

circRNA 与疾病研究进展

朱晓华¹, 李冬^{1, 2}, 李友平¹, 谭周亮³, 陈茂霞³, 权秋梅¹

摘要:

环状 RNA (circular RNA, circRNA) 不同于传统的线性 RNA, 是一类共价闭合环状的非编码 RNA, 广泛存在于生物体中, 具有稳定、广泛的组织特异性表达。其特殊的分子结构使其具有充当 miRNA“海绵”、调节转录或剪接、与 RNA 结合蛋白相互作用等功能, 还可作为疾病诊断的生物标志。本文从 circRNA 的形成、分类、功能及其与疾病、与环境 and 表观遗传学的关系等方面进行综述, 可为 circRNA 在疾病研究、诊断和治疗中的应用提供参考。

关键词: circRNA; 生物学功能; 表观遗传; 疾病

引用: 朱晓华, 李冬, 李友平, 等. circRNA 与疾病研究进展 [J]. 环境与职业医学, 2017, 34 (10): 938-942. DOI: 10.13213/j.cnki.jeom.2017.17415

Research progress on circRNA and diseases ZHU Xiao-hua¹, LI Dong^{1, 2}, LI You-ping¹, TAN Zhou-liang³, CHEN Mao-xia³, QUAN Qiu-mei¹ (1.College of Environmental Science and Engineering, China West Normal University, Nanchong, Sichuan 637009, China; 2.College of Life Science, Sichuan Agricultural University, Ya'an, Sichuan 625014, China; 3.Chengdu Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences, Chengdu, Sichuan 610041, China). Address correspondence to ZHU Xiao-hua, E-mail: 506578796@qq.com · The authors declare they have no actual or potential competing financial interests.

Abstract:

Circular RNA (circRNA), unlike traditional linear RNA, is a type of covalently closed circular non-coding RNA, which widely exists in organisms and often exhibits high stability, abundance, and tissue-specific expression. Its special molecular structure allows it acting as miRNA sponges, regulating transcription or splicing, and interacting with RNA binding proteins. circRNA can be used as a biomarker for the purpose of disease diagnosis. This article reviewed the formation, classification, and function of circRNA, its relationship with diseases, and the potential effects of environment and epigenetics, aiming to provide new ideas for circRNA applied in disease study, diagnosis, and treatment.

Keywords: circRNA; biological function; epigenetic; disease

Citation: ZHU Xiao-hua, LI Dong, LI You-ping, et al. Research progress on circRNA and diseases[J]. Journal of Environmental and Occupational Medicine, 2017, 34(10): 938-942. DOI: 10.13213/j.cnki.jeom.2017.17415

1976 年, Sanger 等^[1] 证明一些植物类病毒是单链共价闭合 RNA 分子, 并宣告环状 RNA (circular RNA, circRNA) 的存在。其后几十年里, 随着高通量测序技术的发展, circRNA 在不同的生物中被发现,

包括古细菌^[2-3]、植物^[4]、斑马鱼^[5]、小鼠^[6] 和人^[7] 等, circRNA 不再被认为是错误剪接的产物^[8]。目前认为, circRNA 是一类非编码 RNA, 参与转录和转录后基因的表达调控^[9]。最近的研究显示, circRNA 在特定类型的细胞或特异性组织中具有稳定、广泛的表达^[8]; 还有证据表明, 某些 circRNA 具有重要的生物功能, 可作为疾病诊断的生物标志^[10]。但是, circRNA 的很多功能仍然未知, 因此具有广阔的研究前景。本文围绕 circRNA 的形成、分类、功能及其与疾病、与环境 and 表观遗传学的关系进行综述, 将为 circRNA 在疾病研究、诊断和治疗中的应用提供理论基础。

· 作者声明本文无实际或潜在的利益冲突。

【基金项目】 四川省科技厅项目 (编号: 2015JY0094); 四川省科技厅项目 (编号: 2017KZ0041)

