

综述

外泌体circRNA相关信号通路在胃癌中的调控机制及中医药干预的研究进展

尹艺璇¹, 步曦¹, 梁欣奕¹, 刘小琪¹, 祁向争^{2*}¹天津中医药大学, 天津 300193; ²天津中医药大学第二附属医院, 天津 300150)

摘要: 胃癌为我国发病率最高的消化道肿瘤, 近年来胃癌患者的5年总生存率低于30%, 严重危害患者生存质量。随着生物信息学方法的发展, 目前已检测鉴定出不同类型的外泌体环状RNA(circular RNA, circRNA)作用于某一靶点调节相关信号分子表达水平, 从而激活或抑制某种信号通路, 参与胃癌的发生发展。中医药可依据多靶点多途径的优势精准调控相关信号通路及关键分子表达, 达到防治胃癌的作用。当下, 外泌体circRNA在胃癌中的调控机制已成研究热点, 本文就近年来外泌体circRNA分子及相关信号通路调控胃癌进展以及中药干预各信号通路的具体机制作一综述, 以期对中医药防治胃癌临床转化提供新思路。

关键词: 外泌体; circRNA; 胃癌; 信号通路

Research progress on the regulatory mechanism of exosomal circRNA related signaling pathways in gastric cancer and traditional Chinese medicine intervention

YIN Yixuan¹, BU Xi¹, LIANG Xinyi¹, LIU Xiaoqi¹, QI Xiangzheng^{2*}¹Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjing 300193, China;²The Second Affiliated Hospital of Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjing 300150, China)

Abstract: Gastric cancer (GC) is the highest incidence of digestive tract tumor in China. In recent years, the 5-year overall survival rate of patients with GC is less than 30%, which seriously endangers the quality of life of patients. With the development of bioinformatics methods, different types of exosomal circular RNA (circRNA) have been identified to act on a specific target to regulate the expression level of related signaling molecules, which can activate or inhibit some signal pathways to participate in the development of GC. Traditional Chinese medicine (TCM) can precisely regulate the related signal pathways and key molecular expressions based on the advantages of multiple targets and pathways, achieving the effect of preventing and treating GC. Currently, the regulatory mechanisms of exosomal circRNA in GC have become research hotspots. In this paper, the progress of exosomal circRNA molecules and related signal pathways in regulating GC in recent years and the specific mechanisms of Chinese medicine intervening in signal pathways are reviewed in order to provide new ideas for the prevention and treatment of GC with TCM.

收稿日期: 2023-04-17

基金项目: 国家自然科学基金项目(81704003)

第一作者: E-mail: 503706978@qq.com

*通信作者: E-mail: friend_jia@163.com

Key Words: exosome; circRNA; gastric cancer; signal pathway

胃癌(gastric cancer, GC)是全球最常见的恶性肿瘤之一,我国每年新增和死亡患者约占全球40%^[1]。在我国,GC为发病率最高的消化道肿瘤^[2],仅不到20%的GC患者在早期得到诊断^[3],多数GC患者因缺乏早期特异性症状而导致错过最佳诊疗时机,近年来GC患者的5年总生存率低于30%,且治愈率仍不乐观^[4]。由于目前GC的发病机制和耐药机制仍不清晰,因此探索GC诊断和预后的生物标志物、有效的治疗靶点以及更明确的发生发展机制是研究的关键^[5]。随着现代研究对癌症基因组图谱认识的不断深入,从分子水平通过基因组编辑干预GC的治疗有了新突破^[6]。

非编码核糖核酸(non-coding RNA, ncRNA)是真核细胞的主要产物,占真核细胞总RNA的95%以上,有证据表明,ncRNA作为表观遗传调节因子在胃肠道恶性肿瘤中的重要作用^[7]。环状RNA(circular RNA, circRNA)是一类新型的ncRNA,其分子结构呈完整环状封闭型,广泛存在于各种内源性ncRNA中,可调节基因表达^[8,9]。有研究发现, circRNA在外泌体中富集且稳定存在,肿瘤细胞分泌的外泌体中circRNA与线性RNA水平比率约为正常细胞的6倍,可作为癌症检测的潜在生物标志物^[10]。Yan等^[11]的研究发现,GC中的circRNA可以通过外泌体递送转移到受体细胞。越来越多现代研究证明,外泌体作为细胞间通讯的关键介质,为肿瘤细胞的信号传递提供载体和途径,在肿瘤的发生发展、转移侵袭、耐药等多阶段发挥至关重要作用^[12]。然而,目前尚未有文献对外泌体circRNA信号通路调控GC的文献进行系统梳理。因此,本文现对外泌体circRNA及相关信号通路干预GC发生发展机制研究作一综述。

