

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2021.05.007

·基础研究·

circ_0072088 通过调控 miR-545-3p/STAT3 轴促进非小细胞肺癌细胞的恶性生物学行为

项保利, 王布, 林卫佳, 于亚楠 (河北北方学院附属第一医院呼吸与危重症医学科, 河北 张家口 075000)

[摘要] **目的:** 探究环状 RNA(circular RNA, circRNA)0072088 在非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)细胞中的生物学功能及其作用机制。**方法:** 在公共基因芯片数据库 Gene Expression Omnibus(GEO)中下载 GSE101684 数据集, 通过 GEO2R 分析得到差异基因。通过 qPCR 检测 NSCLC 细胞 H165、H358、H460、H226 和 A549 细胞中 circ_0072088 的表达水平, 随后采用 CCK-8 法和 Transwell 小室法分别检测 circ_0072088 对 NSCLC 细胞增殖、迁移和侵袭的作用。通过 CircInteractome 和 TargetScan 数据库预测 circ_0072088 与 miR-545-3p、miR-545-3p 与 STAT3 之间的靶向关系, 并通过双荧光素酶报告基因实验和 RNA 结合蛋白免疫沉淀(RNA binding protein immunoprecipitation, RIP)实验验证 circ_0072088、miR-545-3p 与 STAT3 之间的靶向关系。**结果:** circ_0072088 在 NSCLC 细胞系中的表达均显著上调(均 $P < 0.05$)。过表达 circ_0072088 促进了 NSCLC 细胞的增殖、侵袭和迁移(均 $P < 0.05$); 敲低 circ_0072088 抑制了 NSCLC 细胞的增殖、侵袭和迁移(均 $P < 0.05$)。miR-545-3p 是 circ_0072088 的下游靶点, 可以被 circ_0072088 吸附; STAT3 是 miR-545-3p 的靶基因, 可以被 circ_0072088 间接正向调控。**结论:** Circ_0072088 通过调节 miR-545-3p/STAT3 轴促进 NSCLC 细胞的增殖和转移。

[关键词] circ_0072088; miR-545-3p; STAT3; 非小细胞肺癌

[中图分类号] R734.2; R730.2 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2021)05-0469-08

circ_0072088 promotes the malignant biological behaviors of non-small cell lung cancer cells by regulating miR-545-3p/STAT3 axis

XIANG Baoli, WANG Bu, LIN Weijia, YU Yanan (Department of Respiratory and Critical Care Medicine, the First Affiliated Hospital of Hebei North University, Zhangjiakou 075000, Hebei, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the biological function and mechanism of circular RNA (circRNA) 0072088 in non-small cell lung cancer (NSCLC) cells. **Method:** GSE101684 data set was downloaded from Gene Expression Omnibus (GEO), and the differentially expressed genes (DEGs) were screened with GEO2R analysis. The expression of circ_0072088 in NSCLC cell lines (H165, H358, H460, H226 and A549 cells) was detected using qPCR. CCK-8 assay and Transwell chamber assays were utilized to assess cell proliferation, migration and invasion. CircInteractome and TargetScan database were used to predict the targeting relationship between circ_0072088 and miR-545-3p as well as between miR-545-3p and STAT3, which were then verified by Dual luciferase reporter gene experiment and RNA binding protein immunoprecipitation (RIP) experiment. **Results:** The expression of circ_0072088 in NSCLC cell lines was significantly up-regulated ($P < 0.05$). Over-expression of circ_0072088 promoted the proliferation, invasion and migration of NSCLC cells ($P < 0.05$); knockdown of circ_0072088 inhibited the proliferation, invasion and migration of NSCLC cells ($P < 0.05$). MiR-545-3p is the downstream target of circ_0072088 and can be sponged by circ_0072088; STAT3 is the target gene of miR-545-3p, which can be indirectly and positively regulated by circ_0072088. **Conclusion:** Circ_0072088 promotes the proliferation and metastasis of NSCLC cells by regulating the miR-545-3p/STAT3 axis.

[Key words] circ_0072088; miR-545-3p; STAT3; non-small cell lung cancer (NSCLC)

[Chin J Cancer Biother, 2021, 28(5): 469-476. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2021.05.007]

肺癌是全球发病率和死亡率最高的恶性肿瘤之一^[1-2], 肺癌主要分为非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)和小细胞肺癌(small cell lung cancer, SCLC), 其中 NSCLC 占肺癌病例总数的 85%^[3]。目前, NSCLC 的治疗方法包括手术切除、化疗、放疗、靶向治疗和免疫治疗^[1]。尽管近年来 NSCLC 的治疗不断取得进步, 然而由于 NSCLC 具有较强的侵袭能力, 术后复发和转移率高, 导致患者预后极差^[4]。为了提高 NSCLC 患者的生存率和治愈率, 寻找新的、有效的 NSCLC 生物标志物有重要意义。越来越多的研究表明, 真核细胞中的非编

码 RNA 对肿瘤细胞的增殖、迁移和侵袭都有不可或

[基金项目] 张家口市科学技术研究与发展计划资助项目(No.1911021D-3)。Project supported by the Science and Technology Research and Development Plan Project of Zhangjiakou City (No.1911021D-3)

[作者简介] 项保利(1979-), 男, 硕士, 副主任医师, 主要从事呼吸介入治疗、肺癌诊治和肿瘤分子生物学研究工作, E-mail: liao3254@163.com

[通信作者] 王布(WANG Bu, corresponding author), 男, 硕士, 副主任医师, 主要从事呼吸病学相关的研究和诊治工作, E-mail: 289974726@qq.com

