

• 综 述 •

## 外周血环状 RNA 在消化道肿瘤诊断中的临床应用价值研究\*

韩卓婷<sup>1</sup>, 林小聪<sup>2</sup>综述, 曾 涛<sup>3△</sup> 审核

1. 广东医科大学附属第二医院检验医学科, 广东湛江 524003; 2. 广东医科大学/广东医科大学生物化学与分子生物学研究所, 广东湛江 524023; 3. 广东医科大学附属第一医院检验医学中心, 广东湛江 524003

**摘 要:** 环状 RNA(circRNA) 是近年新型非编码 RNA 分子, 其结构共价闭环, circRNA 参与肿瘤发展各个进程, 如肿瘤血管生成、上皮-间质转化(EMT)、耐药、侵袭等。CircRNA 会以外泌体、微泡等形式进入血液循环, 且不易被核酸酶降解, 在血液循环中能够稳定存在。消化道肿瘤发生发展的进程与外周血 circRNA 的表达水平密切相关, 外周血 circRNA 可能是消化道肿瘤潜在新型的非侵入性的诊断标志物。该文就 circRNA 在消化道肿瘤诊断价值的研究进展作一综述, 着重分析外周血 circRNA 在消化道肿瘤诊断中的临床应用价值。

**关键词:** 外周血; 环状 RNA; 消化道肿瘤; 诊断; 应用价值**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2024.21.022**中图法分类号:** R730.4**文章编号:** 1673-4130(2024)21-2675-06**文献标志码:** A

## Clinical application of peripheral blood circular RNA in the diagnosis of gastrointestinal tumors\*

HAN Zhuoting<sup>1</sup>, LIN Xiaochong<sup>2</sup>, ZENG Tao<sup>3△</sup>

1. Department of Laboratory Medicine, the Second Affiliated Hospital of Guangdong Medical University, Zhanjiang, Guangdong 524003, China; 2. Institute of Biochemistry and Molecular Biology, Guangdong Medical University, Zhanjiang, Guangdong 524023, China; 3. Laboratory Medicine Center, Affiliated Hospital of Guangdong Medical University, Zhanjiang, Guangdong 524003, China

**Abstract:** Circular RNA (circRNA) is a new type of non-coding RNA molecule with covalent closed-loop structure. CircRNA is involved in various processes of tumor development, such as tumor angiogenesis, epithelial-mesenchymal transformation (EMT), drug resistance, invasion, etc. CircRNA could enter the blood circulation in the form of exosomes and microvesicles, and is not easily degraded by nuclease, and could exist stably in the blood circulation. The progression of gastrointestinal tumors is closely related to the expression level of circRNA in peripheral blood, and peripheral blood circRNA may be a potential novel non-invasive diagnostic marker for gastrointestinal tumors. This article reviews the research progress of circRNA in the diagnosis of gastrointestinal tumors, focusing on the clinical application value of peripheral blood circRNA in the diagnosis of gastrointestinal tumors.

**Key words:** peripheral blood; circular RNA; gastrointestinal tumor; diagnose; application value

消化道肿瘤是发生在消化道及附属器官的肿瘤, 包括食管癌、胃癌、结直肠癌、肝癌、胆管癌、胰腺癌等, 其在全球癌症相关发病率和病死率中所占的比例均超过 50%<sup>[1]</sup>。有研究证实环状 RNA(circRNA) 参与消化道肿瘤细胞各项进程, 在消化道肿瘤发生、发展和转归中起重要作用<sup>[1]</sup>。此外, circRNA 环状结构相对其他 RNA 来说较为独特, 由于其共价闭合而受 RNA 外切酶的影响极小, 能稳定存在于外周血循环中, 因此可能成为诊断消化道肿瘤的标志物以及潜在的消化道肿瘤治疗靶点。本文简要回顾近几年在消化道肿瘤的诊断以及其预后中, 外周血 circRNA 作为

相关标志物的研究进展, 旨在为消化道肿瘤的临床诊断应用评估提供新思路。

## 1 circRNA 概述

**1.1 circRNA 的分类及生物学功能** circRNA 是由特殊类型的前体 RNA 分子通过反向剪切形成的一类共价闭合环形 RNA 分子, 广泛存在于转录组中。根据其在基因组的定位, circRNA 可分为内含子 circRNA、外显子 circRNA 及内含子-外显子 circRNA 3 种类型<sup>[2]</sup>。circRNA 可在转录、转录后以及翻译水平调控基因表达, 具有多种生物学功能: (1) circRNA 可充当 miRNA 海绵, 通过竞争性结合 miRNA 干扰