1 外泌体概述

外泌体是细胞分泌的一种具有双层脂质结构、直径为30~100 nm的细胞外囊泡。外泌体所携带的核酸、蛋白质、脂类和代谢物通过胞吐作用被靶细胞摄取,转移到受体细胞并能在细胞间传递生物信号,广泛参与细胞间的通讯^[13]。外泌体在肿瘤

的分子通路调节中起着尤为关键的作用^[14,15]。肿瘤细胞和周围基质细胞的集合构成肿瘤微环境,来源于肿瘤细胞的外泌体具有改变肿瘤局部和整体微环境的功能^[16,17]。

相比于正常细胞,肿瘤细胞来源的外泌体具有更多特异性RNA,在肿瘤自身的调控中发挥重要作用。如微小RNA(microRNA, miRNA)、circRNA、长链ncRNA(long non-coding RNA, lncRNA)和信使RNA(messenger RNA, mRNA)^[18],这些特异性RNA可作为癌症的诊断标志物和治疗靶点^[19],亦可作为有效的载体将RNA转运到特定的靶细胞中,在癌症治疗和预后中发挥重要的调控作用^[20,21]。由于外泌体独特的理化特性、高生物利用度和低细胞毒性,外泌体可能作为药物递送载体实现靶向治疗癌症^[22]。

2 circRNA及其生物学功能

2.1 circRNA

circRNA来源于RNA聚合酶II转录的线性前体mRNA(pre-mRNA), circRNA是通过反向剪接产生的一类ncRNA,内含子下游5'剪接位点是以相反的顺序与上游3'剪接位点相连接,并在反向剪接的外显子之间形成3',5'-磷酸二酯键^[23]。根据circRNA序列中外显子和内含子的不同组合, circRNA可分为3类,包括外显子circRNA、内含子circRNA和外显子-内含子circRNA。circRNA在组织中高度富集并特异性表达,由于缺少5'端和3'端的共价闭合环状结构抵抗核酸外切酶的降解,与线性RNA相比, circRNA表现出较长的半衰期,具有更好的稳定性和保守性,其中数千种在肿瘤和正常组织中有差异表达^[24]。

2.2 circRNA生物学功能

目前现代医学基于circRNA多元化的结构赋予其不同的生物学功能。(1) circRNA充当miRNA“分子海绵”, circRNA竞争性结合细胞质中的miRNA, miRNA通过结合mRNA的3'非翻译区(3'UTR)转录后沉默靶基因, circRNA抑制miRNA下游靶基因的表达并阻止结合,解除miRNA对靶

mRNA负向调控作用,影响下游miRNA分子信号通路^[25]。(2)通过与蛋白质的相互作用, circRNA将基因翻译成蛋白质并与RNA结合蛋白相互作用。如, circ-Foxo3和circ-PABPN1通过与蛋白质的相互作用来诱导癌细胞凋亡, 阻断细胞周期进程和抑制细胞增殖^[26]。(3) circRNA还被证实具有编码潜力, 部分circRNA可以编码多肽。如Peng等^[27]发现, 在GC组织中高表达circ-AXIN1编码一个含有295个氨基酸的新蛋白AXIN1-295aa。AXIN1-295aa与结肠腺瘤样息肉基因(adenomatous polyposis coli, APC)竞争性相互作用, 导致Wnt途径的“破坏复合体”功能障碍, 释放的 β -连环蛋白(β -catenin)移位至细胞核并与启动子上的T细胞因子(T cell factor, TCF)共有位点结合, 诱导下游基因表达, 促进细胞增殖和迁移。

3 外泌体circRNA在GC发生发展中的作用机制

近年来, 胞外通讯被认为是细胞内物质转移的工具^[28]。外泌体circRNA在肿瘤侵袭和转移级联反应的不同阶段发挥重要作用, 包括调控肿瘤细胞增殖与凋亡、细胞上皮-间质转化、血管生成、化疗药物耐药等, 如下所述。

3.1 调控GC细胞增殖、凋亡

肿瘤细胞活性持续处于活跃状态, 能够无限复制、分裂、增殖并破坏周围正常组织和细胞, 阻止肿瘤细胞的增殖可抑制肿瘤细胞的生长和浸润转移。越来越多外泌体circRNA调控肿瘤细胞增殖的研究被报道。

