

## · 论著 ·

## 胃癌组织中环状 RNA 的差异表达谱分析

王艺霏<sup>1,2</sup> 敖翔<sup>2</sup> 王元勇<sup>3</sup> 丁丹<sup>1,2</sup> 卢通<sup>3</sup> 王建勋<sup>1,2</sup>

(1 青岛大学基础医学院, 山东 青岛 266071; 2 青岛大学转化医学研究院; 3 青岛大学附属医院胸外科)

**[摘要]** **目的** 探讨环状 RNA(circRNA)在胃癌组织及对应癌旁组织中表达谱的变化,分析两者之间的差异,筛选差异表达的 circRNA,鉴定并进行功能预测。**方法** 通过高通量 circRNA 芯片技术筛选胃癌病人癌组织及对应癌旁组织中 circRNA 表达谱的差异,经过对原始数据进行预处理、归一化后,筛选出差异表达的 circRNA,并使用实时定量 PCR(RT-qPCR)技术对其进行验证和生物信息学预测。**结果** 芯片检测结果显示,胃癌组织样本与其对应的癌旁组织样本之间存在 1 042 条差异表达的 circRNA,其中在肿瘤组织中高表达的有 475 条,低表达的有 567 条(变化 $\geq 2$  倍且  $P < 0.05$ )。对筛选所得的差异表达 circRNA 的亲本基因进行生物信息学分析,预测了其潜在的生物学功能。RT-qPCR 结果显示在上调最显著的 6 个 circRNA 中,只有 hsa\_circ\_0001666 在胃癌细胞系和组织中的表达与芯片结果一致。Arraystar 自主研发的 miRNA 靶标预测软件显示,hsa\_circ\_000166 可能通过结合 hsa-miR-450a-1-3p, hsa-miR-661, hsa-miR-493-5p, hsa-miR-208a-5p 和 hsa-miR-612 发挥其 miRNA“海绵”的功能。**结论** 胃癌组织与对应癌旁组织比较, circRNA 表达谱发生了显著变化,这些差异表达的 circRNA 可能与胃癌的发生发展密切相关。

**[关键词]** 胃肿瘤; RNA; 基因表达谱; 预测; 计算生物学

**[中图分类号]** R735.2; R446.7

**[文献标志码]** A

**DIFFERENTIAL EXPRESSION PROFILES OF CIRCULAR RNA IN GASTRIC CANCER TISSUE** WANG Yifei, AO Xiang, WANG Yuanyong, DING Dan, LU Tong, WANG Jianxun (School of Basic Medical Sciences, Qingdao University, Qingdao 266071, China)

**[ABSTRACT]** **Objective** To investigate the difference in expression profiles of circular RNA (circRNA) between gastric cancer tissue and adjacent tissue, and to screen out differentially expressed circRNAs for identification and function prediction. **Methods** The high-throughput circRNA microarray technique was used to investigate the difference in expression profiles of circRNAs between gastric cancer tissue and adjacent tissue. Differentially expressed circRNAs were screened out after data preprocessing and normalization, and RT-qPCR was used for validation and bioinformatic prediction. **Results** The results of microarray showed that there were 1 042 differentially expressed circRNAs between gastric cancer tissue samples and corresponding adjacent tissue samples, among which 475 were highly expressed in tumor tissue and 567 were lowly expressed in tumor tissue (fold change  $\geq 2$  and  $P < 0.05$ ). A bioinformatics analysis was performed for the parental genes of the differentially expressed circRNAs, and their potential biological functions were predicted. RT-qPCR showed that among the 6 significantly upregulated circRNAs, the expression of hsa\_circ\_0001666 in gastric cancer cell lines and tissue was consistent with the results of microarray. The self-developed miRNA target prediction software by Arraystar showed that hsa\_circ\_000166 exerted its miRNA “sponge” function by binding to hsa-miR-450a-1-3p, hsa-miR-661, hsa-miR-493-5p, hsa-miR-208a-5p, and hsa-miR-612. **Conclusion** There are significant differences in the expression profiles of circRNAs between gastric cancer tissue and adjacent tissue, and these differentially expressed circRNAs may be closely associated with the development and progression of gastric cancer.