\* 基金项目: 广东省钟南山医学基金项目(ZNSXS-20240012); 湛江市科技局资金资助疾病防治类专题(2021A05102)。

△ 通信作者, E-mail: zengt@smu.edu.cn。

miRNA 对其靶 mRNA 的抑制作用<sup>[3]</sup>; (2) 通过与 RNA 结合蛋白相互作用调控特定蛋白质的活性或者影响蛋白质的翻译<sup>[4]</sup>; (3) 作为翻译的模板编码微肽或者小肽发挥作用<sup>[5]</sup>; (4) 通过与 RNA 聚合酶 II 转录复合物、启动子、增强子等相互作用调控基因转录<sup>[6]</sup>。

**1.2 circRNA 的生物学优势** 研究表明, circRNA 主要以外泌体、微泡等形式从细胞释放至体液<sup>[7]</sup>。与 mRNA 不同, circRNA 的 3' 末端没有多聚腺苷酸化尾巴, 5' 末端没有帽状结构, 但其具有独特共价闭环结构, 可避免被核酸外切酶降解, 且稳定性远高于 mRNA<sup>[8]</sup>。有研究证实 circRNA 在肿瘤进程中起着重要作用, 并且在血液循环中能够稳定存在, 可能成为诊断肿瘤方面理想的潜在标志物。此外, circRNA 作为诊断标志物的优势还包括: (1) 检测方法快捷、简便, 通过实时定量 PCR (qPCR) 能迅速从细胞和体液中检测出 circRNA; (2) 与 mRNA、miRNA 或 lncRNA 相比, circRNA 具有更高的肿瘤组织特异度。

**1.3 circRNA 的检测技术** 人体体液富含 circRNA, 其中肿瘤来源的 circRNA 携带肿瘤细胞的重要分子特征和遗传信息。因此 circRNA 可作为癌症非侵入性检测中“体液活检”的重要组成部分。目前 circRNA 检测技术主要有 circRNA 测序技术、qPCR、circRNA 芯片、原位杂交技术 (ISH)、微滴式数字 PCR (ddPCR)、RNA 印迹技术 (Northern blotting)、NanoString 技术 7 种类型。

qPCR 技术主要在 PCR 反应中加入荧光基团, 通过连续检测荧光信号出现的先后顺序及信号强度的变化, 对目的基因的初始量进行实时分析; 其操作简便、检测成本低、特异度高, 具有较高的准确性和灵敏度, 既能检测组织细胞中的 circRNA 表达水平, 又能对外周血的 circRNA 进行定量分析, 是目前应用范围最广的 circRNA 检测技术<sup>[9]</sup>, 但电泳法检测特异度不佳, 引物二聚体等非特异度的杂交体容易引起误判。ISH (包括荧光原位杂交和显色原位杂交) 可对特定核酸序列进行定量与定位分析。将特定标记已知序列核酸探针, 与待测核酸进行分子杂交, ISH 可分析组织细胞中的 circRNA 表达水平, 无法对外周血 circRNA 进行定量检测, 其临床应用因此受限<sup>[10]</sup>。circRNA 芯片技术使用针对 circRNA 反向结合位点的特异度探针, 并利用核糖核酸酶 R 消化线性 RNA, 进而灵敏地捕获并定量 circRNA; circRNA 测序技术则通过核糖核酸酶 R 降解线性 RNA 并富集 circRNA, 然后对富集的 circRNA 进行 circRNA 文库构建和高通量测序; 两者具有高度自动化、高通量等特点, 对组织、细胞以及血液样本的 circRNA 表达水平均可进行检测分析, 但也存在对仪器设备要求高、操作烦琐、结果重复性较差、数据分析复杂、检测费用高等诸多缺点, 临床上难以推广应用<sup>[11]</sup>。

ddPCR 是 circRNA 精确定量技术, 确定 cir-

cRNA 的稳定性具有较高灵敏度。将实时荧光定量逆转录 PCR (RT-qPCR) 与 ddPCR 进行比较, RT-qPCR 孵育时间越长, circRNA 就越多, RT-qPCR 定量 circRNA 的准确性因积累 PCR 产物过多而下降。ddPCR 可克服这一缺点, 无需标准品即可对靶标分子实现绝对定量, 具有更高的灵敏度、精密度和重复性; 此外, ddPCR 能克服 PCR 抑制剂的影响, 适合基质复杂样本的检测; ddPCR 在扩增前需进行样本稀释, 构建多个独立反应单元, 每个单元内包含一个或不含目标 DNA<sup>[12]</sup>。Northern 印迹法是将 RNA 变性及电泳分离后转移到固相支持物, 用于与 DNA 探针杂交以鉴定特定 RNA 相对分子质量的大小与含量, 有力表明假定 circRNA 的环状结构。通常检测要求 Northern 印迹与其他工具相结合, 如 RNase R 和 RNase H 处理。在 RNase R (-) 组中, circRNA 和线性 mRNA 都可被检测到, 而在 RNase R (+) 组中, 由于线性 mRNA 消化, 只能检测 circRNA 的条带<sup>[13]</sup>。NanoString 技术能准确定量临床样品中的 circRNA, 不受逆转录酶相关的偏差影响。其灵敏度和特异度较高, 重复性高, 手工操作时间较短, 是一种定量准确的方法, 但不能用于发现新的 circRNA, 需使用专门设备和定制面板, 因此未能进行 circRNA 量化, 该技术不能完全取代该领域的其他方法<sup>[14]</sup>。