【作者简介】 朱晓华 (1989—), 男, 硕士, 助教; 研究方向: 环境与人体健康、环境污染与防治; E-mail: 506578796@qq.com

【通信作者】 朱晓华, E-mail: 506578796@qq.com

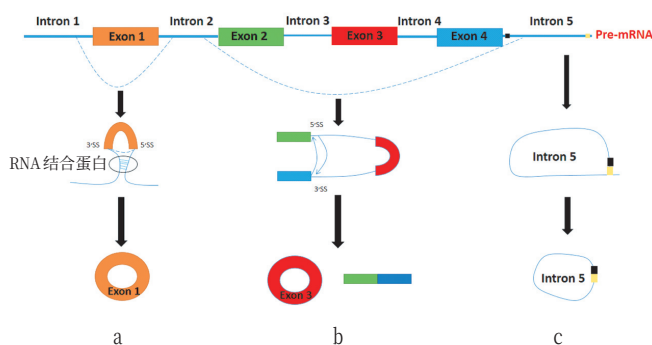
【作者单位】 1. 西华师范大学环境科学与工程学院, 四川 南充 637009; 2. 四川农业大学生命科学学院, 四川 雅安 625014; 3. 中科院成都生物研究所, 四川 成都 610041

1 circRNA 的形成

circRNA 产生方式包括外显子环化和内含子环化。

Jeck 等^[11] 提出外显子环化的两种方式。一种是直接反向剪接, 这种形成方式主要是 5' 内含子的一个分支点结合 3' 内含子的剪接供体, 接着 3' 剪接供体通过结合 5' 剪接受体完成反向剪接, 形成 circRNA (图 1a); 另一种是外显子跳读, 这种方式主要是一个外显子跳读导致形成了包含一个外显子的套索, 然后套索自身剪接, 通过移除内含子序列产生 circRNA (图 1b)。

此外, Zhang 等^[12] 发现内含子环化也可形成 circRNA, 即 5' 剪接位点 7 个富含 GU 的核苷酸序列和 3' 分支位点 11 个富含 C 的核苷酸序列保护 circRNA 内含子套索不被脱分支酶作用, 从而形成 circRNA (图 1c)。



[注] a. 直接反向剪接; b. 外显子跳读; c. 内含子自身环化。

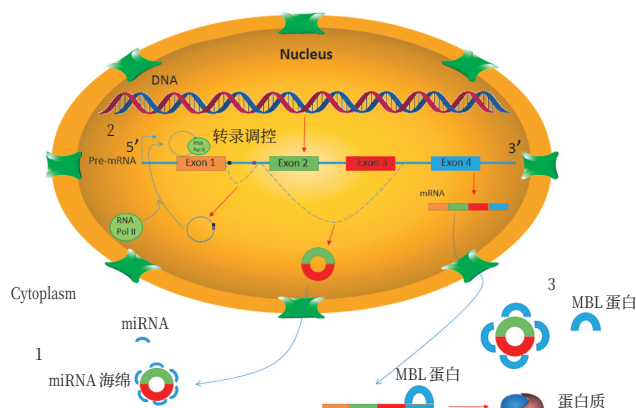
图 1 circRNA 形成的三种方式^[11, 13]

2 circRNA 的分类

理论上, circRNA 可以产生于基因组的任何区域。大部分 circRNA 产生于外显子编码区, 称为外显子环状 RNA; 一些 circRNA 来源于 5' 或 3' 端的非翻译区; 一些 circRNA 来源于非编码 RNA; 还有一些 circRNA 来源于内含子并且通常从前体 mRNA 中被剪接, 称为内含子环状 RNA^[8]; 另一类 circRNA 的存在, 包含外显子和内含子, 称为外显子内含子环状 RNA^[13]。

3 circRNA 的功能

最新研究显示, circRNA 具有稳定并且广泛的表达, 在特定类型的细胞或组织中有特异性表达。circRNA 主要有 3 个功能, 包括: 充当 miRNA“海绵” (circRNA 通过吸附 miRNA 来抑制其功能)、调节转录或剪接、与 RNA 结合蛋白相互作用^[8, 14] (图 2)。目前对 circRNA 的功能研究还不完全, 但其功能正在逐渐被人们发掘。



