大学第四医院 2016 年 5 月至 2017 年 4 月收治的 60 例食管癌患者病理组织标本及配对癌旁组织, 通过 qRT-PCR 检测 ciRS-7 的表达水平。过表达或者敲低 ciRS-7 后, 采用 CCK-8 法检测 ESCC 细胞株 TE1 的增殖情况, 同时采用划痕实验和 Transwell 实验分别检测细胞迁移和侵袭能力的变化。最后通过动物实验在体内进行验证。**结果:** ciRS-7 在 ESCC 组织中高表达, 且表达水平与病理分级和淋巴结转移有关 (均 $P < 0.05$)。过表达 ciRS-7 后, ESCC 细胞株 TE1 的增殖、迁移和侵袭能力显著升高 (均 $P < 0.05$); 沉默 ciRS-7 后, TE1 细胞的增殖、迁移和侵袭能力均显著降低 (均 $P < 0.05$)。动物实验结果显示, 转染 ciRS-7 表达质粒组裸鼠的肿瘤体积和质量均明显高于空载体组 (均 $P < 0.05$)。免疫组化检测结果表明, 转染 ciRS-7 表达质粒组裸鼠的肿瘤组织中增殖相关抗原 (ki67、PCNA)、转移相关抗原 (MMP2、MMP9) 表达明显高于空载体组 (均 $P < 0.05$)。**结论:** ciRS-7 在食管癌组织中表达上调, 并且会增强食管癌细胞的增殖、迁移和侵袭能力, 提示 ciRS-7 可以作为诊断和治疗食管鳞状细胞癌的潜在作用靶点。

[关键词] ciRS-7; 食管鳞状细胞癌 (ESCC); 增殖; TE1 细胞; 迁移; 侵袭

[中图分类号] R735.1; R730.54 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2018)07-0726-07

Expression of circular RNA ciRS-7 in tissues of esophageal squamous cell carcinoma and its effect on cell biological characteristics of TE1 cells

MENG Lingjiao^a, DING Pingan^b, JU Yingchao^c, LIU Fei^a, LIU Shina^a, LIU Sihua^a, CHANG Sheng^a, GU Lina^a, SANG Meixiang^a (a. Research Center; b. The Third Department of Surgery; c. Laboratory Animal Center, the Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050011, Hebei, China)

[Abstract] Objective: To investigate the expression of ciRS-7 in esophageal squamous cell carcinoma (ESCC) and its effect on the cellular proliferation, migration and invasion. **Methods:** The cancer tissues and paired adjacent normal tissues from 60 ESCC patients treated in the Fourth Hospital of Hebei Medical University between May, 2016 and April, 2017 were selected for this study. The expressions of ciRS-7 were detected by qRT-PCR. After over-expressing or silencing of ciRS-7, the proliferation of ESCC cell line TE1 was measured by CCK-8 assay; and the migration and invasion were tested by wound healing assay and Transwell invasion assay, respectively. Finally, the effect was validated via animal experiment. **Results:** CiRS-7 was highly expressed in ESCC tissues ($P < 0.05$), and its expression level was closely related to pathological grade and lymph node metastasis ($P < 0.05$). Over-expression of ciRS-7 significantly increased the proliferation, migration and invasion (all $P < 0.05$) of TE1 cells; while silencing of ciRS-7 remarkably suppressed the proliferation, migration and invasion (all $P < 0.05$). **Conclusion:** CiRS-7 was up-regulated in ESCC and could enhance ESCC cell proliferation, migration and invasion, suggesting that ciRS-7 could be used as a potential target for the diagnosis and treatment of ESCC.

[Key words] ciRS-7; esophageal squamous cell cancer (ESCC); TE1 cell; proliferation; migration; invasion

[Chin J Cancer Biother, 2018, 25(7): 726-732. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2018.07.012]

食管癌作为全球第六大癌症相关的死因, 是最具侵袭性的恶性肿瘤之一^[1]。食管鳞状细胞癌 (esophageal squamous cell cancer, ESCC) 是食管肿瘤的主要组织学类型, 占全世界病例的 90%^[2]。尽管最近关于 ESCC 的治疗方案包括手术、放射治疗和化学治疗已有很大突破, 但患者的 5 年总体生存率仍不理想^[3]。由于 ESCC 的分子生物学机制并未被完全阐

[基金项目] 河北省自然科学基金资助项目 (No.2016206410)。Project supported by the Natural Science Foundation of Hebei Province (No.2016206410)

[作者简介] 孟令娇 (1993-), 女, 硕士生, 主要从事肿瘤免疫方面的研究, E-mail: 1904892833@qq.com

[通信作者] 桑梅香 (SANG Meixiang, corresponding author), 博士, 研究员, 博士生导师, 主要从事分子肿瘤学研究, E-mail: mxsang@hotmail.com