缺的调控作用^[5]。环状 RNA (circular RNA, circRNA) 是由前体信使 RNA (pre-mRNA) 反向剪切形成的新型非编码闭合环状 RNA, 在真核生物中广泛表达^[6-7]。由于 circRNA 本身缺少 5'末端帽子和 poly A 尾巴结构, 不会轻易被核糖核酸酶和核酸外切酶降解, 其相对于线形 RNA 来说结构更加稳定^[8-9]。越来越多的科研人员发现, circRNA 参与肿瘤细胞的侵袭和转移等多种生物学过程, 其主要生物学功能和临床意义也引起了越来越多的重视^[10-11]。同一肿瘤可受多种 circRNA 调控, 如 circ_0043278 和 circ_0013958 均显著促进 NSCLC 细胞的增殖和侵袭, 并抑制其凋亡^[12-13]; 同一种 circRNA 在不同肿瘤细胞中的功能也不尽相同, 如 circ_0004277 抑制结肠癌细胞的生长^[14], 而在白血病中抑制肿瘤细胞的增殖和迁移^[11]。然而 circ_0072088 在 NSCLC 的进展中发挥作用的机制尚不十分清楚。研究^[15]表明, miR-545-3p 在 NSCLC 中表达下调, 在肿瘤的生长中发挥抑制作用; STAT3 在 NSCLC 中表达上调, 可促进 NSCLC 细胞的增殖和转移^[16-17]。本研究通过生物信息学预测、相关机制实验探讨 miR-545-3p 与 STAT3、circ_0072088 间的靶向调控关系, 以及 miR-545-3p/STAT3 轴对 NSCLC 细胞的增殖、迁移和侵袭的影响, 希望能为 NSCLC 的诊断和治疗提供新的潜在靶点。

1 材料与方法

1.1 主要试剂与仪器

NSCLC 细胞 H165、H358、H460、H226、A549 及正常肺上皮细胞 BEAS-2B 均购自中国科学院典型培养物保藏委员会细胞库; Dulbecco 改良的 Eagle 培养基 (DMEM 培养基) 购自 Hyclone 公司 (Logan, UT, USA); 10% 胎牛血清购自 GE Healthcare Life Sciences 公司 (Little Chalfont, UK); 青霉素、链霉素、胰蛋白酶和脂质体 Lipofectamine 2000 均购自 Invitrogen 公司 (Carlsbad, CA, USA); cDNA 逆转录试剂盒、BCA 蛋白定量试剂盒和 RIPA 蛋白裂解液均购自 Beyotime 公司 (Shanghai, China), CCK-8 法检测试剂盒购自 MedChemExpress 公司 (Monmouth Junction, NJ, USA); 一抗 STAT 抗体和二抗抗体均购自 Abcam 公司 (Shanghai, China), 双荧光素酶报告基因检测试剂盒购自 Promega 公司 (Madison, WI, USA); Magna RIP 试剂盒购自 Millipore 公司 (Billerica, MA, USA); 空载质粒和 circ_0072088 过表达质粒均购自 Bio Link 公司 (Shanghai, China)。

1.2 细胞培养和转染

将所有细胞用含 100 U/ml 青霉素和 100 μg/ml

链霉素的 DMEM 培养基于 37 °C、5% CO₂ 完全饱和湿度条件下常规培养, 每 2~3 天传代 1 次, 取对数生长期细胞进行后续实验。使用 Lipofectamine 2000 分别将空载质粒 (Vector)、circ_0072088 过表达质粒、靶向 circ_0072088 的 siRNA (si-circ_0072088: 5'-TTTCCAAGCTGGCCCTTACGT-3')、对照 si-NC (序列: 5'-GUACGCGGAAUACUUCGAUU-3')、miR-545-3p 模拟物 (mimic) 和 miR-545-3p 抑制剂 (inhibitor) 及其对照 mimic NC 转染细胞, 同时转染空质粒作为对照组。

1.3 qPCR 检测 circ_0072088 在细胞中的表达水平

采用 TRIzol 试剂提取各组细胞总 RNA 并检测浓度后, 按 TaKaRa 公司试剂盒操作说明反转录成 cDNA。取 1 μl 的 cDNA 样本采用 SYBR Green Premix Ex Taq II 进行 qPCR, 以 U6 和 GAPDH 为内参, 引物序列见表 1, 使用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法计算 circ_0072088 相对表达量。

表 1 引物序列
Tab.1 Primer sequences

Target	Primer sequence
circ_0072088	F: GACCTCTGTCAGCGAGTTCC
	R: CTGCCTGTAACCTCTCTTCAGT
miR-545-3p	F: TGGCTCAGTTCAGCAGGAAC
	R: Universal reverse primer
GAPDH	F: AGAAGGCTGGGGCTCATTTG
	R: AGGGGCCATCCACAGTCTTC
U6	F: CTCGCTTCGGCAGCAC
	R: AACGCTTCACGAATT TGCCT

1.4 核质分离实验

将 NSCLC 细胞用 150 μl 核质分离裂解液重悬, 冰上裂解 5、10 min, 每隔 1 min 颠倒混匀。在 4 °C 下离心 10 min, 上清为细胞质样品, 沉淀为细胞核。使用 TRIzol 法分别抽提 RNA 并溶于 DEPC 水中, -80 °C 保存, 随后采用 qPCR 检测 circ_0072088, U6 和 GAPDH 的相对富集程度。

1.5 CCK-8 法检测

使用 CCK-8 试剂盒检测 A549 细胞活力, 取转染后的 A549 细胞平铺在 96 孔板中, 每个孔中约 2×10^3 个细胞, 培养 48 h 后每孔加入 10 μl CCK-8 试剂, 37 °C 孵育 1 h, 测定各孔在 450 nm 处的光密度 (D) 值。此后分别在第 24、48、72 和 96 h 各测定 1 次。

1.6 Transwell 实验检测

采用 Transwell 小室和基质胶侵袭实验测定细胞的迁移和侵袭能力。取对数生长期的 A549 细胞, 胰酶消化各组细胞, 用不含血清的 DMEM 培养基重悬细胞, 调整细胞密度为 1×10^5 个/ml。在 Transwell 小室 (8 μm) 上室加入细胞悬液 200 μl, 同时在下室加入 500 μl 含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基, 培养 48 h, 取出小室用 4% 的多聚甲醛固定

15 min, 0.1% 结晶紫溶液染色 15 min, PBS 洗去残余结晶紫后用棉拭子小心擦去 Transwell 小室上室中未穿膜的细胞, 显微镜下对穿膜细胞进行计数。在侵袭实验中, 除了 Transwell 小室底层覆有一层基质胶, 其余步骤同迁移实验。