**2 消化道肿瘤相关的外周血 circRNAs**

消化道肿瘤为患者消化系统相应器官或组织出现肿瘤, 常见的有结直肠癌、肝癌、胃癌、胰腺癌、食管癌等。糖类抗原 (CA) 199、CA724 和癌胚抗原 (CEA) 等血清学指标是临床工作中常见的诊断消化道肿瘤标志物, 但其灵敏度及特异度均比较低, 在消化道肿瘤筛查早期存在较高的漏诊和误诊率, 迫切需要寻找新的早期诊断标志物。有研究表明, circRNA 广泛存在于血液、尿液、泪液、唾液等体液中, 并具有较高的组织特异度和稳定性<sup>[15-16]</sup>; 多种 circRNAs 在消化道肿瘤组织和血液样本中存在较为明显的表达失调, 并在其发病机制中起重要作用, 有望成为诊断消化道肿瘤及其预后方面潜在的标志物<sup>[17]</sup>。见表 1。

**2.1 结直肠癌相关的 circRNAs** circ\_0000375 和 circ\_0011536 在结直肠癌组织、细胞及血清样本中表达水平下调, 上调 circ\_0000375 和 circ\_0011536 表达水平可抑制结直肠癌细胞增殖、迁移和侵袭; 受试者工作特征 (ROC) 曲线分析表明, 血清 circ\_0000375 诊断结直肠癌的曲线下面积 (AUC) 为 0.976, 而 circ\_0011536 其诊断结直肠癌的 AUC 为 0.982, 提示 circ\_0000375 和 circ\_0011536 在结直肠癌中具有抑癌基因功能, 并可能成为新的结直肠癌诊断标志物<sup>[18]</sup>。与健康对照者相比, circ\_0004771 在结直肠癌患者血清中表达水平显著上调, 其诊断结直肠癌的 AUC 为 0.86, 灵敏度和特异度分别为 81.40% 和 80.00%<sup>[19]</sup>。LIN 等<sup>[20]</sup>报道, circALG1 在结直肠癌组织和外周血

样本中表达水平均显著上调并与结直肠癌转移呈正相关;circALG1 可作为内源性竞争性 RNA(ceRNA)通过与 miR-342-5p 结合上调胎盘生长因子(PGF)表达进而促进结直肠癌转移;此外,外周血 circALG1 其诊断结直肠癌的 AUC 为 0.800,明显高于结直肠癌组织样本(AUC=0.676),提示 circALG1 具有潜在的结直肠癌诊断价值。ZHANG 等<sup>[21]</sup>的研究显示, circZNF609 在结直肠癌组织、细胞及血清样本中均呈低表达,其可通过上调 P53 表达水平诱导结直肠癌细

胞凋亡并抑制细胞增殖;ROC 曲线分析表明,血清 circZNF609 的表达水平其诊断结直肠癌的 AUC 为 0.767,灵敏度和特异度分别为 65.20%和 80.40%。血浆外泌体中的 circGAPVD1<sup>[22]</sup>对结直肠癌具有潜在的诊断价值。circGAPVD1 诊断结直肠癌的灵敏度为 75.64%,特异度为 71.79%(AUC=0.766 2)。此外,发生淋巴结转移和 TNM 分期与 circGAPVD1 高表达呈正相关。