明,因此迫切需要寻找可靠的分子靶点,为 ESCC 患者开发新的治疗策略^[4]。ESCC 的发生和发展是一个复杂的病理过程。虽然多种肿瘤蛋白被证明参与了 ESCC 的进展,但越来越多的研究表明其他类型的生物分子,如非编码 RNA 在这一过程中起着重要作用^[5]。环状 RNA(circRNA)是一类新型、广泛、多样化的内源性非编码 RNA,可调控真核生物的基因表达^[6]。它们具有单链 RNA 分子的共价连接末端,并且比相应的线性类型更稳定^[7-8]。最近有关高通量 RNA 测序(RNA-Seq)和生物信息学分析发现了更多的 circRNA,并发现 circRNA 在细胞生物学功能中发挥重要作用^[9-10],其中,ciRS-7(也称 CDR1as)包含 70 多个 miR-7 的结合位点,可作为 miR-7 分子海绵进而调控 miR-7 靶基因的表达,参与神经元发育过程,在大脑神经疾病和肿瘤的发展中发挥重要作用^[11]。本课题组检测了 60 例 ESCC 患者病理组织标本及配对癌旁组织中 ciRS-7 的表达水平,通过体外细胞功能实验及体内动物实验,探究 ciRS-7 对 ESCC 细胞增殖、迁移和侵袭能力的影响,为寻找 ESCC 新型肿瘤生物标志物和治疗靶标奠定基础。

1 材料与方法

1.1 临床资料

选取 2016 年 5 月至 2017 年 4 月在河北医科大学第四医院行食管癌根治术的 ESCC 患者 60 例。患者术前均经食管镜活检病理学证实为 ESCC,且术前未行放疗、化疗,患者最终均经病理证实为 ESCC。所有患者均签署了知情同意书,研究方案征得医院伦理委员会批准。

1.2 细胞株及主要试剂

人 ESCC 细胞株 TE1、TE13、KYSE30、KYSE170 来自本实验室。RPMI 1640 培养基、胰蛋白酶购自美国 Gibco 公司,胎牛血清购自上海依科赛生物制品有限公司,RIPA 细胞裂解液购自上海贝博生物公司,TRIzol 购自美国 Invitrogen 公司,Platinum SYBR Super Mix 试剂、Fu GENE HD 转染试剂及反转录试剂盒均购自美国 Promega 公司,PCR 引物购自英潍捷基贸易有限公司。circRNA 过表达载体 pLCDH-ciR vector 购自广州吉赛生物科技公司,序列 ciRS-7(hsa_circ_0001946)来自数据库 circBase。干扰 siRNA 购自锐博生物科技公司。Transwell 小室(孔径 3.0 μm)购自美国 Corning 公司,Matrigel 基质胶购自美国 BD 公司。免疫组织化学试剂盒和 DAB 显色液均购自于北京中衫金桥生物技术有限公司,Ki67、PCNA、MMP2、MMP9 多克隆抗体均购自美国 Abcam 公司。

1.3 qRT-PCR 法检测 ciRS-7 在 ESCC 组织中的表达

采用 TRIzol 试剂提取细胞的总 RNA,按反转录试剂盒说明书进行从 RNA 到 cDNA 的操作制备,然后 PCR 扩增,GAPDH 作为内参照,所用引物序列及反应条件参见表 1。扩增结束后,以对照组和目的基因组及内参基因的 CT 值计算目的基因表达的相对值($2^{-\Delta\Delta CT}$)。上述实验重复 3 次。

1.4 RT-PCR 法检测 ciRS-7 线性和环状 RNA 在 ESCC 组织和细胞中的表达

ciRS-7 是从 CDR1 基因的反义链转录而来。设计的两套 CDR1 引物中,发散引物可扩增 CDR1as (ciRS-7, CDR1 的环状形式),聚合引物可扩增 CDR1 的线性形式。同上提取细胞总 RNA,进行从 RNA 到 cDNA 操作,然后进行 PCR 扩增,GAPDH 作为内参照,所用引物序列及反应条件参见表 1。上述实验重复 3 次。

表 1 PCR 引物序列及主要的操作要求

Tab.1 PCR primer sequences and main operation requirements

Gene	Primer	Annealing	Cycle	Cycle
		(t/°C)	(RT-PCR)	(qRT-PCR)
<i>ciRS-7</i> (<i>divergent</i>)	Forward, 5'-ACGTCTCCAGTGTGCTGA-3'	55	30	40
	Reverse, 5'-CTTGACACAGGTGCCATC-3'			
<i>ciRS-7</i> (<i>converget</i>)	Forward, 5'-CACGTCTTCCAACAAAGCCA-3'	55	30	40
	Reverse, 5'-GGAAGACATGGCTTGGTTGG-3'			
<i>GAPDH</i>	Forward, 5'-AGCCACATCGCTCAGACAC-3'	58	22	40
	Reverse, 5'-GCCCAATACGACCAATCC-3'			