1.7 WB 法检测

用含有蛋白酶抑制剂的 RIPA 裂解缓冲液裂解细胞, 提取总蛋白, 使用 BCA 蛋白浓度试剂盒进行定量, 制备蛋白样品行 SDS-PAGE。选取 5% 的浓缩胶和 10% 的分离胶, 取 20 μ l 蛋白样品进行上样, 电泳结束后, 将蛋白在 200 mA 恒流的条件下电转 90 min 转移至 PVDF 膜上。使用 10% 的脱脂乳粉溶液对 PVDF 膜进行封闭 2 h, 加入一抗, 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜。使用 TBST 洗膜 3 次, 每次 15 min, 将膜与二抗溶液在室温下孵育 2 h, 用 TBST 洗膜 3 次, 加入 ECL 化学发光液对蛋白进行显色成像。最后采用自动成像系统进行图像采集, 使用 Image Pro 软件测算蛋白条带灰度值, 计算蛋白相对表达量并进行统计学分析。

1.8 双荧光素酶报告基因实验检测

野生型 pGL3-circ_0072088 (circ_0072088-wild) 和突变型 pGL3-circ_0072088 (circ_0072088 mutant) 质粒、野生型 pGL3-STAT3-3'UTR (pGL3-STAT3-3'UTR-wild) 和突变型 pGL3-STAT3-3'UTR (pGL3-STAT3-3'UTR-mutant) 质粒均由 Promega 公司合成。将 A549 细胞按 4.5×10^4 个/孔细胞密度接种于 48 孔板中, 培养至约 70% 汇合。然后用 Lipofectamine

2000 将上述报告载体与 miR-545-3p mimic 共转染 A549 细胞, 48 h 后用双荧光素酶报告系统分析荧光素酶活性。

1.9 RIP 实验检测

采用 Magna RIP 试剂盒验证 circ_0072088 和 miR-545-3p 的靶向关系, 按试剂盒说明书进行操作。将细胞在 RIP 裂解缓冲液中裂解, 将 100 μ l 细胞裂解液和含有与人抗 Argonaute2 (Ago2) 抗体或阴性对照 IgG 抗体偶联的磁珠在 RIP 缓冲液中孵育。将样品与蛋白酶 K 振荡孵育以消化蛋白质, 获得 RNA 的沉淀。取纯化的 RNA 进行 qPCR 分析以进一步研究。

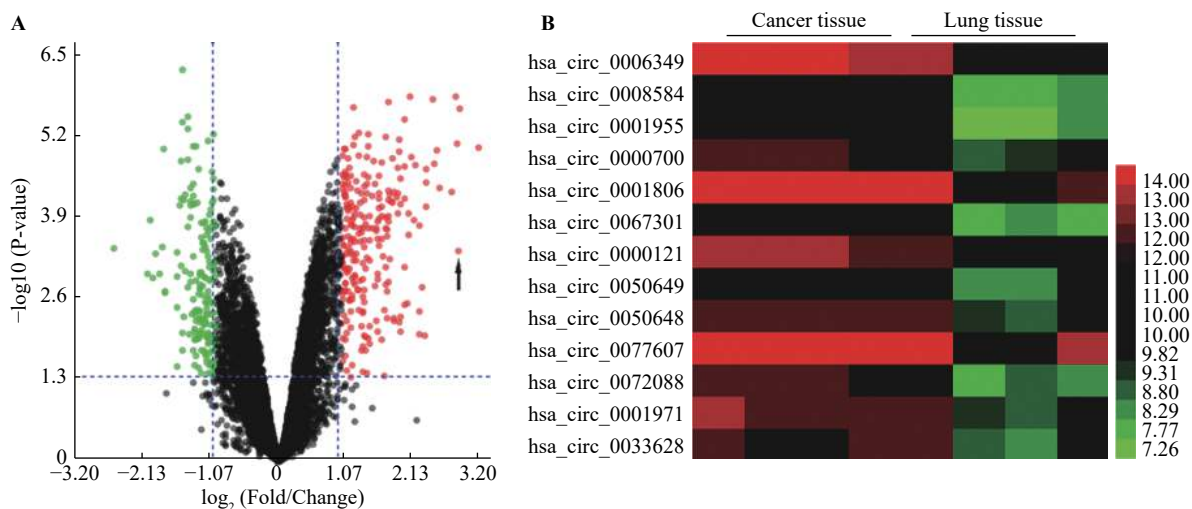
1.10 统计学处理

采用 SPSS 软件进行统计学分析, 所有实验独立重复 3 次, 符合正态分布的计量数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组数据之间的比较采用单因素方差分析 (ANOVA), 两组之间比较采用 *t* 检验, 以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 circ_0072088 在 NSCLC 组织中呈高表达

从公共基因芯片数据库 Gene Expression Omnibus (GEO) 中下载 GSE101684 数据集, 通过 GEO2R 分析差异基因, 结果 (图 1) 显示, circ_0072088 在 NSCLC 组织中的表达水平显著高于正常肺组织 ($P < 0.05$)。



A: Volcano map was used to show the differentially expressed circRNAs in NSCLC tissues ($\log_2|\text{Fold/change}| > 1, P < 0.05$);

B: Heat map was used to show the differential expression of circ_0072088 in NSCLC tissues

图 1 circ_0072088 在 NSCLC 组织中的表达

Fig.1 The expression of circ_0072088 in NSCLC tissues

2.2 过表达 circ_0072088 促进 NSCLC 细胞的增殖、迁移和侵袭

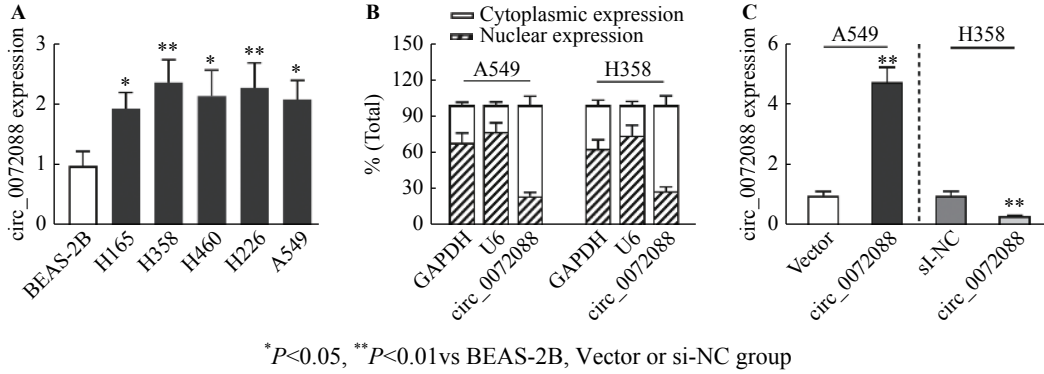
qPCR 检测结果显示, circ_0072088 在 NSCLC 细胞中的表达均显著高于 BEAS-2B 细胞 (均