**[KEY WORDS]** Stomach neoplasms; RNA; Gene expression profiling; Forecasting; Computational biology

胃癌是世界范围内最常见的恶性肿瘤,也是中国癌症死亡的主要原因之一,其死亡率居世界恶性肿瘤第 3 位<sup>[1]</sup>。胃癌发病的分子机制非常复杂,目前的研究仍不透彻。由于缺乏有效的诊断分子标志物,许多病人在胃癌的早期阶段不容易发现,被确诊时已为晚期,据统计晚期胃癌病人的 5 年生存率不足 30%<sup>[2]</sup>。环状 RNA(circRNA)是一类普遍存在

于真核细胞基因组中的具有调控作用的内源性非编码 RNA(ncRNA),最早在仙台病毒中被发现<sup>[3]</sup>。越来越多的研究表明,在肿瘤组织中 circRNA 功能发生异常,对肿瘤具有促进或抑制的作用,其表达还与临床分期显著相关。circRNA 可以通过不同的机制在肺癌<sup>[4-6]</sup>、结直肠癌<sup>[7-8]</sup>、胰腺癌<sup>[9-10]</sup>、肝癌<sup>[11-12]</sup>、乳腺癌<sup>[13-15]</sup>以及膀胱癌<sup>[16-17]</sup>等肿瘤中发挥重要的作用。例如,hsa\_circ\_0000096、circPVT1 和 circLARP4 等已经被证实能够影响胃癌的发生发展<sup>[18-20]</sup>,但关于胃癌中 circRNA 的研究仍然很少,

**[收稿日期]** 2018-12-19; **[修订日期]** 2019-02-10

**[基金项目]** 国家自然科学基金资助项目(81802822)

**[通讯作者]** 王建勋, Email: wangjx@qdu.edu.cn

对其进一步的研究可以为胃癌的诊断及治疗提供帮助。本研究应用 circRNA 芯片技术,对胃癌组织及其对应癌旁组织中差异表达的 circRNA 进行筛选鉴定和功能预测,为进一步研究 circRNA 在胃癌发生发展中的作用提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料来源

收集 2015 年于中国人民解放军陆军总医院手术的 1 例 66 岁男性胃腺癌病人的癌组织(T1)及癌旁组织(N1)标本。取标本后立即置于液氮中速冻,然后转移至-80℃冰箱中保存。病人已签署知情同意书,本研究通过了中国人民解放军陆军总医院伦理委员会的医学伦理要求审查。

1.2 样本总 RNA 的提取及质检

按照 Trizol 试剂盒(Invitrogen 公司)说明书的标准流程进行样本总 RNA 提取,将所提取的总 RNA 用 NanoDrop ND-1000 型分光光度仪进行质量检测,测定样品在 260 及 280 nm 波长处的吸光度(A)值。

1.3 circRNA 芯片检测

根据 Arraystar 公司提供的流程进行样品标记和阵列杂交。首先使用 RNaseR(Epicentre 公司,美国)处理 circRNA 以除去线性 RNA,然后使用随机方法(Arraystar 公司,美国)扩增每个样品并转录成荧光 cRNA。通过 RNeasy Mini Kit(Qiagen)纯化标记 cRNA。通过 NanoDrop ND-1000 测量标记的 cRNA 的浓度以及比活性。首先将标记以后的样品与 Human circRNA Array V2(8×15K)芯片(Arraystar 公司,美国)进行排列杂交,然后用清洗液试剂盒(Agilent 公司,美国)进行清洗。由上海康成生物公司进行 circRNA 芯片检测和图像采集。

1.4 芯片数据提取及分析

采用 Agilent Feature Extraction 软件对原始数据进行提取分析。使用 R 软件包对原始数据进行分位数归一化和随后的数据处理。鉴定两组之间具有显著性差异表达的 circRNA,差异基因的标准为样本质检表达量的差异倍数≥2 倍,即癌灶组织表达量相对于癌旁组织表达量变化≥2 倍,且 P 值<0.05。对差异 circRNA 对应 mRNA 转录本进行基因本体(GO)和 Pathway 富集分析,并对 circRNA 可能结合的 miRNA 进行预测。

1.5 RT-qPCR 验证差异表达的 circRNA

在芯片检测结果当中,筛选出 6 个显著上调的 circRNA,以 GAPDH 作为内参照,采用 RT-qPCR

方法进行验证。取 1 μg 细胞或组织总 RNA,按照 PrimeScript 逆转录试剂盒说明书,将 RNA 逆转录为 cDNA。RT-qPCR 分析全部使用 SYBR Premix Ex Taq II 试剂盒进行。RT-qPCR 反应的总体积为 20 μL。反应条件为:95℃预变性 30 s;然后 95℃5 s,60℃30 s,共进行 40 个循环,通过熔解曲线检测 PCR 产物的特异性。使用 2<sup>-ΔΔCt</sup> 方法评估相对表达水平。实验重复 3 次,取均值。

1.6 统计学分析

采用 SPSS 23.0 软件进行数据分析,RT-qPCR 的结果采用单因素方差分析,两组间的比较用 t 检验,以 P<0.05 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 样本总 RNA 和标记 cRNA 的质量检测