1.5 质粒构建及细胞转染

pLCDH-ciRS-7 重组慢病毒感染细胞,48 h 后以 1 μg/ml 浓度的嘌呤霉素筛选细胞株,鉴定稳转细胞系。实验组均设 3 个复孔。人 ESCC 细胞株 TE1 用含

10% 胎牛血清、100 U/ml 青霉素和 100 μg/ml 链霉素的 RPMI 1640 培养液,置于 37 °C、5%CO₂ 体积分数的培养箱中培养。按 Fu GENE HD 转染试剂说明书方法将 pLCDH-ciRS-7 及干扰 siRNA 质粒分别转染至

TE1 细胞中, 并分别转染 empty vector 和 si Ctrl 做对照组。

1.6 CCK-8 法检测细胞增殖能力

TE1 细胞增殖检测主要通过 CCK-8 试剂盒完成。实验分为对照组和处理(过表达和敲低)组, 采用 96 孔板, 每孔铺 1×10^3 个细胞, 培养 5 d。加入 CCK-8 试剂后 37°C 孵育 2 h, 用酶标仪检测 D_{450} 值。上述实验重复 3 次。

1.7 划痕实验检测 pLCDH-ciRS-7 及干扰 siRNA 质粒转染后细胞的迁移能力

收集对数期的 ESCC 细胞, 调整细胞密度为 5×10^5 个/ml, 取 2 ml 接种于 6 孔板, 并在 6 孔板背面划 5 条平行线做标记, 24 h 后用 200 μl 枪头在细胞中划 2 条垂直于背面平行线的直线, PBS 冲洗 2 次, 加入 2 ml 无胎牛血清的 RPMI 1640 培养液, 于 0、24 h 在倒置显微镜下观察细胞向划痕中间迁移的距离并拍照, 每组实验设 3 个平行孔。上述实验重复 3 次。

1.8 Transwell 小室检测 pLCDH-ciRS-7 及干扰 siRNA 质粒转染后细胞的迁移侵袭能力

取对数期生长的实验组和对照组细胞悬液, 将两组细胞(2×10^5 个)分别加 Transwell 小室的上室, 小室上铺胶检测侵袭能力, 不铺胶者检测迁移能力; 下室加入 600 μl 含 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养液。常规培养 48 h, 用棉签擦净上室细胞, PBS 清洗后结晶紫染色, 常规制片, 于倒置相差显微镜下($\times 200$)观察并拍照, 随机观察 5 个视野, 计数穿膜细胞数。上述实验重复 3 次。

1.9 裸鼠移植瘤实验检测 ciRS-7 对 ESCC 成瘤的影响

所有动物实验均经河北医科大学第四医院动物保护委员会批准。选用 4 周龄 BALB/c 裸鼠(实验动物合格证号: No.11400700268598), 随机分为 2 组(每组 5 只)。TE1 细胞株稳定转染 ciRS-7 表达质粒和空载体后分别皮下注射 BALB/c 裸鼠(每只小鼠 5×10^6 个细胞)。待肿瘤长出后, 每 3 d 测量一次肿瘤体积, 4 周后处死取出瘤体, 称取每个瘤子的质量后于多聚甲醛中固定, 利用免疫组化检测肿瘤组织中 ki67、PCNA、MMP2、MMP9 的表达情况。至少两名病理科医生对其免疫染色结果进行测评。

1.10 统计学处理

采用 SPSS 19.0 软件统计。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 t 检验分析 ciRS-7 在 ESCC 细胞株中的表达情况; 计数资料以百分率表示, 采用卡方检验分析 ciRS-7 的表达与 ESCC 患者临床病理学指标之间的关系。以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 ESCC 组织中 ciRS-7 的表达水平与病理分级和淋巴结转移关联

以 ESCC 细胞株 TE1 的 cDNA 和基因组 DNA (gDNA) 为模板, ciRS-7 只能在 cDNA 中利用发散引物扩增出来, 而在 gDNA 中未见扩增产物(图 1A), 但 cDNA 和 gDNA 均可扩增出 CDR1 的线性形式。后又证实 ciRS-7 在原发性 ESCC 标本中均有表达(图 1A)。qRT-PCR 结果进一步证实, TE1 细胞中 ciRS-7 对 RNase R 具有抗性, 其线性形式经 RNase R 处理后的表达显著降低(图 1B)。

qRT-PCR 检测 60 例食管鳞癌组织及相应的癌旁组织中 ciRS-7 的表达, 结果(图 1C)显示, 食管鳞癌组织中 ciRS-7 的表达明显高于食管癌旁组织。以中位 ciRS-7 表达(3.92)作为所有 ESCC 患者的临界阈值, 将所有 ESCC 患者分为 ciRS-7 高表达组和低表达组。如表 2 所示, ciRS-7 表达与病理分级和淋巴结转移具有相关性。