2009年, Qu等^[29]报道GC细胞一部分外泌体可通过磷脂肌醇3-激酶/蛋白激酶B(PI3K/Akt)通路和丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)/细胞外调节蛋白激酶(ERK)激活促进肿瘤细胞增殖。Shi等^[30]揭示了肿瘤相关成纤维细胞通过外泌体向GC细胞传递功能性circ-0088300, 促进GC细胞的增殖、迁移和侵袭能力。外泌体circ-0088300通过充当miR-1305的“海绵”以促进GC细胞增殖。Liu等^[31]通过细胞增殖与活性检测法(CCK-8)、细胞迁移实验(transwell)、免疫印迹试验(Western blot)等显示, 在GC中circ-0001190表达下调, miR-586上调, 外泌体circ-0001190充当miR-586的“海绵”调节下游

靶基因含硬化蛋白结构域1(SOSTDC1)的表达, 通过miR-586/SOSTDC1轴促进细胞凋亡。

3.2 调控GC细胞上皮-间质转化

恶性肿瘤可经历上皮细胞-间充质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)过程而表现出高度侵袭力和转移性, 实现远处转移。在EMT过程中, 肿瘤上皮细胞突破基底膜屏障, 细胞外基质被降解, 肿瘤上皮细胞在形态和功能上发生变化, 表现为细胞间黏附性消失、丧失细胞极性, 变得更具侵袭性并获得间质细胞形态和特性^[32]。转化生长因子 β 、低氧诱导因子-1 α (hypoxia-inducible factor-1 α , HIF-1 α)、 β -catenin、白细胞介素-6(IL-6)、波形蛋白(Vimentin)以及核酸是外泌体携带的重要EMT成分。肿瘤细胞失去上皮特征, 并通过失去E-钙黏蛋白(E-cadherin)和细胞极性而获得间充质特性, 同时N-钙黏蛋白(N-cadherin)、卷曲蛋白(twist)、锌指蛋白1(Snai 1)和Vimentin的表达增加, 导致癌细胞间黏附性减弱, 增加肿瘤细胞的侵袭和迁移能力^[33]。

Lu等^[34]经转录抑制剂处理后, 发现circ-RanGAP1的半衰期大于24 h, 而线性RanGAP1的半衰期仅为约5.5 h, 表明circ-RanGAP1存在高度稳定性。血管内皮生长因子A(vascular endothelial growth factor A, VEGFA)是GC细胞中miR-877-3p的潜在靶点, 并且VEGFA和miR-877-3p表达呈负相关。circ-RanGAP1在GC患者组织和外周血中表达显著上调, circ-RanGAP1作为竞争性内源RNA(competing endogenous RNA, ceRNA)抑制miR-877-3p的活性, 导致靶基因VEGFA表达增加, 有助于GC的肿瘤侵袭和转移。该研究证明了circ-RanGAP1可通过外泌体从GC细胞转移到血浆中, 加强细胞间的通讯, 从而增强GC细胞的侵袭和迁移, 这可能为GC肿瘤转移研究提供一种新的机制。

3.3 调控GC血管生成

肿瘤新生血管的形成为其生长提供所需营养, 血管生成是肿瘤发展新的血管系统的多步骤环节, 对于肿瘤生长和转移必不可少^[35]。肿瘤细胞释放的外泌体circRNA可促进血管内皮细胞的形成, 是诱导血管形成的主要机制之一^[36]。研究发现, VEGF是促进血管内皮细胞增殖的最重要因素

之一, Hu抗原R(Huantigen R, HuR)是VEGF信号通路中的一个重要因子, 通过结合VEGF mRNA, 稳定mRNA结构并诱导VEGF翻译^[37]。

Xie等^[38]的研究发现, circ-SHKBP1是通过SH3KBP1结合蛋白1(SHKBP1)基因的第11、12外显子与侧翼内含子中反向互补的Alu元件反向剪接而产生, 在GC细胞外泌体中富集。circ-SHKBP1通过海绵吸附miR-582-3p上调下游靶基因HuR和VEGF, HuR增强VEGF mRNA的稳定性并促进VEGF主动翻译及分泌, 诱导血管生成, 进而促进GC发展。除miRNA海绵作用外, circRNA也可通过与蛋白质的相互作用来诱导癌细胞凋亡, 阻断细胞周期进程和抑制细胞增殖^[39]。circ-SHKBP1直接与热休克蛋白90(heat shock protein 90, HSP90)结合, 通过与泛素连接酶含STIP1同源性和分子伴侣蛋白STUB1(STIP1 homologous and U box containing protein 1, STUB1)的结合位点竞争来减缓HSP90的降解, 阻断STUB1与HSP90相互作用, 抑制HSP90泛素化, 从而加速GC的发展。