$P < 0.05$, 图 2A), 并且在 A549 中表达相对最低、在 H358 中表达最高; circ_0072088 主要分布在细胞质中 (图 2B); 将 circ_0072088 过表达质粒转染 A549 细胞, si-circ_0072088 转染 H358 细胞后, 实验组细

胞中的 circ_0072088 表达均被有效提升或抑制 (均 $P < 0.01$, 图 2C)。

CCK-8 实验结果 (图 3A) 与 Transwell 实验结果 (图 3B) 显示, 与空载体对照组相比, circ_0072088 过表达组 A549 细胞的增殖水平显著升高 (48 h 起,

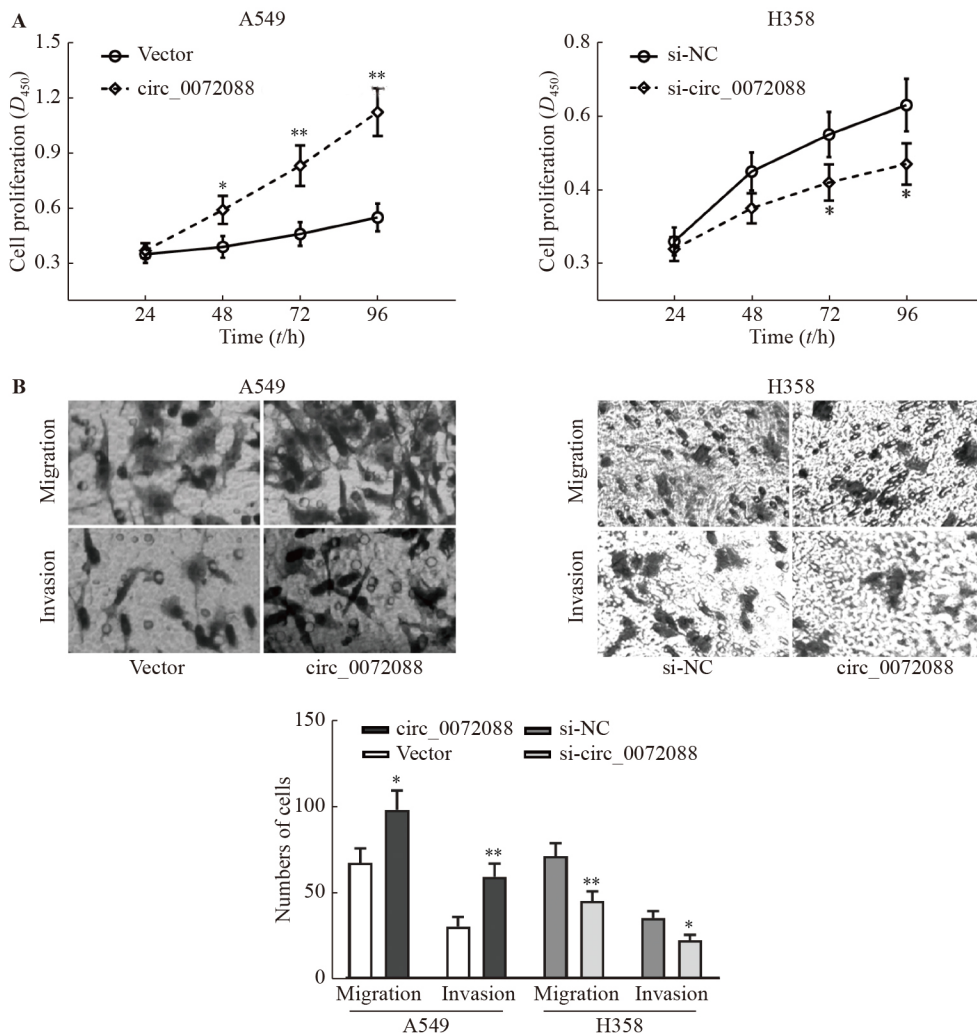
$P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 同时发生迁移和侵袭的细胞数均显著升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); circ_0072088 敲低组 H358 细胞的增殖水平显著降低 (72、96 h, 均 $P < 0.05$), 发生迁移和侵袭的细胞数均显著降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。



A: circ_0072088 expression in NSCLC cells was detected by qPCR; B: The subcellular localization of circ_0072088 was verified by qPCR; C: Transfection efficiency was detected by qPCR

图 2 circ_0072088 在 NSCLC 细胞中的表达

Fig.2 Expression of circ_0072088 in NSCLC cells



A: Cell viability was detected by CCK-8 assay; B: Cell migration and invasion were detected by Transwell assay ($\times 40$)