2.2 ciRS-7 促进 ESCC 细胞 TE1 的增殖

检测 ciRS-7 在 4 种 ESCC 细胞中的表达情况, 结果(图 2A)发现, TE1 细胞的表达丰度最高, 于是选用 TE1 进行后续细胞功能的研究。

在 TE1 细胞中转染 ciRS-7 过表达质粒, 同时转染空载体作对照。如图 2B 所示, 转染 ciRS-7 质粒后, ciRS-7 的表达显著增加。CCK-8 实验(图 2C)显示 ciRS-7 转染后 TE1 细胞活力明显增强。

针对 ciRS-7 的剪接点部位设计了相应的 siRNA, 将其转染 TE1 细胞后, qRT-PCR 结果(图 2D)显示, si ciRS-7 质粒使 ciRS-7 的表达下降; 同时 CCK-8 实验显示转染 si ciRS-7 质粒后, TE1 细胞活力明显下降(图 2E)。以上实验表明 ciRS-7 在体外可促进 ESCC 细胞的增殖。

2.3 ciRS-7 促进 ESCC 细胞 TE1 的迁移能力

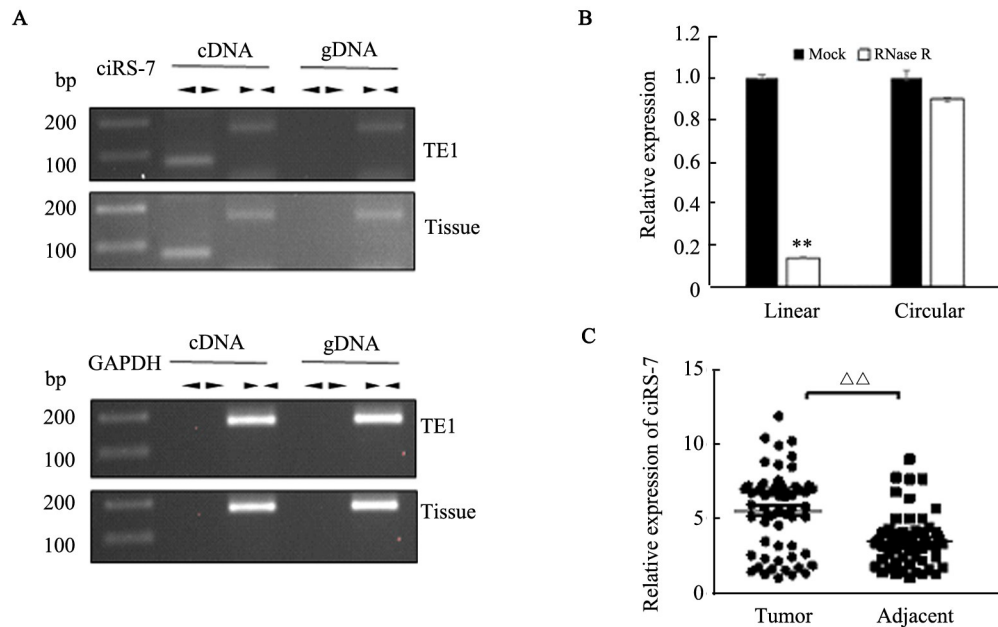
为了检测 ciRS-7 对 ESCC 细胞迁移和侵袭能力的影响, 在 TE1 细胞中转染了上述 ciRS-7 过表达和敲低质粒, 通过划痕愈合实验证明 ciRS-7 的过表达增强了 TE1 细胞的迁移能力, 当敲低 ciRS-7 后 TE1 细胞的迁移能力又明显下降。转染 ciRS-7 组细胞的迁移面积明显大于空载体组, 而转染 si ciRS-7 质粒组细胞的迁移面积明显小于 si Ctrl 质粒组(图 3)。以上实验表明, ciRS-7 的表达与 ESCC 细胞的迁移能力呈正相关。

2.4 ciRS-7 在体外促进 ESCC 细胞 TE1 的侵袭能力

在 TE1 细胞中转染 ciRS-7 过表达和空载体质粒, 采用 Transwell 无胶实验进一步验证了 ciRS-7 对 ESCC 细胞的迁移促进作用, Transwell 基质胶实验证明了 ciRS-7 可增强 TE1 细胞的侵袭能力。同样在

TE1细胞中转染 si ciRS-7 和 si Ctrl 质粒, 然后进行 Transwell 实验检测, 结果(图4)显示转染 ciRS-7 过表达质粒组 TE1 细胞的侵袭能力较空载体组明显增高,

而转染 si ciRS-7 质粒组的侵袭能力较对照组明显下降。综上, ciRS-7 在体外可促进 ESCC 细胞迁移和侵袭。



A: Expression of ciRS-7 in ESCC cell TE1 and a case of ESCC tissue; B: The circular form, ciRS-7 could be avoided from RNase R degradation; C: Expression of ciRS-7 in 60 pairs of ESCC and adjacent tissues. ** $P < 0.01$ vs Mock group; $\Delta\Delta P < 0.01$ vs Adjacent group