经过 NanoDrop ND-1000 检测,胃癌癌旁对照组织以及胃癌组织样本 RNA 的 A<sub>260</sub>/A<sub>280</sub> 比值均为 1.80~2.00,A<sub>260</sub>/A<sub>230</sub> 比值大于 1.80,说明总 RNA 具有较高的纯度,样本中所提取的 RNA 的总量均≥0.5 μg,达到质检标准,符合检测要求。每份样本采用荧光染料标记,标记 RNA 总量均≥1.65 μg,Cy3 标记特异活性均≥9 μmol/g,符合实验要求,可用于后续芯片杂交。见表 1、2。

表 1 总 RNA 的质检

样本	A <sub>260</sub> / A <sub>280</sub> 比值	A <sub>260</sub> / A <sub>230</sub> 比值	浓度(ρ/ mg·L <sup>-1</sup> )	体积 (V/μL)	总量 (m/ng)
T1	1.89	2.28	464.96	40.00	18 598.40
N1	2.00	2.31	1 304.16	60.00	78 249.60

表 2 合成标记 cRNA 的质检

样本	cRNA 浓度 (ρ/g·L <sup>-1</sup> )	Cy3 标记特异活性 (b/μmol·g <sup>-1</sup> )	体积 (V/μL)	总量 (m/ng)
T1	0.58	18.90	10.00	5.80
N1	0.54	22.78	10.00	5.40

2.2 芯片结果分析

对芯片结果进行预处理、归一化后选择相对表达量比值在 2 倍以上,且差异具有显著统计学意义(P<0.05)的 circRNA 作为差异表达的 circRNA。芯片检测结果显示,与癌旁组织相比较,胃癌组织中相对表达量比值在 2 倍以上变化的 circRNA 总共有 1 042 条,其中上调 475 条,下调 567 条(图 1)。统计分析后筛选表达上调和下调的前 6 位 circRNA(表 3),其中的 hsa\_circ\_0000977 是表达上调倍数最大的 circRNA,上调 14.94 倍;hsa\_circ\_0003162 是表达下调倍数最大的 circRNA,下调 58.46 倍。

2.3 差异性表达 circRNA 生物信息学分析

对筛选所得的差异表达 circRNA 的亲本基因进行 GO 生物学进程分析以及 pathway 通路分析。GO 分析主要从分子功能(MF)、细胞组件(CC)和生物学进程(BP)3 个方面对基因及基因产物的功能进行分析。GO 分析结果显示,差异 circRNA 的亲本基因主要涉及转录、转录调控、信号转导等细胞过程;定位于细胞质、细胞核以及核质等细胞组件中;并与 ATP、锌离子或者 RNA 结合来发挥分子功能。pathway 分析显示 circRNA 显著上调的亲本基因主要参与的通路有代谢途径、内吞作用、人类 T 淋巴细胞白血病病毒 1 型(HTLV-1)感染和疱疹病毒(EB)感染;circRNA 显著下调的亲本基因主要参与的通路有代谢途径、肿瘤相关信号通路和 PI3K-Akt 信号通路(图 2)。

2.4 RT-qPCR 对部分 circRNA 进行验证

选取前 6 个表达显著上调的 circRNA,以 RT-qPCR 方法验证其在 3 种胃癌细胞系(803 细胞、823 细胞、7901 细胞)以及胃正常黏膜细胞系中的表达。RT-qPCR 结果显示,6 个显著上调的 circRNA 均在胃癌细胞系中存在,前 5 个表达上调的 circRNA 在胃癌细胞系中表达量没有显著升高的趋势,与芯片结果不符,只有 hsa\_circ\_0001666 在胃癌细胞系中的表达与芯片中的结果一致。hsa\_circ\_0001666 在 3 种胃癌细胞系中高表达,设正常胃黏膜细胞的表达水平为 1.00,803 细胞、823 细胞、7901 细胞中 hsa\_circ\_0001666 的表达量分别为  $1.65 \pm 0.05$ 、 $2.90 \pm 0.20$ 、 $3.75 \pm 0.25$ ,差异具有显著性( $t = 16.45 \sim 21.28$ ,  $P < 0.05$ )。此外,本研究在胃癌组织及对应癌旁组织中验证了 hsa\_circ\_0001666 的表达情况,结果显示其在 4 对胃癌组织高表达,设每一对癌旁组织表达水平为 1.00,4 对胃癌组织中 hsa\_circ\_0001666 表达量分别为  $1.80 \pm 0.05$ 、 $1.71 \pm 0.02$ 、 $1.54 \pm 0.04$ 、 $1.49 \pm 0.04$ ,差异具有显著统计学意义( $t = 21.22 \sim 58.80$ ,  $P < 0.05$ )。