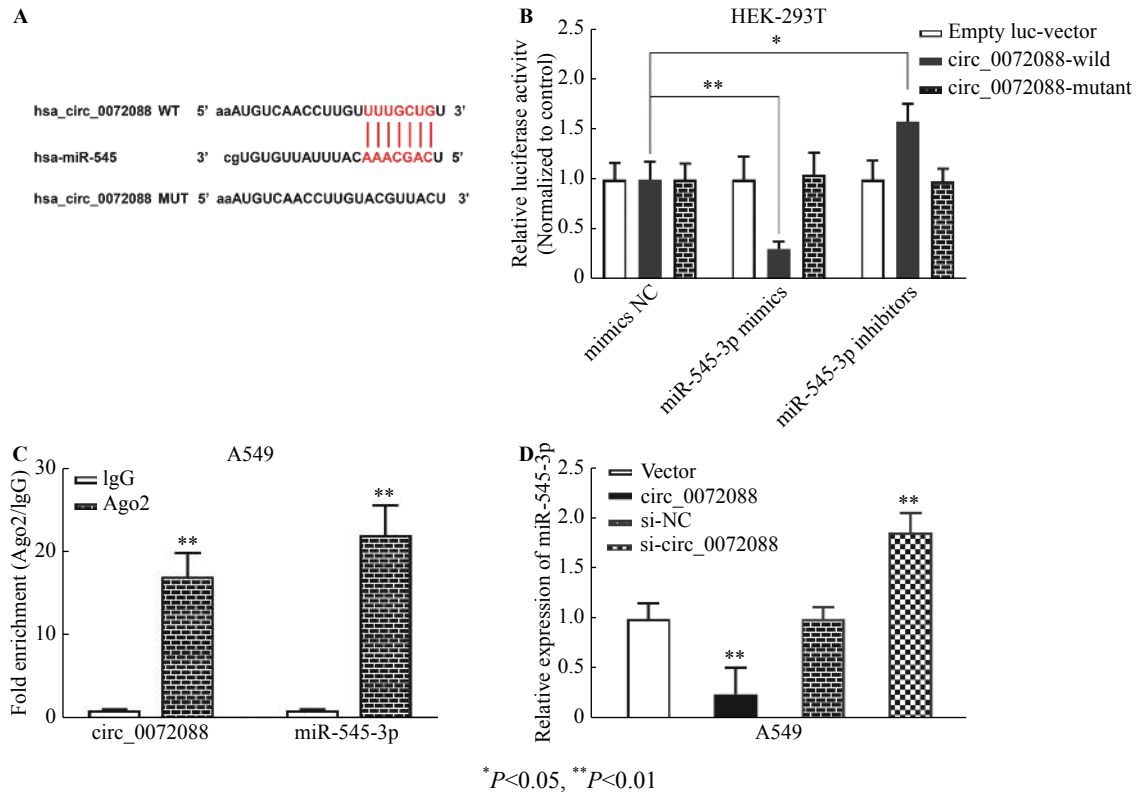
图 3 Circ_0072088 对 A549 和 H358 细胞增殖、迁移和侵袭的影响

Fig.3 The effects of circ_0072088 on cell viability, migration and invasion of A549 and H358 cells

2.3 circ_0072088 直接靶向 miR-545-3p

为了进一步验证 circ_0072088 的作用机制, 通过 CircInteractome 网站 (<https://circinteractome.nia.nih.gov/>) 预测发现, miR-545-3p 与 circ_0072088 之间存在结合位点 (图 4A)。双荧光素酶报告基因实验结果 (图 4B) 证实, 转染 miR-545-3p mimic 可显著抑制 circ_0072088-wild 的荧光素酶活性 ($P < 0.05$

或 $P < 0.01$), 而对于 circ_0072088-mutant 的荧光素酶活性无显著影响。RIP 实验结果 (图 4C) 显示, 在 Ago2 抗体组中, miR-545-3p 与 circ_0072088 高度富集, 而在 IgG 抗体组中未发现明显富集。此外, 过表达 circ_0072088 显著抑制 A549 细胞中 miR-545-3p 的表达, 而敲低 circ_0072088 则显著上调 miR-545-3p 的表达 (均 $P < 0.01$, 图 4D)。



A: The binding site between circ_0072088 and miR-545-3p; B, C: Dual luciferase reporter gene experiment and RIP experiment verified the targeting relationship between miR-545-3p and circ_0072088; D: The effect of over-expression or knockdown of circ_0072088 on the expression of miR-545-3p

图 4 circ_0072088 靶向调控 miR-545-3p 的表达

Fig.4 circ_0072088 regulated the expression of miR-545-3p

2.4 circ_0072088 通过吸附 miR-545-3p 对 NSCLC 细胞增殖、迁移和侵袭的影响

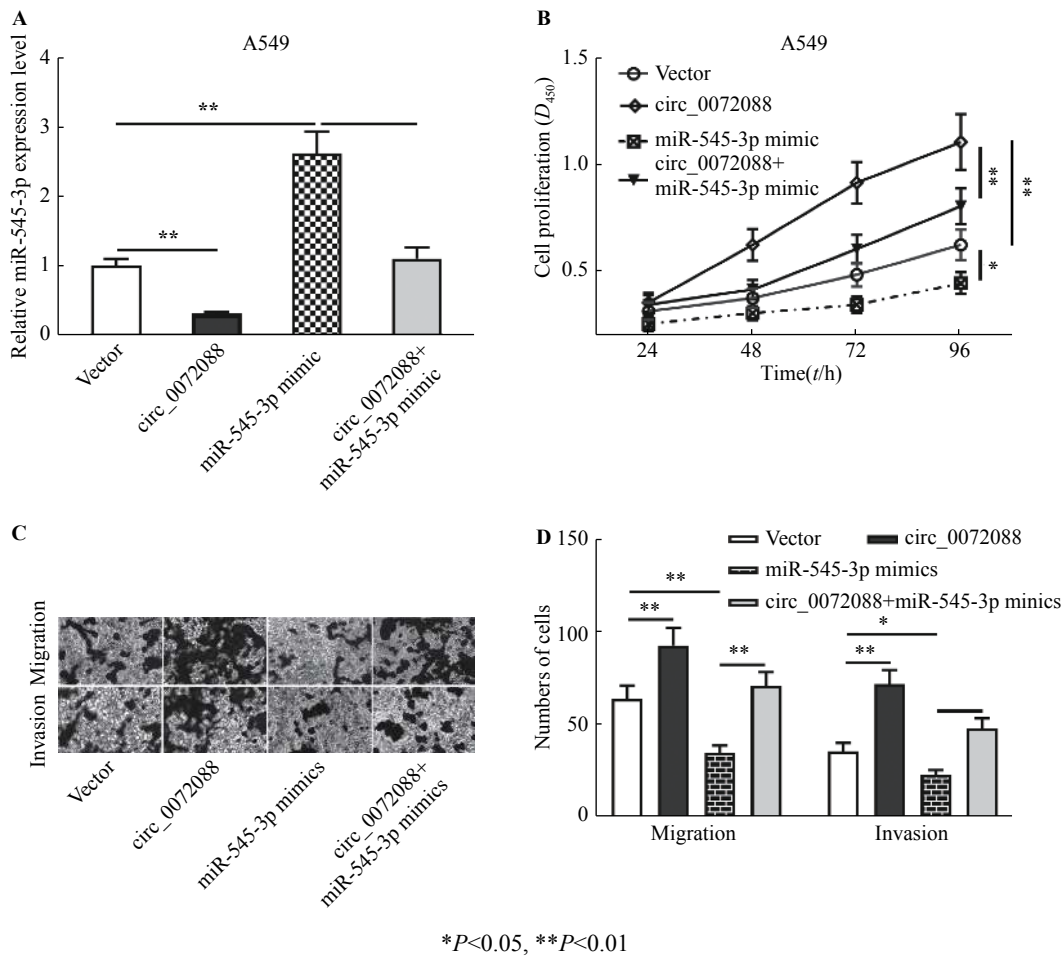
qPCR 检测结果 (图 5A) 显示, 与空载体对照组相比, circ_0072088 过表达质粒转染组 A549 细胞中 miR-545-3p 的表达显著降低 ($P < 0.01$), miR-545-3p mimic 组 miR-545-3p 的表达显著升高 ($P < 0.01$), 而 circ_0072088 过表达质粒 + miR-545-3p mimic 共转染组 miR-545-3p 的表达与对照组无显著差异, 提示转染成功。