表 1 消化道肿瘤相关 circRNA 诊断效能

| 基因名                                        | 癌种   | AUC    | 灵敏度(%) | 特异度(%) | 文献   |
|--------------------------------------------|------|--------|--------|--------|------|
| circ_0000375                               | 结直肠癌 | 0.976  | —      | —      | [18] |
| circ_0011536                               | 结直肠癌 | 0.982  | —      | —      | [18] |
| circ_0004771                               | 结直肠癌 | 0.860  | 81.40  | 80.00  | [19] |
| circALG1                                   | 结直肠癌 | 0.800  | —      | —      | [20] |
| circZNF609                                 | 结直肠癌 | 0.767  | 65.20  | 65.20  | [21] |
| circGAPVD1                                 | 结直肠癌 | 0.7662 | 75.64  | 75.64  | [22] |
| circSLC39A5                                | 肝癌   | 0.915  | —      | —      | [23] |
| circ_0006602                               | 肝癌   | 0.907  | —      | —      | [24] |
| circ_0006602+AFP                           | 肝癌   | 0.942  | —      | —      | [24] |
| circ_0005397                               | 肝癌   | 0.737  | 82.00  | 58.80  | [25] |
| circ_0000976                               | 肝癌   | 0.863  | —      | —      | [26] |
| circ_0007750                               | 肝癌   | 0.747  | —      | —      | [26] |
| circ_0139897                               | 肝癌   | 0.769  | —      | —      | [26] |
| circ_0000976+circ_0007750+circ_0139897+AFP | 肝癌   | 0.907  | —      | —      | [26] |
| circSMARCA5+AFP                            | 肝癌   | 0.858  | —      | —      | [27] |
| hsa_circ_0003998                           | 肝癌   | 0.894  | 84.00  | 84.00  | [28] |
| hsa_circ_0003998                           | 肝癌   | 0.892  | 80.00  | 84.00  | [28] |
| hsa_circ_0003998+AFP                       | 肝癌   | 0.947  | 88.00  | 92.00  | [28] |
| circ_0000702                               | 胃癌   | 0.745  | —      | —      | [29] |
| circ_0000702+CEA+CA199                     | 胃癌   | 0.781  | —      | —      | [29] |
| circ_0015286                               | 胃癌   | 0.778  | —      | —      | [30] |
| circ_0015286+CEA+CA199                     | 胃癌   | 0.843  | —      | —      | [30] |
| circ_0007507                               | 胃癌   | 0.832  | —      | —      | [31] |
| circ_0007507+CEA+CA199                     | 胃癌   | 0.849  | —      | —      | [31] |
| circ_0004771                               | 胃癌   | 0.831  | —      | —      | [32] |
| circ_0004771+CEA+CA199                     | 胃癌   | 0.864  | —      | —      | [32] |
| circ_0065149                               | 胃癌   | 0.640  | 48.70  | 90.20  | [33] |
| hsa_circ_0001649                           | 胃癌   | 0.834  | 71.10  | 81.60  | [34] |
| circ_001569                                | 胰腺癌  | 0.716  | 62.76  | 74.29  | [35] |
| circ-LDLRAD3                               | 胰腺癌  | 0.670  | 57.40  | 70.50  | [36] |
| circ-LDLRAD3+CA199                         | 胰腺癌  | 0.870  | 80.30  | 93.60  | [36] |
| hsa_circ_0013587                           | 胰腺癌  | 0.802  | 75.80  | 75.80  | [37] |
| circGSK3β                                  | 食管癌  | 0.782  | —      | —      | [16] |
| circGSK3β+CEA                              | 食管癌  | 0.800  | —      | —      | [16] |
| circ-BMI1                                  | 食管癌  | 0.726  | 96.40  | 46.90  | [39] |
| circRNAs                                   | 食管癌  | 0.860  | 78.00  | 79.00  | [40] |

注:—表示无数据。

2.2 肝癌相关的 circRNAs 研究报道, circS-LC39A5 在肝癌组织和血浆均表达下调;其可与转录因子 STAT1 结合提高 STAT1 蛋白的稳定性,上调

STAT1 表达水平,后者可通过结合 TDG 基因启动子促进 TDG 转录,进而下调增殖细胞核抗原 PCNA 表达并抑制肝癌细胞增殖;此外,其在反复冻融以及不

同温度条件下仍能在血浆中保持稳定;ROC 曲线分析表明,血浆 circSLC39A5 诊断肝癌的 AUC 为 0.915,具有较高的诊断价值<sup>[23]</sup>。SEN 等<sup>[24]</sup>发现,与健康对照组相比,肝癌患者血浆外泌体的 circ\_0006602 表达水平显著增高;其诊断肝癌的 AUC 为 0.907,显著高于甲胎蛋白(AFP)和 CEA(AUC 为 0.694 和 0.589);circ\_0006602 与 AFP 联合检测可将其 AUC 值提高至 0.942,表明两者联合检测可有效提高肝癌诊断的准确性。与肝脏良性病变和健康对照者相比,血浆 circ\_0005397 在肝癌患者中表达显著上调,表达水平与肿瘤最大径和 TNM 分期呈正相关;此外,血浆 circ\_0005397 其诊断肝癌的 AUC 为 0.737,灵敏度和特异度分别为 82.00%和 58.80%;而血浆 circ\_0005397 与血清 AFP 和 AFP-L3 联合检测时,其灵敏度为 93.30%,联合检测能较好地提高灵敏度与特异度,提高诊断肝癌的能力<sup>[25]</sup>。YU 等<sup>[26]</sup>应用 qPCR 技术从 1 195 份血浆样本以及 40 个肝癌组织样本中筛选出 3 个与肝癌相关的 circRNA,包括 circ\_0000976、circ\_0007750 和 circ\_0139897,血浆中其诊断肝癌的 AUC 分别为 0.863、0.747 和 0.769;3 者与 AFP 联合检测则可将其 AUC 提高到 0.907。circSMARCA5 在肝癌组织中的表达水平明显下调,过表达 circSMARCA5 可抑制增殖、促进凋亡和抑制侵袭;血浆中 circSMARCA5 与 AFP 联合诊断肝硬化肝癌的 AUC 为 0.858<sup>[27]</sup>。hsa\_circ\_0003998 在肝癌组织和细胞系中上调,术后患者血浆 hsa\_circ\_0003998 水平明显低于术前患者;AUC 区分肝癌与邻近非癌组织为 0.894 (95%CI: 0.860~0.922,  $P < 0.001$ ),灵敏度为 0.84%,特异度为 0.80%。与乙型肝炎患者和健康对照者相比,hsa\_circ\_0003998 的 AUC 值分别为 0.833 (灵敏度和特异度分别为 83.00%和 70.00%)和 0.892 (灵敏度和特异度分别为 80.00%和 84.00%);hsa\_circ\_0003998 联合 AFP 的 AUC 值为 0.947,灵敏度和特异度分别为 88.00%和 92.00%,以上结果表明 hsa\_circ\_0003998 可用作肝癌患者诊断和预后的新型潜在生物标志物<sup>[28]</sup>。