2.5 与 hsa\_circ\_0001666 相结合的 miRNAs 的生物信息学分析

由于 hsa\_circ\_0001666 在胃癌组织和细胞系的 qPCR 结果与芯片结果一致,本研究选定 hsa\_circ\_0001666 进行下一步的 miRNA 靶基因预测分析。使用 Arraystar 自主研发的 miRNA 靶标预测软件预测 circRNA 上的保守 miRNA 的结合位点。通过分析发现 hsa\_circ\_0001666 可能作为 miRNA“海绵”与 hsa-miR-450a-1-3p、hsa-miR-661、hsa-miR-493-5p、hsa-

miR-208a-5p 和 hsa-miR-612 结合发挥作用(图 3)。

表 3 胃癌组织和癌旁对照组织相比有显著上调和下调的 circRNA

circRNA	表达	差异倍数	circRNA 类型	染色体定位	基因定位
hsa_circ_0000977	上调	14.937 17	exonic	chr2	NOL10
hsa_circ_0006220	上调	12.738 92	exonic	chr17	TADA2A
hsa_circ_0000288	上调	11.437 77	exonic	chr11	CAPRIN1
hsa_circ_0006956	上调	7.972 81	exonic	chr10	FAM190B
hsa_circ_0001875	上调	7.772 88	exonic	chr9	FAM120A
hsa_circ_0001666	上调	7.697 50	exonic	chr6	FAM120B
hsa_circ_0003162	下调	58.463 97	exonic	chr7	BBS9
hsa_circ_0009076	下调	42.383 87	exonic	chr1	NRD1
hsa_circ_0000708	下调	40.824 71	intronic	chr16	FAM65A
hsa_circ_0088300	下调	40.182 00	exonic	chr9	PSMD5
hsa_circ_0000670	下调	38.897 19	intronic	chr16	C16orf72
hsa_circ_0001644	下调	38.886 45	intronic	chr6	BCLAF1

3 讨 论

胃癌在全球范围内的发病率和死亡率逐年增加,对人类健康构成严重威胁。近年来,许多研究发现 circRNA 在胃癌的发生发展中发挥至关重要的作用。LI 等<sup>[18]</sup>研究发现 hsa\_circ\_0000096 在胃癌组织和细胞中低表达,可通过抑制细胞周期蛋白 D1(cyclin D1)、细胞周期蛋白依赖性激酶 6(CDK6)、基质金属蛋白酶 2(MMP-2)和 MMP-9 的表达,抑制胃癌细胞的增殖和迁移。circPVT1 在胃癌组织中表达上调,能够促进细胞增殖<sup>[19]</sup>。circLARP4 作为肿瘤抑制因子在胃癌组织中下调,抑制胃癌细胞增殖和侵袭,其表达水平与肿瘤大小、淋巴转移以及胃癌病人的治疗结果密切相关<sup>[20]</sup>。此外,有研究发现,hsa\_circ\_000745、hsa\_circ\_0000520、hsa\_circ\_2059 在胃癌病人血浆中表达量下调<sup>[21-23]</sup>,可以作为胃癌的生物标志物,与胃癌病人肿瘤分化、远处转移、TNM 分期等相关。

circRNA 与传统的线性 RNA 不同,具有特殊的闭合环状结构,不易被 RNase 酶降解,能在多种生物体内稳定表达<sup>[24]</sup>。circRNA 最初被认为是在转录过程中错误剪接而形成的副产物,无重要生物学功能<sup>[3]</sup>。近年来,随着生物物理学、高通量测序技术和生物信息学等技术的快速发展,生物体中越来越多的 circRNA 被发现。circRNA 参与包括癌症在内的多种疾病的发生发展过程,其在肿瘤生长、转移和治疗耐药等过程中发挥重要作用。目前的研究表明,circRNA 的生物学功能及调控机制主要包括以下几个方面:①circRNA 作为高效竞争性内源