CKK-8 (图 5B) 和 Transwell (图 5C) 实验检测结果表明, 相比于空载体对照组, circ_0072088 过表达组 A549 细胞的增殖、迁移和侵袭能力均显著升高 (均 $P < 0.01$), miR-545-3p 模拟物组细胞的增殖、迁移和侵袭能力均显著降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 上调 miR-545-3p 可削弱过表达 circ_0072088 对细胞增

殖、迁移和侵袭的促进作用。

2.5 circ_0072088 通过吸附 miR-545-3p 促进 STAT3 的表达

通过 Targetscan (http://www.targetscan.org/vert_72/) 数据库进行预测发现, STAT3 是 miR-545-3p 的潜在靶基因之一, 结合位点见图 6A。双荧光素酶报告基因实验证实, 转染 miR-545-3p mimic 可显著抑制 STAT3-wild 组细胞中的荧光素酶活性 ($P < 0.01$), 而对 STAT3-Mutant 组的荧光素酶活性无显著影响 (图 6B)。WB 检测结果 (图 6C) 显示, 相比于对照组, 过表达 circ_0072088 促进 STAT3 的表达, 而上调 miR-545-3p 抑制 STAT3 的表达, 且上调 miR-545-3p 削弱过表达 circ_0072088 对 STAT3 表达的促进作用。



A: Effects of transfection of circ_0072088 overexpression plasmid and miR-545-3p mimic on miR545-3p expression in A549 cells detected by qPCR; B: CCK-8 experiment detected the effect of overexpression of circ_0072088 and miR-545-3p on the proliferation of A549 cells; C, D: Transwell experiment detected the effect of overexpression of circ_0072088 and miR-545-3p on the migration and invasion of A549 cells

图 5 过表达 circ_0072088 和 miR-545-3p 对 A549 细胞增殖、迁移和侵袭能力的影响

Fig.5 Effects of overexpression of circ_0072088 and miR-545-3p on the proliferation, migration and invasion of A549 cells

3 讨论

研究^[18-20]发现, circRNA 可能在多种疾病的发展中起作用, 包括动脉粥样硬化性血管疾病的风险、神经系统疾病、病毒疾病、骨关节炎和糖尿病等。重要的是, circRNA 在多种肿瘤中异常表达, 并参与肿瘤的发生发展^[20]。例如, circ_0078767 和 circ_0001649 可抑制 NSCLC 细胞的生长^[21-22], 而 circ_0020123 可以促进 NSCLC 细胞增殖和侵袭^[23], circ_0072088 能促进 NSCLC 细胞和肺癌裸鼠移植瘤的生长^[24]。本研究发现, circ_0072088 能显著促进 A549 细胞的增殖、迁移和侵袭, 这表明 circ_0072088 有望成为 NSCLC 的新型诊断标志物和分子治疗靶点。

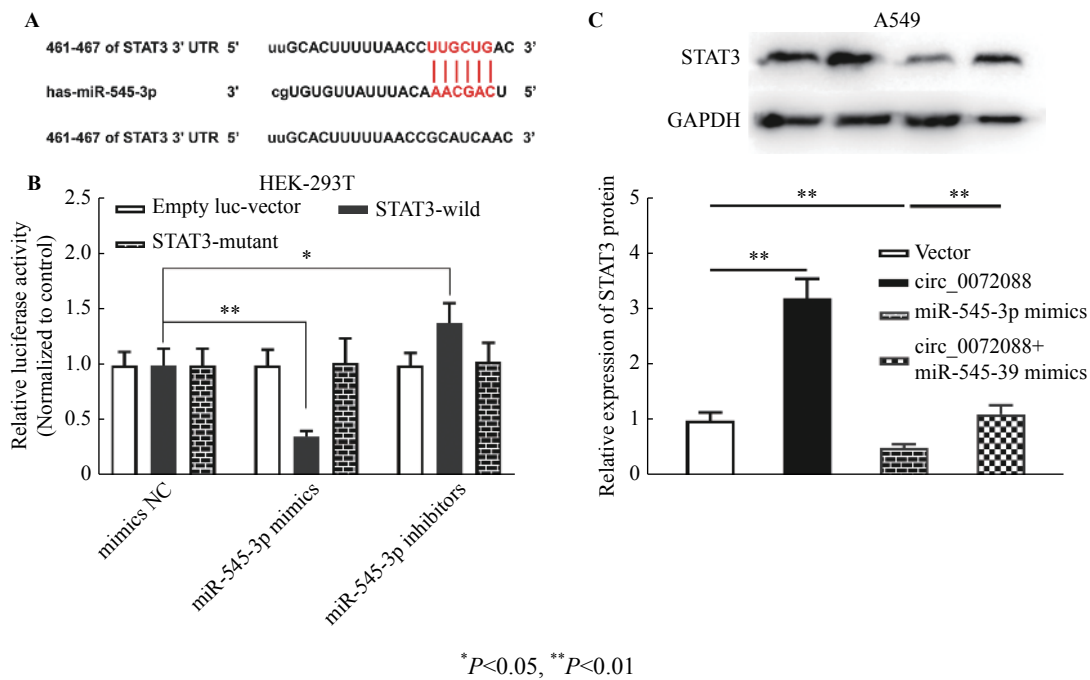
miRNA 在肿瘤的发生、发展和转移中发挥着重要的作用^[25]。关于 miR-545-3p 的研究发现, 其可通过靶向 CBLL1 抑制 NSCLC 细胞的生长, 并增强其对顺铂的化学敏感性^[26]; 可通过抑制 p38/丝裂原激