图1 ciRS-7在ESCC组织和细胞中的表达情况

Fig.1 Expression of ciRS-7 in ESCC cells and ESCC tissues

表2 ciRS-7表达与ESCC患者临床病理学指标关联

Tab.2 Correlation between expression of ciRS-7 and pathological parameters of the patients with ESCC

Variables	ciRS-7 expression		χ^2	P
	Low	High		
Age (t/a)			0.003	0.957
<60	9	17		
≥ 60	12	22		
Gender			0.216	0.642
Male	6	9		
Female	15	30		
Pathological grade			4.103	0.043
I	8	3		
II	8	24		
III	5	12		
Lymph node metastasis			4.774	0.029
Yes	14	35		
No	7	4		

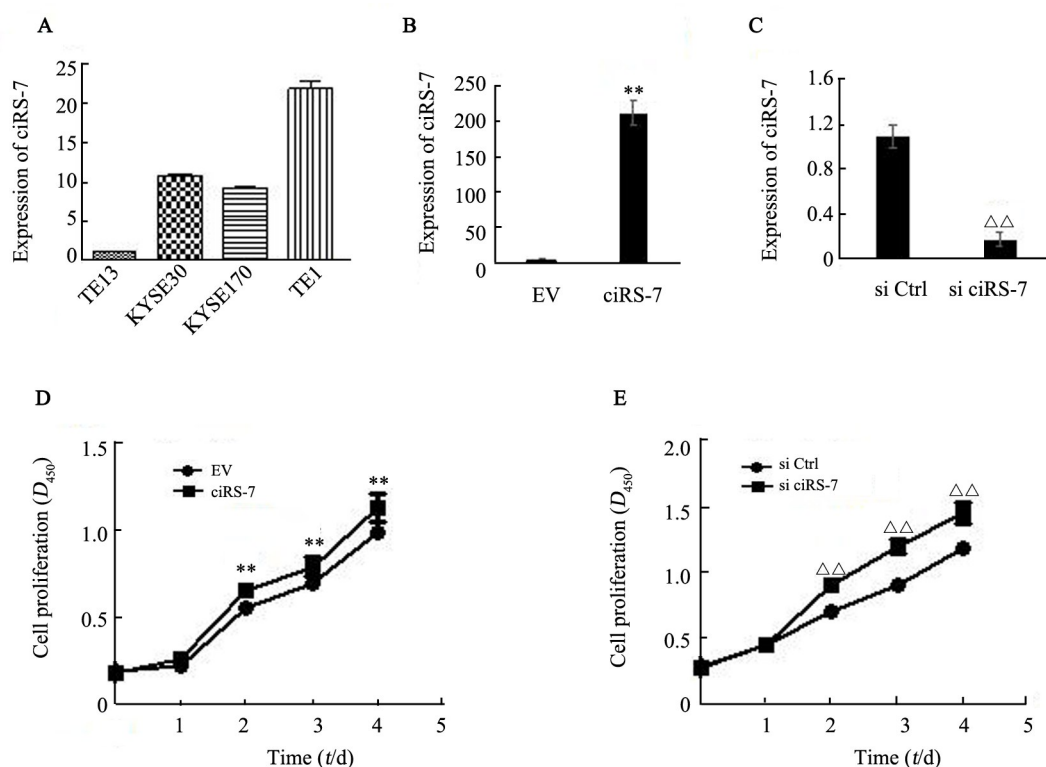
2.5 ciRS-7在裸鼠体内促进ESCC的生长和转移

为进一步验证 ciRS-7 对 ESCC 生物学行为的影响, 将稳定转染 ciRS-7 表达质粒和空载体的 TE1 细胞分别皮下注射 BALB/c 裸鼠。待肿瘤长出后每 3 d

测量一次肿瘤体积, 4 周后全部处死, 取出肿瘤并拍照(图 5A), 结果(图 5B、C)显示, 转染 ciRS-7 表达质粒组裸鼠的肿瘤体积和质量均明显高于空载体组, 这表明 ciRS-7 在裸鼠体内可促进 ESCC 肿瘤的生长。免疫组化检测结果(图 5D)表明, 转染 ciRS-7 表达质粒组裸鼠的肿瘤组织中增殖相关抗原(ki67、PCNA)、转移相关抗原(MMP2、MMP9)表达明显高于空载体组, 这提示 ciRS-7 可能与 ESCC 的侵袭转移相关。以上实验表明 ciRS-7 在裸鼠体内可以促进 ESCC 的生长和转移。