[注] 1. 充当 miRNA“海绵”; 2. 调节转录; 3. 与 RNA 结合蛋白相互作用。

图 2 circRNA 三个主要功能^[8, 14]

3.1 充当 miRNA“海绵”

ciRS-7/CDR1as (小脑变性相关蛋白 1 反义转录物) 是一种 circRNA, 至少包含 70 个 miRNA-7 结合位点, 通过吸附 miR-7 来发挥其“海绵”作用, 从而降低 miR-7 的活性^[15]。Hansen 等^[15] 研究发现, 产生于 Y 染色体上性别决定区 (*Sry*)⁹ 的睾丸特异性 circRNA, 能充当 miR-138“海绵”, 负调控 miR-138 的表达。

3.2 调节转录和剪接

circRNA 能调节转录调控原件。来源于锚蛋白结构域 52 (ankyrin repeat domain 52, ANKRD52) 的 circRNA Ci-ankrd52, 大量积累到其转录位点, 能特异性地结合参与其母基因 *ankrd52* 转录的 RNA pol II, 调节母基因的转录效率^[12]。Qu 等^[8] 认为, circRNA 能影响剪接, circRNA 的形成与可变剪接呈负相关, 可能导致基因表达的改变。

3.3 与 RNA 结合蛋白相互作用

Ashwal-Fluss 等^[16] 发现剪接因子 MBL/MBNL1 的第二个外显子在果蝇和人类中是 circRNA。这种 circRNA (circMbl) 和其侧翼内含子包含保守的 MBL 蛋白结合位点, 这些位点能与 MBL 特异性结合, MBL 水平的改变会明显的影响 circMbl 的形成。Du 等^[17] 研究发现, 异常表达的 circ-Foxo3 会与细胞周期蛋白依赖性激酶 2 (CDK2) 和细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂 1 (p21) 结合形成三元配合物, 从而抑制细胞周期进程。

4 circRNA 与疾病

已有研究证明, circRNA 与阿尔兹海默症、动脉粥样硬化和心肌梗大等心血管疾病、糖尿病以及肿瘤等疾病密切相关^[7, 8, 18-20]。

4.1 circRNA与神经系统疾病

Rybak-Wolf等^[21]研究发现, circRNA大量存在于哺乳动物的脑组织中, 且高度保守。这说明circRNA可能与神经系统发育有密切的联系。Memczak等^[22]研究发现, circRNA CDR1as的功能是和miR-7在神经组织中结合, 人类circRNA CDR1as在斑马鱼中表达会引起斑马鱼中脑发育受损, 类似于miR-7被敲除。Suman等^[23]认为, circRNA CDR1as可能还与帕金森病有关, 原因是miR-7在神经元中过表达会导致生成多巴胺的细胞损伤。Lukiw等^[24]研究认为, circRNA ciRS-7作为一种内源性、竞争性、反互补的miRNA“海绵”; 其“海绵”作用缺失会导致miR-7过表达, 从而导致阿尔茨海默病相关靶点泛素化蛋白连接酶低表达, 产生阿尔茨海默病。circRNA在神经系统方面的研究还有很多, 提示着其具有很多潜在的生物学功能。

4.2 circRNA与心血管疾病

心力衰竭是世界范围内死亡的首要原因之一, 而心肌肥大与心衰风险增加明显相关^[25]。Wang等^[25]用小鼠为研究模型, 证实了ARC作为miR-223下游靶基因, 能介导miR-223在心肌肥大中的作用, 其机制可能是利用心脏相关circRNA作为“海绵”内源性吸附miR-223, 降低其活性, 抑制心肌肥大和心力衰竭。动脉粥样硬化性血管病在全球范围内是人类死亡原因最高的疾病之一。Burd等^[7]通过分析人类全基因组单核苷酸多态性(SNPs)发现, 靠近*INK4/ARF*基因的染色体9p21.3与动脉粥样硬化性血管病易感性有关, circular ANRIL (cANRIL)可募集多梳基因家族来调节*INK4/ARF*表达, 其与*INK4/ARF*基因的转录以及动脉粥样硬化性血管病的风险有关。