**2.3 胃癌相关的 circRNAs** circ\_0000702 在胃癌多种样本组织中表达下调,血清 circ\_0000702 的表达水平与肿瘤分化程度和 TNM 分期呈负相关;ROC 曲线分析表明,血清 circ\_0000702 表达水平诊断胃癌的 AUC 为 0.745,高于 CEA(AUC=0.713)和 CA199(AUC=0.508);3 者联合应用则其 AUC 可达 0.781,高于 circ\_0000702 联合 CEA(AUC=0.772)以及 circ\_0000702 联合 CA199(AUC=0.765)检测的 AUC,提示 circ\_0000702、CEA 和 CA199 联合检测可有效提高胃癌的诊断效能<sup>[29]</sup>。外泌体 circ\_0015286 在胃癌多种样本如细胞系、组织及血浆中显著高表达,此外其在血浆中的表达水平与肿瘤分期、肿瘤最大径及有否淋巴结转移呈正相关,其表达水平越高,

患者生存期越短,胃癌切除术后则其表达水平明显下降;ROC 曲线分析结果显示,血浆外泌体 circ\_0015286 诊断胃癌的 AUC 是 0.778、CEA 和 CA199 诊断的 AUC 分别为 0.673 和 0.665,3 项指标联合检测 AUC 提至 0.843;提示 circ\_0015286 可能成为胃癌诊断和预后评估的潜在标志物<sup>[30]</sup>。与健康对照者相比,circ\_0007507 在胃癌患者血清中表达水平上调,在结直肠癌、甲状腺癌和乳腺癌患者血清中其表达差异无统计学意义;此外,胃癌患者术后其血清 circ\_0007507 表达水平显著降低,而术后复发的患者血清 circ\_0007507 表达水平再次显著上调;ROC 曲线分析表明,circ\_0007507 诊断胃癌的 AUC 为 0.832,其诊断效能高于 CEA(AUC=0.765)和 CA199(AUC=0.587),三者联合检测则其 AUC 值可提高至 0.849;表明 circ\_0007507 可作为胃癌诊断的一种潜在生物标志物<sup>[31]</sup>。circ\_0004771 在胃癌组织、细胞和血浆中均呈高表达,在 GC 血浆中其表达水平和肿瘤 TNM 分期以及淋巴结转移呈正相关,与肿瘤分化程度呈负相关;circ\_0004771 的表达水平在胃癌切除术后的患者血浆中明显下降,而术后复发的患者其血浆 circ\_0004771 表达水平则再度上升;ROC 曲线分析结果显示,circ\_0004771 诊断胃癌的 AUC(AUC=0.831)高于 CEA(AUC=0.747)和 CA199(AUC=0.508),3 项指标联合检测则其 AUC 可提高到 0.864;此外,circ\_0004771 在胃癌与胃炎鉴别诊断中也具有一定的应用价值<sup>[32]</sup>。circ\_0065149 在胃癌组织和血浆外泌体中表达下调,并与胃癌患者预后呈正相关;血浆外泌体的 circ\_0065149 其诊断早期胃癌的 AUC 为 0.640,灵敏度和特异度分别为 48.70%和 90.20%;提示 circ\_0065149 在胃癌早期筛查中也具有潜在的临床应用价值<sup>[33]</sup>。同样地,LI 等<sup>[34]</sup>发现,胃癌组织中 hsa\_circ\_0001649 表达水平低于癌旁组织,且术后患者血清 hsa\_circ\_0001649 表达上调。由此推断 hsa\_circ\_0001649 是潜在胃癌早期检测标志物。AUC 为 0.834,灵敏度为 0.71%,特异度为 0.82%,提示了 hsa\_circ\_0001649 可作为新的胃癌诊断生物标志物,具有较高的准确性、特异度和灵敏度。