3 讨论

circRNA 最早于 1971 年在类病毒中被发现, 与病毒不同, 类病毒没有蛋白质外壳包被, 其基因组是单链、闭合的 RNA 分子。1979 年 HSU 和 COCA-PRA-DOS 等在电子显微镜下观察到了真核细胞的细胞质中也存在 circ RNA^[12]。circ RNA ciRS-7 是 HANSEN 等^[13]发现的小脑变性相关蛋白 1 的反义转录物(CDR1as), 其功能是作为 miRNA 海绵。近几年, 对 ciRS-7 研究的不断深入, ciRS-7 的生物学功能使其在不同肿瘤中发挥特定作用, 有望成为肿瘤早期诊断、预后判断的分子标志物及治疗靶点。

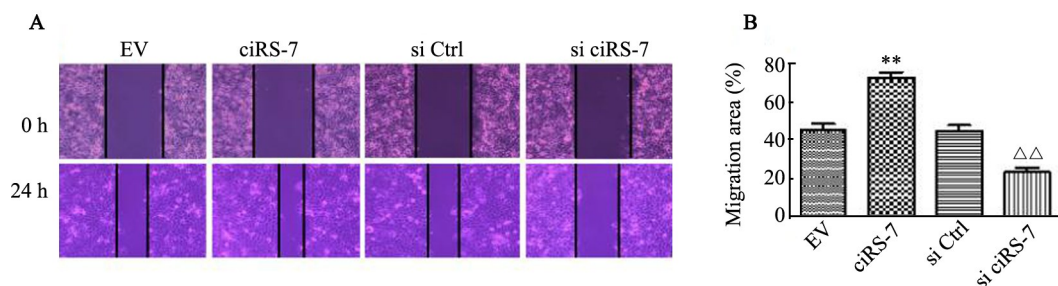


A: Expression of ciRS-7 in ESCC cell lines; B: Overexpressing ciRS-7 after transfection of pLCDH-ciR vector; C: Expression of ciRS-7 after transfection of siRNA-ciRS-7; D: The proliferation of TE1 after transfected with ciRS-7 or empty vector detected by CCK-8 assay; E: The proliferation of TE1 after transfected with si ciRS-7 or si ctrl detected by CCK-8 assay.

** $P < 0.01$ vs EV group; $\Delta\Delta P < 0.01$ vs siCtrl group

图2 ciRS-7增强ESCC细胞TE1的增殖能力

Fig.2 ciRS-7 enhances proliferation of ESCC cell TE1



A: Cell migration activity of TE1 after transfected with empty vector, ciRS-7 or siCtrl, si ciRS-7 detected by wound healing assay;

B: The migration area of four groups were evaluated

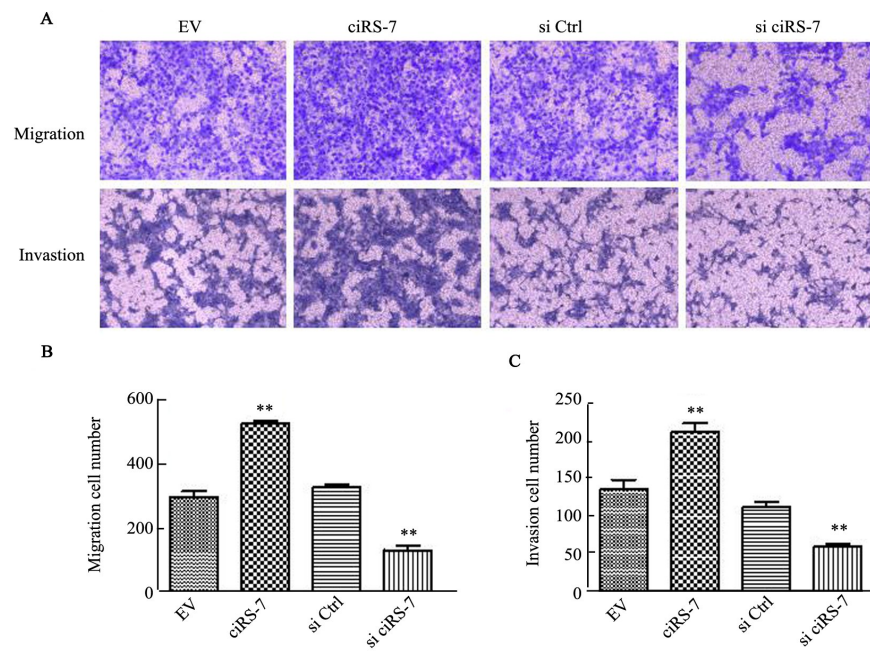
** $P < 0.01$ vs EV group; $\Delta\Delta P < 0.01$ vs siCtrl group

图3 ciRS-7增强ESCC细胞TE1的迁移能力

Fig.3 ciRS-7 enhances migration of ESCC cell TE1

越来越多的证据表明 circRNA 在 ESCC 的发生发展中起重要作用^[14-17]。但关于 ciRS-7 是否也在 ESCC 中发挥作用尚未见报道。本课题组一直致力于 ESCC 方面的机制研究, 推测 ciRS-7 作为 circRNA 中的明星分子, 很可能与肿瘤的发生、发展有一定关系。本实验采用 qRT-PCR 技术检测了 60 例食管鳞癌组织及相应的癌旁组织中 ciRS-7 的表达。结果显示, 在这 60 例标本中食管鳞癌组织中 ciRS-7 的表达