4.3 circRNA与糖尿病

国际糖尿病联合会估计, 全球实际有近4.1亿的糖尿病患者, 其中46.5%还未被诊断患糖尿病, 寻找敏感和稳定的生物标志物来诊断糖尿病至关重要^[20]。Zhao等^[20]收集了6个健康个体及6个二型糖尿病个体外周血的circRNA, 微阵列热图分析显示: 糖尿病组的circRNA表达上调明显多于健康组, 其中hsa_circ_0054633的上调尤为明显。糖尿病还会引起心肌细胞生化、功能和形态学异常^[26]。Tang等^[26]研究发现, circRNA_000203在糖尿病小鼠心肌成纤维细胞中上调, 通过检测RNA结合蛋白与其靶RNA之间的相互作用及利用RT-qPCR分析得出: circRNA_000203是miR-26b-5p的特异性“海绵”; 能阻断其与Col1a2

和CTGF的3'非翻译区结合, 加强纤维化相关基因在心肌成纤维细胞中的表达, 从而引发心肌纤维化。由此可见, circRNA可作为一种生物标志来诊断糖尿病。

4.4 circRNA与肿瘤

circRNA在生物体中的广泛存在性和高度保守性, 提示其在肿瘤的发生过程中可能有重要作用。Bachmayr-Heyda等^[19]通过RT-qPCR分析了正常结肠黏膜与肿瘤组织中circRNA和线性RNA的增殖情况发现, 肿瘤组织中circRNA和线性RNA的比率总是低于正常组织, 并且这个比率在结肠癌细胞中更低。此外, 这个比率和增殖指数呈负相关, 暗示着circRNA在肿瘤的发生中起着关键作用。Shang等^[27]发现, hsa_circ_0005075的表达在肝癌组织和正常组织存在差异, 其表达和肿瘤大小有密切关系, 并且展示出良好的诊断潜力。Li等^[28]研究发现, hsa_circ_002059作为一种典型的环状RNA, 其在胃癌组织中的表达水平低于癌旁非肿瘤组织, 过低表达与胃癌转移、TNM分期、性别和年龄密切相关。circRNA有望作为一种新型的生物标志应用于肿瘤的诊断。

4.5 circRNA与其他疾病

Peng等^[29]研究先天性巨结肠病发现, 和正常的肠组织相比, 先天性巨结肠中cir-ZNF609表达明显下调, cir-ZNF609充当miR-150-5p的“海绵”来调节丝氨酸/苏氨酸激酶3(AKT3)。Li等^[30]分析认为, circRNA和系统性红斑狼疮存在一定的遗传关系, 可用于系统性红斑狼疮的诊断。

综上所述, circRNA过高或过低的表达, 都与机体稳态失衡以及疾病有关。在以后的研究中, circRNA将会越来越多地作为一种新型的生物标志用于疾病的诊断甚至治疗。

5 环境和表观遗传与circRNA的关系

表观遗传学与神经系统疾病^[31]、代谢性疾病^[32]、癌症^[33]等有密切联系。如与遗传性精神发育迟滞有关的脆性X智力障碍1基因(*FMRI*), 由于在5'包含一个CGG三个核苷酸重复序列的扩增和甲基化, 从而导致*FMRI*基因转录失活, 引起智力低下^[34]。

环境刺激(如饮食、感染、用药等)也会引起表观遗传变化, 从而增加人体患病概率^[34-35]。Zhang等^[36]的研究显示, 长期暴露在苯环境中会使miR-487a、miR-493-3p和miR-668表达上调, 从而引发白血病。

然而,表观遗传学也被证明能对基因表达进行调节,使生物更加适应环境^[34]。许多表观遗传效应的关键因素涉及DNA和RNA水平核酸序列同源性的识别,其中DNA和DNA、RNA和RNA之间的相互作用能触发基因沉默。这些依赖同源性识别导致的基因沉默事件,与基因组及细胞质防御系统保护细胞免受DNA和RNA病原体入侵密切相关^[34]。正如Wang等^[25]的研究显示,心脏相关circRNA作为一种内源性的miR-223“海绵”,可在细胞质中直接与miR-223绑定,并增强HRCR在心肌细胞的表达,导致ARC基因表达增加,进而抑制心肌肥大和心力衰竭。又如circRNA可以充当miRNA“海绵”,使miRNA维持正常表达水平,可能会对白血病的防治及治疗起到意想不到的作用。