活的蛋白激酶通路在体内和体外抑制 NSCLC 的进展, 并且其表达受到 circ_0007580 的靶向调控^[15]。本研究发现, miR-545-3p 是 circ_0072088 下游靶点, circ_0072088 可通过吸附 miR-545-3p 抑制 A549 细胞的恶性生物学行为。

STAT3 是 STAT 转录因子家族的重要成员之一, 在调控细胞增殖、分化、凋亡、血管生成、免疫反应、肿瘤发生和转移等生物学进程中发挥重要作用^[27-28]。JAK/STAT、MAPK 和 mTOR 途径均可激活 STAT3, 被激活的 STAT3 易位至细胞核内诱导许多基因的转录, 从而促进多种肿瘤的恶性进展^[29-30]。此外, STAT3 的表达还受到 miRNA 的直接靶向调控和 circRNA 的间接调控^[31]。在 NSCLC 细胞中发现, circ_0076305 通过吸附 miR-296-5p 上调 STAT3 的表达, 从而促进肿瘤细胞的增殖和转移^[32]。circ_ZNF124 通过吸附 miR-337-3p 促进 STAT3 的表达, 从而促进 NSCLC 的发生和发展^[31]。近年来研究^[26, 33-34]表明, miR-545-3p 通过靶向 CBLL1、

VEGFA 和 MT1M 参与肿瘤的发生发展。本研究发
现, STAT3 也是 miR-545-3p 的靶基因, 进一步研究

表明 circ_0072088 通过吸附 miR-545-3p 上调 STAT3
的表达, 从而促进 A549 细胞的增殖、迁移和侵袭。



A: Binding site between MiR-545-3p and STAT3 predicted by the TargetsCan database; B: The targeting relationship between miR-545-3p and STAT3 gene detected by Dual luciferase reporter gene experiment;

C: The influence of circ_0072088 and miR-545-3p on STAT3 expression

图 6 circ_0072088 通过吸附 miR-545-3p 促进 A549 细胞中 STAT3 蛋白的表达

Fig.6 circ_0072088 promoted the protein expression of STAT3 in A549 cells by sponging miR-545-3p

总之, 本研究发
现 circ_0072088 通过调
控 miR-545-3p/STAT3 分子轴促进 NSCLC A549 细胞
的恶性生物学行为, 表明 circ_0072088 可作为
NSCLC 的一个候选的预后生物标记物和新的治疗
靶点。

【参 考 文 献】

[1] SIEGEL R L, MILLER K D, FEDEWA S A, et al. Colorectal cancer statistics, 2017[J]. *CA: A Cancer J Clin*, 2017, 67(3): 177-193. DOI: 10.3322/caac.21395.

[2] 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[J]. *CA: A Cancer J Clin*, 2018, 68(6): 394-424. DOI: 10.3322/caac.21492.

[3] ZHOU B, YU Y L, QIU Z, et al. GDF11 ameliorated myocardial ischemia reperfusion injury by antioxidant stress and up-regulating autophagy in STZ-induced type 1 diabetic rats[J/OL]. *Acta Cir Bras*, 2020, 34(11): e201901106[2021-03-24]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6958563/>. DOI:10.1590/s0102-86502019011000006.

[4] HERBST R S, MORGENZTERN D, BOSHOFF C. The biology and management of non-small cell lung cancer[J]. *Nature*, 2018, 553(7689): 446-454. DOI: 10.1038/nature25183.

[5] SANTOS R M, MORENO C, ZHANG W C. Non-coding RNAs in lung tumor initiation and progression[J]. *Int J Mol Sci*, 2020,

21(8): 2774. DOI: 10.3390/ijms21082774.

[6] SZABO L, SALZMAN J. Detecting circular RNAs: bioinformatic and experimental challenges[J]. *Nat Rev Genetics*, 2016, 17(11): 679-692. DOI: 10.1038/nrg.2016.114.

[7] WILUSZ J E. Circular RNAs: Unexpected outputs of many protein-coding genes[J/OL]. *RNA Biol*, 2017, 14(8): 1007-1017[2020-08-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5680674/>. DOI:10.1080/15476286.2016.1227905.

[8] WILUSZ J E. A 360° view of circular RNAs: From biogenesis to functions[J/OL]. *WIREs RNA*, 2018, 9(4): e1478[2020-08-22]. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/wrna.1478>. DOI:10.1002/wrna.1478.

[9] WERFEL S, NOTHJUNGE S, SCHWARZMAYR T, et al. Characterization of circular RNAs in human, mouse and rat hearts[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2016, 98: 103-107. DOI: 10.1016/j.yjmcc.2016.07.007.

[10] TANG Q, HANN S S. Biological roles and mechanisms of circular RNA in human cancers[J]. *Oncotargets Ther*, 2020, 13: 2067-2092. DOI: 10.2147/ott.s233672.

[11] LI W, ZHONG C Q, JIAO J, et al. Characterization of hsa_circ_0004277 as a new biomarker for acute myeloid leukemia via circular RNA profile and bioinformatics analysis[J/OL]. *Int J MoSci* 2017, 18(3): E597[2020-08-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5372613/>. DOI:10.3390/ijms18030597.