明显高于周围正常食管组织, 而且 ciRS-7 表达与病理分级和淋巴结转移具有相关性, 揭示 ciRS-7 可能在 ESCC 组织中发挥了促癌作用, 推动 ESCC 的发展进程。另外, 本研究中的细胞功能实验结果显示, 在 ESCC 细胞系 TE1 中过表达 ciRS-7 后, 细胞的增殖、迁移及侵袭能力明显升高, 而敲低 ciRS-7 后细胞的增殖、迁移及侵袭能力明显下降, 这表明 ciRS-7 可能作为癌基因促进 ESCC 的肿瘤进展过程。异种移植

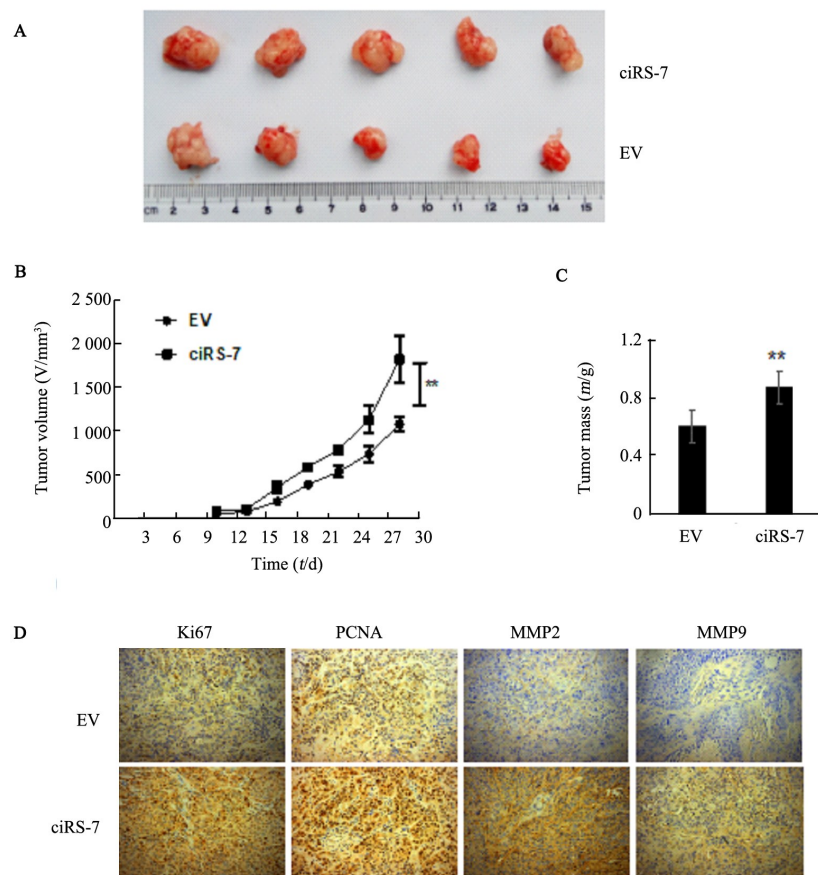


A: Cell invasion activity of TE1 after transfected with empty vector, ciRS-7 or siCtrl, si ciRS-7 detected by transwell assay($\times 200$);

B and C: The migration and invasion area of four groups were evaluated. ** $P < 0.01$ vs EV or si Ctrl group

图4 ciRS-7增强ESCC细胞TE1的侵袭能力($\times 200$)

Fig.4 ciRS-7 enhances invasion activity of ESCC cell TE1($\times 200$)



A-C: ciRS-7 enhances tumor proliferation of ESCC in BALB/c nude mice;

D: The expression of ki67, PCNA, MMP2 and MMP9 in tumor tissues detected by IHC($\times 200$). ** $P < 0.01$ vs EV group

图5 ciRS-7在体内可增强ESCC的增殖和转移

Fig.5 ciRS-7 enhances proliferation and metastasis of ESCC *in vivo*

瘤实验结果表明,稳定转染 ciRS-7 组的裸鼠移植瘤生长和转移能力均明显高于对照组。以上实验证明了 ciRS-7 可能促进 ESCC 的增殖和侵袭转移,这为寻找 ESCC 的新型肿瘤生物标志物和潜在治疗靶点奠定基础。

circRNA 不含有 5'端帽和 3'端 poly(A)尾,而是以共价键形成环状结构,是人类转录组中普遍存在的一种非编码 RNA,它自身具有核酸外切酶抵抗力,可在组织细胞内稳定表达。circRNA 主要通过作为 miRNA 海绵体,结合相应的 miRNA,解除其对靶基因表达的抑制作用,在人类多种生理及病理过程中发挥重要调节作用。circRNA 可以与 RNA 结合蛋白相互结合影响亲本基因 mRNA 的表达,甚至蛋白翻译。还有些核内的 circRNA 参与基因的转录过程,为疾病的治疗提供新的思路。然而,ciRS-7 在 ESCC 中究竟如何发挥作用的具体分子机制仍不明确,这也是本课题组今后深入研究的重点。根据相关文献及前期研究,推测 ciRS-7 可能通过作为某个与 ESCC 发生、发展相关 miRNA 的分子海绵,发挥其在食管癌中的促癌功能,课题组将在以后的研究中进一步证实。