由于环境及表观遗传与circRNA存在关系,因此,表观遗传控制的改变以及环境引起的疾病可通过研究circRNA来研究其病理机制,从而为治疗提供新的思路。

6 结论与展望

circRNA在进化上非常保守,且能在特异的细胞、组织和不同的发育阶段表达。目前研究表明,circRNA具有的生物学功能包括充当miRNA“海绵”、与RNA结合蛋白相互作用以及调节转录等,但其很多功能在很大程度上都还是未知的。在疾病研究方面,circRNA更多是被作为一种新型的生物标志来研究。此外,环境刺激引发的多种疾病可以通过研究circRNA来分析其病理机制,这可能会成为今后研究环境诱导与人类疾病关系的一种手段。关于circRNA与疾病的生理和病理的关系还不明确。但是可以相信,在不久的将来,circRNA的功能将会被人们认识的更完全,其与疾病的关系也将更加透彻。

参考文献

- [1] Sanger HL, Klotz G, Riesner D, et al. Viroids are single-stranded covalently closed circular RNA molecules existing as highly base-paired rod-like structures [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1976, 73 (11): 3852-3856.
- [2] Kjems J, Garrett RA. Novel splicing mechanism for the ribosomal RNA intron in the archaeobacterium *Desulfurococcus mobilis* [J]. Cell, 1988, 54 (5): 693-703.
- [3] Danan M, Schwartz S, Edelheit S, et al. Transcriptome-wide discovery of circular RNAs in Archaea [J]. Nucleic Acids Res, 2012, 40 (7): 3131-3142.
- [4] Sablok G, Zhao H, Sun X. Plant circular RNAs (circRNAs): transcriptional regulation beyond miRNAs in plants [J]. Mol Plant, 2016, 9 (2): 192-194.
- [5] Shen Y, Guo X, Wang W. Identification and characterization of circular RNAs in zebrafish [J]. FEBS Lett, 2017, 591 (1): 213-220.
- [6] Capel B, Swain A, Nicolis S, et al. Circular transcripts of the testis-determining gene Sry in adult mouse testis [J]. Cell, 1993, 73 (5): 1019-1030.
- [7] Burd CE, Jeck WR, Liu Y, et al. Expression of linear and novel circular forms of an *INK4/ARF*-associated non-coding RNA correlates with atherosclerosis risk [J]. PLoS Genet, 2010, 6 (12): e1001233.
- [8] Qu S, Yue Z, Shang R, et al. The emerging landscape of circular RNA in life processes [J]. RNA Biol, 2016: 1-8.
- [9] Kulcheski FR, Christoff AP, Margis R. Circular RNAs are miRNA sponges and can be used as a new class of biomarker [J]. J Biotechnol, 2016, 238: 42-51.
- [10] 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.
- [11] Jeck WR, Sharpless NE. Detecting and characterizing circular RNAs [J]. Nat Biotechnol, 2014, 32 (5): 453-461.
- [12] Zhang Y, Zhang XO, Chen T, et al. Circular intronic long noncoding RNAs [J]. Mol Cell, 2013, 51 (6): 792-806.
- [13] Panda AC, Grammatikakis I, Munk R, et al. Emerging roles and context of circular RNAs [J]. Wiley Interdiscip Rev RNA, 2016, 8 (2): e1386.
- [14] Liu J, Liu T, Wang X, et al. Circles reshaping the RNA world: from waste to treasure [J]. Mol Cancer, 2017, 16: 58.
- [15] Hansen TB, Jensen TI, Clausen BH, et al. Natural RNA circles function as efficient microRNA sponges [J]. Nature, 2013, 495 (7441): 384-388.
- [16] Ashwal-Fluss R, Meyer M, Pamudurti NR, et al. circRNA biogenesis competes with pre-mRNA splicing [J]. Mol Cell, 2014, 56 (1): 55-66.
- [17] 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.
- [18] Zhao Y, Alexandrov PN, Jaber V, et al. Deficiency in the ubiquitin conjugating enzyme UBE2A in Alzheimer's disease (AD) is linked to deficits in a natural circular miRNA-7 sponge (circRNA ; ciRS-7) [J]. *Genes*, 2016, 7 (12) : 116.