[12] HANG D, ZHOU J, QIN N, et al. A novel plasma circular RNA circFARSA is a potential biomarker for non-small cell lung cancer[J]. *Cancer Med*, 2018, 7(6): 2783-2791. DOI: 10.1002/

- cam4.1514.
- [13] WANG C D, TAN S Y, LIU W R, et al. RNA-Seq profiling of circular RNA in human lung adenocarcinoma and squamous cell carcinoma[J/OL]. *Mol Cancer*, 2019, 18(1): 134[2020-08-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6724331/>. DOI:10.1186/s12943-019-1061-8.
- [14] YANG L, SUN H W, LIU X, et al. Circular RNA hsa_circ_0004277 contributes to malignant phenotype of colorectal cancer by sponging miR-512-5p to upregulate the expression of PTMA[J]. *J Cell Physiol*, 2020: jcp.29484. DOI: 10.1002/jcp.29484.
- [15] CHEN S F, LU S, YAO Y N, et al. Downregulation of hsa_circ_0007580 inhibits non-small cell lung cancer tumorigenesis by reducing miR-545-3p sponging[J/OL]. *Aging (Albany NY)*, 2020, 12(14): 14329-14340[2020-04-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7425484/>. DOI:10.18632/aging.103472.
- [16] LI Y L, DING K, HU X, et al. DYRK1A inhibition suppresses STAT3/EGFR/Met signalling and sensitizes EGFR wild-type NSCLC cells to AZD9291[J]. *J Cell Mol Med*, 2019, 23(11): 7427-7437. DOI: 10.1111/jcmm.14609.
- [17] YAN X H, LI P F, ZHAN Y H, et al. Dihydroartemisinin suppresses STAT3 signaling and Mcl-1 and Survivin expression to potentiate ABT-263-induced apoptosis in Non-small Cell Lung Cancer cells harboring EGFR or RAS mutation[J]. *Biochem Pharmacol*, 2018, 150: 72-85. DOI: 10.1016/j.bcp.2018.01.031.
- [18] QU S B, YANG X S, LI X L, et al. Circular RNA: a new star of noncoding RNAs[J]. *Cancer Lett*, 2015, 365(2): 141-148. DOI: 10.1016/j.canlet.2015.06.003.
- [19] PATOP I L, KADENER S. circRNAs in Cancer[J]. *Curr Opin Genet Dev*, 2018, 48: 121-127. DOI: 10.1016/j.gde.2017.11.007.
- [20] ZHANG H D, JIANG L H, SUN D W, et al. CircRNA: a novel type of biomarker for cancer[J]. *Breast Cancer*, 2018, 25(1): 1-7. DOI: 10.1007/s12282-017-0793-9.
- [21] CHEN T, YANG Z Z, LIU C, et al. Circ_0078767 suppresses non-small-cell lung cancer by protecting RASSF1A expression via sponging miR-330-3p[J/OL]. *Cell Prolif*, 2019, 52(2): e12548[2020-08-22]. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/cpr.12548>. DOI:10.1111/cpr.12548.
- [22] LIU T M, SONG Z, GAI Y L. Circular RNA circ_0001649 acts as a prognostic biomarker and inhibits NSCLC progression via sponging miR-331-3p and miR-338-5p[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 503(3): 1503-1509. DOI: 10.1016/j.bbrc.2018.07.070.
- [23] WAN J R, HAO L G, ZHENG X Y, et al. Circular RNA circ_0020123 promotes non-small cell lung cancer progression by acting as a ceRNA for miR-488-3p to regulate ADAM9 expression[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 515(2): 303-309. DOI: 10.1016/j.bbrc.2019.05.158.
- [24] TAN Z F, CAO F, JIA B, et al. Circ_0072088 promotes the development of non-small cell lung cancer via the miR-377-5p/NOVA2 axis[J/OL]. *Thorac Cancer*, 2020, 11(8): 2224-2236[2020-07-12]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7396390/>. DOI:10.1111/1759-7714.13529.
- [25] VESCOVO V D, DENTI M A. MicroRNA and lung cancer[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2015, 889(4): 153-177. DOI: 10.1007/978-3-319-23730-5_9.
- [26] LI H P, LIU F F, QIN W J. Circ_0072083 interference enhances growth-inhibiting effects of cisplatin in non-small-cell lung cancer cells via miR-545-3p/CBLL1 axis[J/OL]. *Cancer Cell Int*, 2020, 20: 78[2020-04-12]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7066755/>. DOI:10.1186/s12935-020-1162-x.
- [27] FATHI N, RASHIDI G, KHODADADI A, et al. STAT3 and apoptosis challenges in cancer[J]. *Int J Biol Macromol*, 2018, 117: 993-1001. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2018.05.121.
- [28] GUANIZO A C, FERNANDO C D, GARAMA D J, et al. STAT3: a multifaceted oncoprotein[J]. *Growth Factors*, 2018, 36(1/2): 1-14. DOI: 10.1080/08977194.2018.1473393.
- [29] NJATCHA C, FAROOQUI M, KORNBERG A, et al. STAT3 cyclic decoy demonstrates robust antitumor effects in non-small cell lung cancer[J/OL]. *Mol Cancer Ther*, 2018, 17(9): 1917-1926[2020-08-12]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6125196/>. DOI:10.1158/1535-7163.MCT-17-1194.
- [30] XU G J, CAI J, WANG L, et al. MicroRNA-30e-5p suppresses non-small cell lung cancer tumorigenesis by regulating USP22-mediated Sirt1/JAK/STAT3 signaling[J]. *Exp Cell Res*, 2018, 362(2): 268-278. DOI: 10.1016/j.yexcr.2017.11.027.
- [31] LI Q P, HUANG Q, CHENG S F, et al. Circ_ZNF124 promotes non-small cell lung cancer progression by abolishing miR-337-3p mediated downregulation of JAK2/STAT3 signaling pathway[J/OL]. *Cancer Cell Int*, 2019, 19: 291[2020-08-12]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6854740/>. DOI:10.1186/s12935-019-1011-y.
- [32] DONG Y, XU T, ZHONG S P, et al. Circ_0076305 regulates cisplatin resistance of non-small cell lung cancer via positively modulating STAT3 by sponging miR-296-5p[J]. *Life Sci*, 2019, 239: 116984. DOI: 10.1016/j.lfs.2019.116984.
- [33] ZHONG Y W, WANG Y D, DANG H M, et al. LncRNA AFAP1-AS1 contributes to the progression of endometrial carcinoma by regulating miR-545-3p/VEGFA pathway[J]. *Mol Cell Probes*, 2020, 53: 101606. DOI: 10.1016/j.mcp.2020.101606.
- [34] LIU C J, HUANG F Z, PENG D Z, et al. MiR-545-3p/MT1M axis regulates cell proliferation, invasion and migration in hepatocellular carcinoma[J]. *Biomedicine Pharmacother*, 2018, 108: 347-354. DOI: 10.1016/j.biopha.2018.09.009.

[收稿日期] 2020-12-28

[修回日期] 2021-04-16

[本文编辑] 黄静怡