**2.4 其他消化道肿瘤相关的 circRNAs** circ\_001569 在胰腺癌组织、细胞和血浆中表达上调;其表达水平与淋巴转移、临床分期和静脉浸润呈正相关,与患者预后呈负相关;下调 circ\_001569 表达可抑制胰腺癌细胞增殖、迁移和侵袭并诱导细胞凋亡;单变量和多变量 Cox 回归分析表明,circ\_001569 能作为一项独立危险因子影响胰腺癌患者的预后;ROC 曲线分析表明,血浆 circ\_001569 诊断胰腺癌的 AUC 为 0.716,灵敏度和特异度分别为 62.76%和 74.29%,提示 circ\_001569 可能成为胰腺癌诊断和预后评估的一种潜在的生物标志物<sup>[35]</sup>。circ-LDLRAD3 在胰腺癌多种样本如细胞、组织和血浆中表达水平上调,其

表达水平与脉管侵犯、淋巴转移呈正相关;此外, circ-LDLRAD3 诊断胰腺癌的 AUC 为 0.670, 灵敏度和特异度分别为 57.40% 和 70.50%; 而 circ-LDLRAD3 与 CA199 联合检测则将其 AUC 提高至 0.870, 灵敏度和特异度也可分别增加至 80.30% 和 93.60%; 表明 circ-LDLRAD3 具有作为胰腺癌诊断标志物的潜在价值<sup>[36]</sup>。hsa\_circ\_0013587 在胰腺癌组织、细胞和血浆中表达水平上调; 与健康对照组相比, 胰腺癌患者血浆样本中 hsa\_circ\_0013587 表达水平显著上调, 相对应 AUC 值为 0.802, 灵敏度和特异度分别为 75.80% 和 75.80%; hsa\_circ\_0013587 在 III~IV 期晚期患者中的 AUC 为 0.70, 灵敏度和特异度分别为 77.10% 和 59.30%, 提示 hsa\_circ\_0013587 可作为新型诊断标志物检测早期胰腺癌<sup>[37]</sup>。

食管癌是全球第八大常见癌症, 食管鳞状细胞癌 (ESCC) 起源于食道内壁的扁平细胞, 占食管癌 90% 以上<sup>[38]</sup>。发病机制尚未明确, 新的无创性诊断标志物有待进一步探索开发。

CircGSK3 $\beta$  在 ESCC 组织和血浆样本中明显呈高表达, 并与患者预后呈负相关; 下调 circGSK3 $\beta$  表达水平可抑制 ESCC 细胞迁移、侵袭和裸鼠移植瘤生长; 进一步的机制研究表明, circGSK3 $\beta$  可通过与 GSK3 $\beta$  直接相互作用抑制 GSK3 $\beta$  活性进而促进 ESCC 细胞转移; 此外, ESCC 患者手术后其血浆 circGSK3 $\beta$  表达水平明显下降, 而复发和转移的患者其血浆 circGSK3 $\beta$  表达水平则再度上升; ROC 曲线分析结果显示, 血浆 circGSK3 $\beta$  诊断 ESCC 的 AUC 分别为 0.782, 其诊断效能高于 CEA (AUC=0.615), 两者联合可将其 AUC 提高至 0.800; 提示 circGSK3 $\beta$  可能是一种新的 ESCC 诊断和预后标志物<sup>[16]</sup>。通过比较 10 例食管癌组织及其癌旁组织、49 例食管癌和 28 例健康对照血清样本的 circ-BMI1 表达水平, ZHAO 等<sup>[39]</sup>发现 circ-BMI1 在食管癌组织和血清样本中表达水平下调; 上调 circ-BMI1 表达水平可抑制食管癌细胞增殖、克隆形成、迁移和裸鼠移植瘤生长, 其对食管癌细胞在 5-氟尿嘧啶和顺铂化疗治疗方面的灵敏度有提高作用; ROC 曲线分析表明, 血清 circ-BMI1 诊断食管癌的 AUC 为 0.726, 灵敏度和特异度分别为 96.40% 和 46.90%。Meta 分析结果显示, circRNA 的异常表达与食管鳞癌患者的 TNM 分期、淋巴结和远处转移有关。使用 circRNA 区分 ESCC 患者和健康对照者, ESCC 合并灵敏度、特异度和 AUC 分别为 0.78、0.79 和 0.86<sup>[40]</sup>。

### 3 总结与展望

circRNA 结构特殊, 不易被核酸酶降解, 在血液循环中稳定存在, 广泛参与消化道肿瘤各项进程。目前科研所用检测样本主要是组织与细胞。外周血标志物性质独特, 来源简易、近乎无创、同样具备高灵敏度及高特异度, 为疾病诊断、病程监测、靶点治疗及预