- [19] Bachmayrheyda A, Reiner AT, Auer K, et al. Correlation of circular RNA abundance with proliferation—exemplified with colorectal and ovarian cancer, idiopathic lung fibrosis, and normal human tissues [J]. *Sci Rep*, 2015, 5 : 8057.
- [20] Zhao Z, Li X, Jian D, et al. Hsa_circ_0054633 in peripheral blood can be used as a diagnostic biomarker of pre-diabetes and type 2 diabetes mellitus [J]. *Acta Diabetol*, 2017, 54 (3) : 237-245.
- [21] 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.
- [22] 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.
- [23] Ghosal S, Das S, Sen R, et al. Circ2Traits : a comprehensive database for circular RNA potentially associated with disease and traits [J]. *Front Genet*, 2013, 4 : 283.
- [24] Lukiw WJ. Circular RNA (circRNA) in Alzheimer's disease (AD) [J]. *Front Genet*, 2013, 4 : 307.
- [25] Wang K, Long B, Liu F, et al. A circular RNA protects the heart from pathological hypertrophy and heart failure by targeting miR-223 [J]. *Eur Heart J*, 2016, 37 (33) : 2602-2611.
- [26] Tang CM, Zhang M, Huang L, et al. CircRNA_000203 enhances the expression of fibrosis-associated genes by derepressing targets of miR-26b-5p, Col1a2 and CTGF, in cardiac fibroblasts [J]. *Sci Rep*, 2017, 7 : 40342.
- [27] Shang X, Li G, Liu H, et al. Comprehensive Circular RNA profiling reveals that hsa_circ_0005075, a new circular RNA biomarker, is involved in hepatocellular carcinoma development [J]. *Medicine*, 2016, 95 (22) : e3811.
- [28] Li J, Yang J, Zhou P, et al. Circular RNAs in cancer : novel insights into origins, properties, functions and implications [J]. *Am J Cancer Res*, 2015, 5 (2) : 472-480.
- [29] Peng L, Chen G, Zhu Z, et al. Circular RNA ZNF609 functions as a competitive endogenous RNA to regulate AKT3 expression by sponging miR-150-5p in Hirschsprung's disease [J]. *Oncotarget*, 2017, 8 (1) : 808-818.
- [30] Li LJ, Huang Q, Pan HF, et al. Circular RNAs and systemic lupus erythematosus [J]. *Exp Cell Res*, 2016, 346 (2) : 248-254.
- [31] Qureshi IA, Mehler MF. Understanding neurological disease mechanisms in the era of epigenetics [J]. *JAMA Neurol*, 2013, 70 (6) : 703-710.
- [32] Gluckman PD. Epigenetics and metabolism in 2011 : Epigenetics, the life-course and metabolic disease [J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2012, 8 (2) : 74-76.
- [33] Dawson MA, Kouzarides T. Cancer epigenetics : from mechanism to therapy [J]. *Cell*, 2012, 150 (1) : 12-27.
- [34] Wolffe AP, Matzke MA. Epigenetics : regulation through repression [J]. *Science*, 1999, 286 (5439) : 481-486.
- [35] Selmi C, Leung PS, Sherr DH, et al. Mechanisms of environmental influence on human autoimmunity : a National Institute of Environmental Health Sciences expert panel workshop [J]. *J Autoimmun*, 2012, 39 (4) : 272-284.
- [36] Zhang L, Mchale CM, Rothman N, et al. Systems biology of human benzene exposure [J]. *Chem Biol Interact*, 2010, 184 (1/2) : 86-93.

(收稿日期 : 2017-06-19 ; 录用日期 : 2017-09-28)

(英文编辑 : 汪源 ; 编辑 : 陶黎纳 ; 校对 : 汪源)