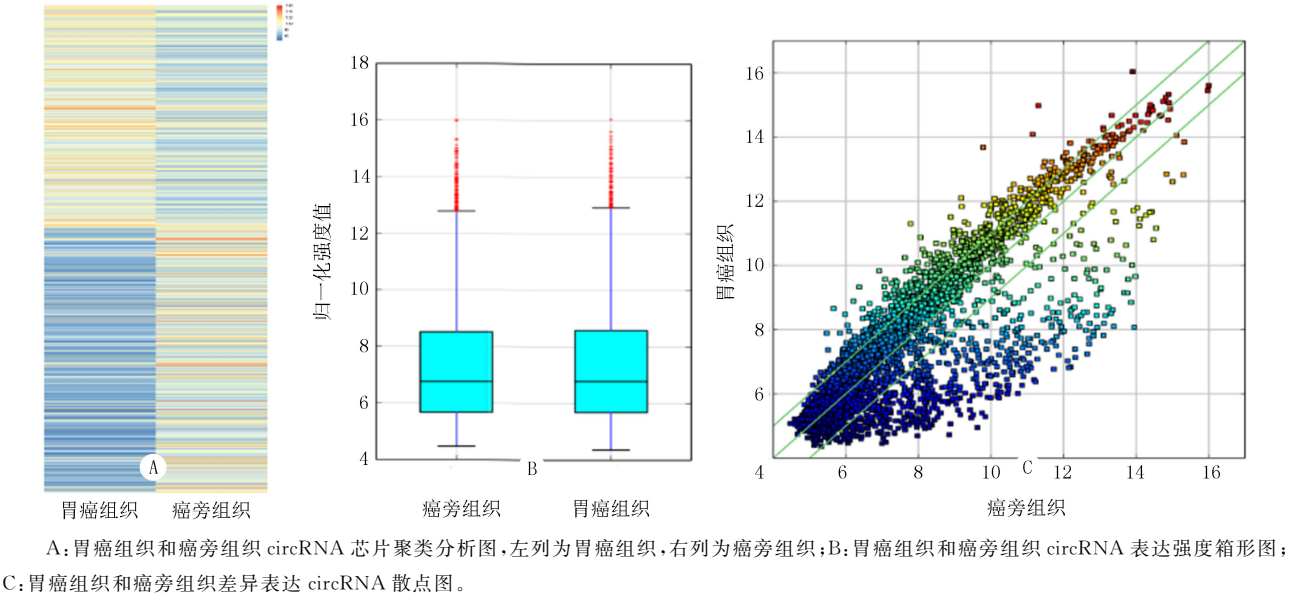


图 1 胃癌组织和癌旁组织之间差异表达的 circRNA

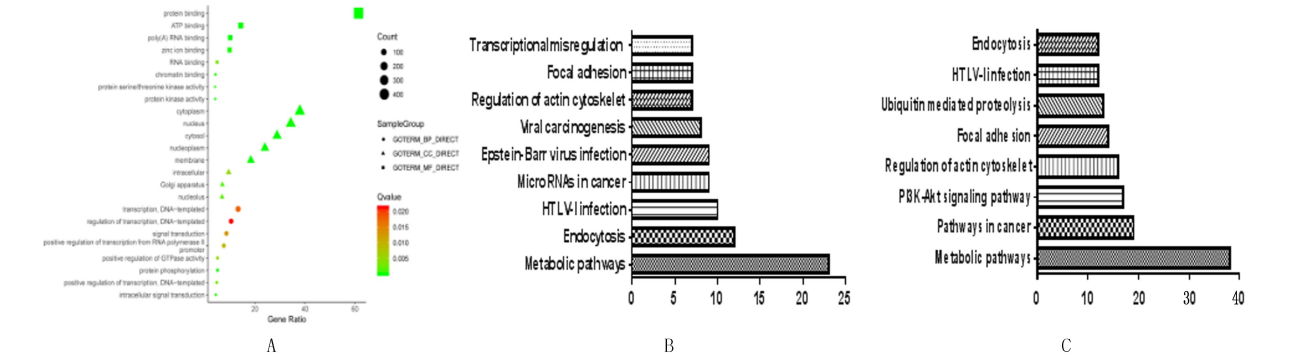


图 2 差异 circRNA 亲本基因 GO 分析和 KEGG 通路分析

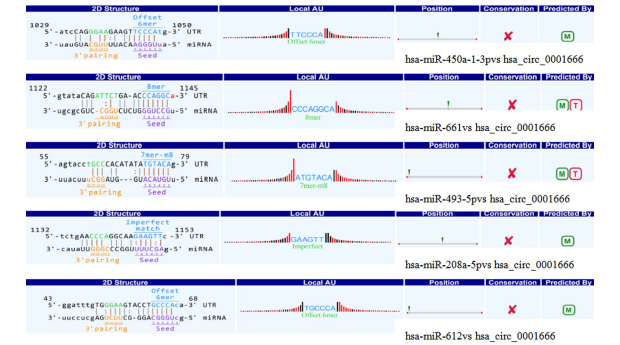


图 3 hsa\_circ\_0001666 与 miRNAs 相互作位点的详细注释图

RNA(ccRNA),通过吸附 miRNA 解除其 miRNA 对靶基因的抑制作用。②circRNA 可以直接结合蛋白质或者耦联 RNA 结合蛋白(RBP)调控相关蛋白质的活性。③circRNA 具有翻译功能。④circRNA 可以顺式或者反式地调控亲本基因的转录。CHEN 等<sup>[11]</sup>发现,circHIPK3 在肝细胞癌中通过调控 miR-124 的活性,上调 AQP3 基因的表达,进而促进肝癌