后等领域提供全新的视角和工具。近年来研究证实, 在消化道肿瘤诊断和早期筛查中, 外周血 circRNA 具有十分重要的临床应用价值, 研究前景深远, 但目前针对消化道肿瘤 circRNA 标志物的研究仍处在初级阶段, 所发现的 circRNA 标志物数量相对较少, 并且在内参照基因选择与针对不同样本的处理流程等方面缺乏统一标准, 尚不能在临床上直接推广应用。此外, 考虑到单个 circRNA 标志物在临床诊断方面大多存在局限性, 多个 circRNA 联合以及传统的肿瘤标志物联合诊断可能是一种新的发展趋势。随着科研技术创新进步, 将会在更多的样本领域有更多的新型指标被发现并应用于辅助临床诊断, 以期早日攻克越来越多包括肿瘤在内的其他相关疾病的诊疗。

### 参考文献

- [1] 陈佳权, 陈典, 方喜平. 环状 RNA circ100290 在结直肠癌中的表达及其临床意义[J]. 蚌埠医学院学报, 2019, 44(10): 1310-1313.
- [2] 王宏方, 耿丹丹, 张润姣, 等. 环状 RNA 在阿尔茨海默病中的作用及研究进展[J]. 解剖学报, 2023, 54(4): 490-494.
- [3] MEMCZAK S, JENS M, ELEFSINIOTI A, et al. Circular RNAs are a large class of animal RNAs with regulatory potency[J]. Nature, 2013, 495: 333-338.
- [4] CONLON E G, MANLEY J L. RNA-binding proteins in neurodegeneration: mechanisms in aggregate[J]. Genes Dev, 2017, 31(15): 1509-1528.
- [5] LEGNINI I, DI TIMOTEO G, ROSSI F, et al. Circ-ZNF609 is a circular RNA that can be translated and functions in myogenesis[J]. Mol Cell, 2017; 66.
- [6] 谢依, 李田文, 莫小燕, 等. 环状 RNA 的生物学功能及其在肿瘤发生中的作用[J]. 生物工程学报, 2016, 32(11): 1507-1518.
- [7] XU B, JIA W, FENG Y, et al. Exosome-transported circHDAC1\_004 promotes proliferation, migration, and angiogenesis of hepatocellular carcinoma by the miR-361-3p/NACC1 axis[J]. J Clin Transl Hepatol, 2023, 11(5): 1079-1093.
- [8] JECK W R, SHARPLESS N E. Detecting and characterizing circular RNAs[J]. Nat Biotechnol, 2014, 32(5): 453-461.
- [9] GUPTA N, AUGUSTINE S, NARAYAN T, et al. Point-of-care PCR assays for COVID-19 detection[J]. Biosensors (Basel), 2021, 11(5): 141.
- [10] 秦品珠, 唐荣, 干方群. 长寿命荧光技术的研究进展及在环境监测领域中的应用[J]. 中国科技信息, 2013, 6(11): 33.
- [11] CHEN L L. The biogenesis and emerging roles of circular RNAs[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2016, 17(4): 205-211.
- [12] STARZA I D, NOVI L A D, ELIA L, et al. Optimizing molecular minimal residual disease analysis in adult acute lymphoblastic leukemia[J]. Cancers (Basel), 2023, 15

(2);374.

[13] SCHNEIDER T, SCHREINER S, PREUßER C, et al. Northern blot analysis of circular RNAs[J]. *Methods Mol Biol*, 2018, 1724: 119-133.

[14] KRISTENSEN L S. Profiling of circRNAs using an enzyme-free digital counting method[J]. *Methods*, 2021, 196: 11-16.

[15] JECK W R, SORRENTINO J A, WANG K, et al. Circular RNAs are abundant, conserved, and associated with ALU repeats[J]. *RNA*, 2013, 19(2): 141-157.

[16] HU X T, WU D G, HE X T, et al. circGSK3 $\beta$  promotes metastasis in esophageal squamous cell carcinoma by augmenting  $\beta$ -catenin signaling[J]. *Mol cancer*, 2019, 18(1): 160.

[17] AHMAD R, SINGH J K, WUNNAVA A, et al. Emerging trends in colorectal cancer: dysregulated signaling pathways (Review)[J]. *Int J Mol Med*, 2021, 47(3): 14.

[18] YIN T F, DU S Y, ZHAO D Y, et al. Identification of circ\_0000375 and circ\_0011536 as novel diagnostic biomarkers of colorectal cancer[J]. *World J Clin Cases*, 2022, 10(11): 3352-3368.

[19] PAN B, QIN J, LIU X X, et al. Identification of serum exosomal hsa-circ-0004771 as a novel diagnostic biomarker of colorectal cancer[J]. *Front Genet*, 2019, 1(10): 109.

[20] LIN C, MA M, ZHANG Y, et al. Correction to: the N6-methyladenosine modification of circALG1 promotes the metastasis of colorectal cancer mediated by the miR-342-5p/PGF signalling pathway[J]. *Mol Cancer*, 2022, 21(1): 101.