[参考文献]

- [1] TORRE L A, BRAY F, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics, 2012[J]. CA Cancer J Clin, 2015, 65 (2): 87-108. DOI: 10.3322/caac.21262.
- [2] PENNATHUR A, GIBSON M K, JOBE B A, et al. Oesophageal carcinoma[J]. Lancet, 2013, 381(9864): 400-412. DOI: 10.1016/S0140-6736(12)60643-6.
- [3] RUSTGI A K, EL-SERAG H B. Esophageal carcinoma[J]. N Engl J Med, 2014, 371(26): 2499-2509. DOI: 10.1056/NEJMra1314530.
- [4] CHEN X, ZHONG Q, LIU Y, et al. Genomic comparison of esophageal squamous cell carcinoma and its precursor lesions by multi-region whole-exome sequencing[J]. Nat Commun, 2017, 8(1): 524. DOI: 10.1038/s41467-017-00650-0.
- [5] YANG S, NING Q, ZHANG G, et al. Construction of differential mRNA-lncRNA crosstalk networks based on ceRNA hypothesis uncover key roles of lncRNAs implicated in esophageal squamous cell carcinoma[J]. Oncotarget, 2016, 7(52): 85728-85740. DOI: 10.18632/oncotarget.13828.
- [6] MEMCZAK S, JENS M, ELEFSINIOTI A, et al. Circular RNAs are a large class of animal RNAs with regulatory potency[J]. Nature, 2013, 495(7441): 333-338. DOI: 10.1038/nature11928. Epub 2013 Feb 27.
- [7] JECK W R, SHARPLESS N E. Detecting and characterizing circular RNAs[J]. Nat Biotechnol, 2014, 32(5): 453-461. DOI: 10.1038/nbt.2890.
- [8] LASDA E, PARKER R. Circular RNAs: diversity of form and function [J]. RNA, 2014, 20(12): 1829-1842. DOI: 10.1261/rna.047126.114.
- [9] ZHENG Q, BAO C, GUO W, et al. Circular RNA profiling reveals an abundant circHIPK3 that regulates cell growth by sponging multiple miRNAs[J]. Nat Commun, 2016, 7: 11215. DOI: 10.1038/ncomms11215.
- [10] HE J, XIE Q, XU H, et al. Circular RNAs and cancer[J]. Cancer Lett, 2017, 396: 138-144. DOI: 10.1016/j.canlet.2017.03.027.
- [11] HANSEN T B, JENSEN T I, CLAUSEN B H, et al. Natural RNA circles function as efficient microRNA sponges[J]. Nature, 2013, 495(7441): 384-388. DOI: 10.1038/nature11993. Epub 2013 Feb 27.
- [12] 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(5720): 339-340.
- [13] HANSEN T B, WIKLUND E D, BRAMSEN J B, et al. miRNA-dependent gene silencing involving Ago2-mediated cleavage of a circular antisense RNA[J]. EMBO J, 2011, 30(21): 4414-4422. DOI: 10.1038/emboj.2011.359.
- [14] SUN J, YUAN X, LI X, et al. Comparative transcriptome analysis of the global circular RNAs expression profiles between SHEE and SHEEC cell lines[J]. Am J Transl Res, 2017, 9(11): 5169-5179. eCollection 2017.
- [15] XIA W, QIU M, CHEN R, et al. Circular RNA has_circ_0067934 is upregulated in esophageal squamous cell carcinoma and promoted proliferation[J]. Sci Rep, 2016, 6: 35576. DOI: 10.1038/srep35576.
- [16] LI F, ZHANG L, LI W, et al. Circular RNA ITCH has inhibitory effect on ESCC by suppressing the Wnt/ β -catenin pathway[J]. Oncotarget, 2015, 6(8): 6001-6013. DOI: 10.18632/oncotarget.3469.
- [17] SU H, LIN F, DENG X, et al. Profiling and bioinformatics analyses reveal differential circular RNA expression in radioresistant esophageal cancer cells[J]. J Transl Med, 2016, 14(1): 225. DOI: 10.1186/s12967-016-0977-7.

[收稿日期] 2018-03-10

[修回日期] 2018-05-20

[本文编辑] 韩丹,阮芳铭