细胞增殖和迁移。YANG 等<sup>[14]</sup>发现,circAmotl1 和 c-myc 共定位于细胞核,并且 circAmotl1 在乳腺癌中高表达,可通过与 c-myc 相互作用促进肿瘤发生。还有报道表明,circFXBW7 可以编码一种相对分子质量为 21 000 的蛋白,命名为 FBXW7-185aa。circ-FBXW7 和 FBXW7-185aa 在胶质母细胞瘤中表达量下调,能够抑制胶质母细胞瘤增殖,并加快细胞周期进程<sup>[25]</sup>。另外,circSHPRH 能够编码一种相对分子质量为 17 000 的蛋白质,命名为 SHPRH-146aa。circSHPRH 和 SHPRH-146aa 在胶质母细胞瘤中表达量下调,可以抑制胶质母细胞的增殖和肿瘤发生<sup>[26]</sup>。越来越多的证据表明,circRNA 能够通过不同调控机制在癌症的发生发展中发挥重要作用,并具有成为癌症诊断的新型生物标志物的潜力。

本研究通过高通量 circRNA 芯片技术筛查胃癌病人的癌组织中差异表达的 circRNA,结果显示胃癌组织样本与其对应的癌旁组织样本之间存在

1 042 条差异表达的 circRNA, 其中在肿瘤组织中高表达的有 475 条, 低表达的有 567 条(变化 $\geq 2$  倍且  $P < 0.05$ )。对筛选所得的差异表达 circRNA 的亲本基因进行 GO 生物学进程分析和 pathway 通路分析, 结果显示这些差异表达的 circRNA 可能在转录调控和多种信号途径中发挥作用。RT-qPCR 检测结果显示, 在上调最显著的 6 个 circRNA 中, 只有 hsa\_circ\_0001666 在胃癌细胞系和胃癌组织中表达与芯片结果一致。circRNA 靶基因预测软件显示 hsa\_circ\_000166 可能通过结合 hsa-miR-450a-1-3p、hsa-miR-661、hsa-miR-493-5p、hsa-miR-208a-5p 和 hsa-miR-612 发挥功能。在后续研究中, 我们将对 hsa\_circ\_000166 进行功能学验证, 阐明其在胃癌细胞增殖、侵袭和迁移等过程中发挥的具体作用, 并通过体内、体外研究明确其与靶 miRNA 结合发挥作用的机制, 进而为胃癌的诊断和治疗提供新的思路及方向。