[21] ZHANG X, ZHAO Y, KONG P, et al. Expression of circ-ZNF609 is down-regulated in colorectal cancer tissue and promotes apoptosis in colorectal cancer cells by upregulating p53[J]. *Med Sci Monit*, 2019, 11(25): 5977-5985.

[22] LI T, ZHOU T, WU J, et al. Plasma exosome-derived circGAPVD1 as a potential diagnostic marker for colorectal cancer[J]. *Transl Oncol*, 2023, 31: 101652.

[23] LIU M, LAI M, LI D, et al. Nucleus-localized circSLC39A5 suppresses hepatocellular carcinoma development by binding to STAT1 to regulate TDG transcription[J]. *Cancer Sci*, 2023, 114(10): 3884-3899.

[24] GUO S, HU C, ZHAI X, et al. Circular RNA 0006602 in plasma exosomes: a new potential diagnostic biomarker for hepatocellular carcinoma[J]. *Am J Transl Res*, 2021, 13(6): 6001-6015.

[25] LIU R, LI Y, WU A, et al. Identification of plasma hsa\_circ\_0005397 and combined with serum AFP, AFP-L3 as potential biomarkers for hepatocellular carcinoma citation [J]. *Front Pharmacol*, 2021: 639963.

[26] YU J, DING W B, WANG M C, et al. Plasma circular RNA panel to diagnose hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma: a large-scale, multicenter study[J]. *Int J Cancer*, 146(6): 1754-1763.

[27] LI Z, ZHOU Y, YANG G, et al. Using circular RNA SMARCA5 as a potential novel biomarker for hepatocellular carcinoma[J]. *Clin Chim Acta*, 2019, 492: 37-44.

[28] QIAO G L, CHEN L, JIANG W H, et al. Hsa\_circ\_0003998 may be used as a new biomarker for the diagnosis and prognosis of hepatocellular carcinoma[J]. *Oncotargets and Ther*, 2019, 12: 5849-5860.

[29] YUAN W, FANG R, MAO C, et al. Serum circular RNA hsa\_circ\_0000702 as a novel biomarker for diagnosis of gastric cancer[J]. *J Clin Lab Anal*, 2023, 37(3): e24842.

[30] ZHENG P, GAO H, XIE X, et al. Plasma exosomal hsa\_circ\_0015286 as a potential diagnostic and prognostic biomarker for gastric cancer[J]. *Pathol Oncol Res*, 2022, 28: 1610446.

[31] ZHANG W, ZHENG M, KONG S, et al. Circular RNA hsa\_circ\_0007507 may serve as a biomarker for the diagnosis and prognosis of gastric cancer[J]. *Front Oncol*, 2021, 14(11): 699625.

[32] XU Y, KONG S, QIN X, et al. Comprehensive assessment of plasma Circ\_0004771 as a novel diagnostic and dynamic monitoring biomarker in gastric cancer[J]. *Oncotargets Ther*, 2020, 8(13): 10063-10074.

[33] SHAO Y, TAO X, LU R, et al. Hsa\_circ\_0065149 is an indicator for early gastric cancerscreening and prognosis prediction [J]. *Pathol Oncol Res*, 2020, 26(3): 1475-1482.

[34] LI W H, SONG Y C, ZHANG H, et al. Decreased expression of Hsa\_circ\_00001649 in gastric cancer and its clinical significance[J]. *Dis Markers*, 2017, 2017: 4587698.

[35] SHEN X, CHEN Y, LI J, et al. Identification of Circ\_001569 as a potential biomarker in the diagnosis and prognosis of pancreatic cancer[J]. *Technol Cancer Res Treat*, 2021, 20(3): 153303382098330.

[36] FAN Y, DONG Y L, JIN T G, et al. Circular RNA circLDLRAD3 as a biomarker in diagnosis of pancreatic cancer[J]. *World J Gastroenterol*, 2017, 23(47): 8263-8438.

[37] XU K, QIU Z, XU L, et al. Increased levels of circulating circular RNA (hsa\_circ\_0013587) may serve as a novel biomarker for pancreatic cancer[J]. *Biomark Med*, 2021, 15(12): 977-985.

[38] ABNET C C, ARNOLD M, WEI W Q. Epidemiology of esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Gastroenterology*, 2018, 154(2): 360-373.

[39] ZHAO Q, ZHU X, KE J M, et al. Circular RNA BMI1 serves as a potential target for diagnosis and treatment in esophageal cancer[J]. *Technol Cancer Res Treat*, 2021, 20(2): 87-108.

[40] GUO C, MI J, LI H, et al. Dysregulated circular RNAs as novel biomarkers in esophageal squamous cell carcinoma: a meta-analysis [J]. *Cancer Med*, 2021, 10(22): 7895-7908.