### [参考文献]

- [1] 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 Cancer J Clin, 2018,68(6):394-424.
- [2] CANCER GENOME ATLAS RESEARCH NETWORK, BASS A J, THORSSON V, et al. Comprehensive molecular characterization of gastric adenocarcinoma[J]. Nature, 2014, 513(7517):202-209.
- [3] SANGER H L, 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 U S A, 1976,73(11):3852-3856.
- [4] QIU M, XIA W, CHEN R, et al. The circular RNA circPRK-CI promotes tumor growth in lung adenocarcinoma[J]. Cancer Res, 2018,78(11):2839-2851.
- [5] WANG X, ZHU X, ZHANG H, et al. Increased circular RNA hsa\_circ\_0012673 acts as a sponge of miR-22 to promote lung adenocarcinoma proliferation[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2018,496(4):1069-1075.
- [6] JIANG M M, MAI Z T, WAN S Z, et al. Microarray profiles reveal that circular RNA hsa\_circ\_0007385 functions as an oncogene in non-small cell lung cancer tumorigenesis[J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2018,144(4):667-674.
- [7] ZENG K, CHEN X, XU M, et al. CircHIPK3 promotes colorectal cancer growth and metastasis by sponging miR-7[J]. Cell Death Dis, 2018,9(4):417.
- [8] HSIAO K Y, LIN Y C, GUPTA S K, et al. Noncoding effects of circular RNA CCDC66 promote colon cancer growth and metastasis[J]. Cancer Res, 2017,77(9):2339-2350.
- [9] HUANG W J, WANG Y, LIU S, et al. Silencing circular RNA hsa\_circ\_0000977 suppresses pancreatic ductal adenocarcinoma progression by stimulating miR-874-3p and inhibiting PLK1 expression[J]. Cancer Lett, 2018,422:70-80.
- [10] LI Z, YANFANG W, LI J, et al. Tumor-released exosomal circular RNA PDE8A promotes invasive growth via the miR-338/MACCl/MET pathway in pancreatic cancer[J]. Cancer Lett, 2018,432:237-250.
- [11] CHEN G, SHI Y, LIU M, et al. circHIPK3 regulates cell proliferation and migration by sponging miR-124 and regulating AQP3 expression in hepatocellular carcinoma[J]. Cell Death Dis, 2018,9(2):175.
- [12] SHI L, YAN P, LIANG Y, et al. Circular RNA expression is suppressed by androgen receptor (AR)-regulated adenosine deaminase that acts on RNA (ADAR1) in human hepatocellular carcinoma[J]. Cell Death Dis, 2017,8(11):e3171.
- [13] HE R, LIU P, XIE X, et al. circGFRA1 and GFRA1 act as ceRNAs in triple negative breast cancer by regulating miR-34a[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2017,36(1):145.
- [14] YANG Q, DU W W, WU N, et al. A circular RNA promotes tumorigenesis by inducing c-myc nuclear translocation[J]. Cell Death Differ, 2017,24(9):1609-1620.
- [15] LIANG H F, ZHANG X Z, LIU B G, et al. Circular RNA circ-ABCB10 promotes breast cancer proliferation and progression through sponging miR-1271[J]. Am J Cancer Res, 2017, 7(7):1566-1576.
- [16] 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.
- [17] LI Y, ZHENG F, XIAO X, et al. CircHIPK3 sponges miR-558 to suppress heparanase expression in bladder cancer cells[J]. EMBO Rep, 2017,18(9):1646-1659.
- [18] LI P, CHEN H, CHEN S, et al. Circular RNA 0000096 affects cell growth and migration in gastric cancer[J]. Br J Cancer, 2017,116(5):626-633.
- [19] CHEN J, LI Y, ZHENG Q, et al. Circular RNA profile identifies circPVT1 as a proliferative factor and prognostic marker in gastric cancer[J]. Cancer Lett, 2017,388:208-219.
- [20] ZHANG J, LIU H, HOU L, et al. Circular RNA\_LARP4 inhibits cell proliferation and invasion of gastric cancer by sponging miR-424-5p and regulating LATS1 expression[J]. Mol Cancer, 2017,16(1):151.
- [21] HUANG M, HE Y R, LIANG L C, et al. Circular RNA hsa\_circ\_0000745 may serve as a diagnostic marker for gastric cancer[J]. World J Gastroenterol, 2017,23(34):6330-6338.
- [22] SUN H, TANG W, RONG D, et al. Hsa\_circ\_0000520, a potential new circular RNA biomarker, is involved in gastric carcinoma[J]. Cancer Biomark, 2018,21(2):299-306.
- [23] LI P, CHEN S, CHEN H, et al. Using circular RNA as a novel type of biomarker in the screening of gastric cancer[J]. Clin Chim Acta, 2015,444:132-136.
- [24] MEMCZAK S, JENS M, (下转第 16 页)

- phate 4-phosphatase II regulates PI3K/Akt signaling and is lost in human basal-like breast cancers[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010,107(51):22231-22236.
- [13] DING H, SUN Y, HOU Y, et al. Effects of INPP4B gene transfection combined with PARP inhibitor on castration therapy-resistant prostate cancer cell line, PC3[J]. *Urol Oncol*, 2014,32(5):720-726.
- [14] SUN Y, DING H, LIU X, et al. INPP4B overexpression enhances the antitumor efficacy of PARP inhibitor AG014699 in MDA-MB-231 triple-negative breast cancer cells[J]. *Tumour Biol*, 2014,35(5):4469-4477.
- [15] GILBY D C, GOODEVE A C, WINSHIP P R, et al. Gene structure, expression profiling and mutation analysis of the tumour suppressor SHIP1 in Caucasian acute myeloid leukaemia[J]. *Leukemia*, 2007,21(11):2390-2393.
- [16] DENLEY A, GYMNPOULOS M, KANG S, et al. Requirement of phosphatidylinositol (3, 4, 5) trisphosphate in phosphatidylinositol 3-kinase-induced oncogenic transformation[J]. *Mol Cancer Res*, 2009,7(7):1132-1138.
- [17] STJERNSTROM A, KARLSSON C, FERNANDEZ O J, et al. Alterations of INPP4B, PIK3CA and pAkt of the PI3K pathway are associated with squamous cell carcinoma of the lung[J]. *Cancer Med*, 2014,3(2):337-348.
- [18] YUEN J W, CHUNG G T, LUN S W, et al. Epigenetic inactivation of inositol polyphosphate 4-phosphatase B (INPP4B), a regulator of PI3K/AKT signaling pathway in EBV-associated nasopharyngeal carcinoma [J]. *PLoS One*, 2014, 9 (8): e105163.
- [19] VO T T, FRUMAN D A. INPP4B is a tumor suppressor in the context of PTEN deficiency[J]. *Cancer Discov*, 2015,5(7):697-700.
- [20] RYNKIEWICZ N K, FEDELE C G, CHIAM K, et al. INPP4B is highly expressed in prostate intermediate cells and its loss of expression in prostate carcinoma predicts for recurrence and poor long term survival[J]. *Prostate*, 2015,75(1):92-102.
- [21] SALMENA L, SHAW P, FANS I, et al. Prognostic value of INPP4B protein immunohistochemistry in ovarian cancer[J]. *Eur J Gynaecol Oncol*, 2015,36(3):260-267.
- [22] ERIKO TOKUNAGA E, YAMASHITA N, KITAO H, et al. Biological and clinical significance of loss of heterozygosity at the INPP4B gene locus in Japanese breast cancer [J]. *Breast*, 2016,25:62-68.
- [23] IP L R, POULOGIANNIS G, VICIANO F C, et al. Loss of INPP4B causes a DNA repair defect through loss of BRCA1, ATM and ATR and can be targeted with PARP inhibitor treatment[J]. *Oncotarget*, 2015,6(12):10548-10562.
- [24] RIJAL S, FLEMING S, CUMMINGS N, et al. Inositol polyphosphate 4-phosphatase II (INPP4B) is associated with chemoresistance and poor outcome in AML[J]. *Blood*, 2015, 125(18):2815-2824.
- [25] DZNELADZE I, HE R, WOOLLEY J F, et al. INPP4B overexpression is associated with poor clinical outcome and therapy resistance in acute myeloid leukemia[J]. *Leukemia*, 2015,29(7):1485-1495.
- [26] RECHER C. INPP4B, a new player in the chemoresistance of AML[J]. *Blood*, 2015,125(18):2738-2739.
- [27] THIERY J P, ACLOQUE H, HUANG R Y, et al. Epithelial-mesenchymal transitions in development and disease[J]. *Cell*, 2009,139(5):871-890.
- [28] KIM M A, LEE H S, LEE H E, et al. Prognostic importance of epithelial-mesenchymal transition-related protein expression in gastric carcinoma[J]. *Histopathology*, 2009, 54 (4): 442-451.
- [29] CHEN H, LI H, CHEN Q. INPP4B reverses docetaxel resistance and epithelial-to-mesenchymal transition via the PI3K/Akt signaling pathway in prostate cancer[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2016,477(3):467-472.
- [30] CHI M N, GUO S T, WILMOTT J S, et al. INPP4B is up-regulated and functions as an oncogenic driver through SGK3 in a subset of melanomas[J]. *Oncotarget*, 2015,6(37):39891-39907.
- [31] GUO S T, CHI M N, YANG R H, et al. INPP4B is an oncogenic regulator in human colon cancer[J]. *Oncogene*, 2016,35(23):3049-3061.
- [32] HODGSON M C, SHAO L J, FROLOV A, et al. Decreased expression and androgen regulation of the tumor suppressor gene INPP4B in prostate cancer[J]. *Cancer Res*, 2011,71(2): 572-582.
- [33] FRANKE T F, KAPLAN D R, CANTLEY L C, et al. Direct regulation of the Akt proto-oncogene product by phosphatidylinositol-3,4-bisphosphate[J]. *Science*, 1997,275(5300):665-668.
- [34] ZHANG F, LI J, ZHU J, et al. IRF2-INPP4B-mediated autophagy suppresses apoptosis in acute myeloid leukemia cells[J]. *Biol Res*, 2019,52(1):11.
- [35] ASLEH K, LYCK C S, TYKJAER J C, et al. Basal biomarkers nestin and INPP4B predict gemcitabine benefit in metastatic breast cancer: Samples from the phase III SBG0102 clinical trial[J]. *Int J Cancer*, 2019,144(10):2578-2586.

(本文编辑 耿波 厉建强)

(上接第 10 页)

- ELEFSINIOTI A, et al. Circular RNAs are a large class of animal RNAs with regulatory potency[J]. *Nature*, 2013, 495(7441):333-338.
- [25] YANG Y, GAO X, ZHANG M, et al. Novel role of FBXW7 circular RNA in repressing glioma tumorigenesis[J]. *J Natl Cancer Inst*, 2018,110(3):304-315.
- [26] ZHANG M, HUANG N, YANG X, et al. A novel protein encoded by the circular form of the SHPRH gene suppresses gliomatumorigenesis[J]. *Oncogene*, 2018,37(13):1805-1814.

(本文编辑 耿波 厉建强)