3.4 调控GC化疗药物耐药

耐药肿瘤细胞能够将化疗药物包裹在外泌体中并运出胞外, 对GC的治疗造成很大困难。由于外泌体作为肿瘤微环境中的遗传交换载体, 耐药肿瘤细胞利用这一机制赋予敏感细胞抗药性^[40]。顺铂是晚期GC患者最重要的化疗药物之一, Safaei等^[41]报道, 卵巢癌细胞通过增强外泌体的释放主动排出抗癌药物顺铂以促进耐药。外泌体内容物circRNA在GC化疗耐药细胞间的传递中起到关键作用。

Yao等^[42]的研究证实, 外泌体circ-PVT1充当miR-30a-5p“海绵”作用, miR-30a-5p表达下调, 进而降低靶基因Yes相关蛋白1(Yes associated protein 1, YAP1)的表达, circ-PVT1敲除通过负靶向miR-30a-5p/YAP1轴调节GC细胞的自噬、侵袭和凋亡, 从而促进顺铂耐药。自噬在GC细胞耐药机制中起着至关重要的作用, 化疗药物诱导的异常激活的自噬可促进癌细胞的化疗耐药性。Yang等^[43]发现, 外泌体circ-0063526在GC组织和细胞中表达均增加, circ-0063526可通过外泌体作为“天然运输工具”这一载体在GC细胞之间传递, miR-449a表达下调促进丝氨酸羟甲基转移酶2(Serine

hydroxyl methyl transferase 2, SHMT2)表达, 继而通过自噬诱导顺铂耐药, 并且沉默circ-0063526对于抑制GC细胞转移和自噬以调控GC的发生发展具有重要意义。

4 外泌体circRNA相关信号通路在GC中的作用及中医药干预

4.1 外泌体circRNA通过靶向Akt/雷帕霉素靶蛋白(mTOR)通路调控GC

Akt/mTOR通路是介导肿瘤代谢稳态的经典信号通路之一, 有利于肿瘤的生长和转移^[44]。mTOR是属于磷酸肌醇3激酶(phosphoinositide 3 kinase, PI3K)相关蛋白激酶家族的一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶, 需要与其他结构和功能不同的蛋白亚基结合形成复合物才有催化活性。受生长因子刺激, Akt磷酸化激活mTORC1、mTORC2^[45]。mTORC1增加转录因子HIF-1 α 的表达水平, 增加糖酵解酶的翻译。Akt/mTOR通路能够促进能量合成代谢(如蛋白质合成), 并阻断分解代谢活性(如自噬), 最终有利于GC细胞的生长^[46]。

Zhang等^[47]报道, circ-NRIP1是具有表达上调水平极高的肿瘤启动子。此前实验验证过表达circ-NRIP1可提高GC细胞的增殖能力, 促进细胞的迁移和侵袭, 且circ-NRIP1正向调控Akt1的表达。研究检测circ-NRIP1的表达明显上调, 同时Akt/mTOR信号通路中Akt1、mTOR的蛋白水平显著上调; 进一步机制分析发现, 外泌体circ-NRIP1通过靶向调控miRNA-149-5p, 激活Akt/mTOR信号通路, 从而促进肿瘤的生长和向远处迁移。Peng等^[48]证实, hsa-circ-0010882作为一种致癌分子, 在GC患者血浆中高表达, 与不良预后相关。hsa-circ-0010882通过调节PI3K/Akt/mTOR信号通路, 在GC细胞系的增殖、迁移和侵袭性基因型中发挥重要作用, 可作为GC患者的一个潜在的预后生物标志物。

4.2 外泌体circRNA通过靶向STAT3信号通路调控GC

信号传导及转录激活蛋白(signal transducer and activator of transcription, STAT)是一种能与DNA结合的蛋白质独特家族, 可以促进DNA相关转录表达。STAT蛋白家族中包含7种STAT, 其中STAT3

被认为是调节抗肿瘤的核心, 参与细胞增殖、存活、分化和血管生成等多种生物过程^[49], 在JAK/STAT3信号通路中, STAT3主要受上游的几种配体、酪氨酸激酶相关受体、Janus激酶(Janus kinase, JAK)诱导激活, JAK激酶被激活后催化酪氨酸激酶残基发生磷酸化并形成STAT3停靠位点并招募STAT3, STAT3与受体相结合并在JAK激酶的作用下实现磷酸化活化, 其活化后脱离受体在细胞质中形成同源/异源二聚体, 入核与基因启动子结合调控基因转录和表达^[50]。JAK/STAT3信号通路是细胞内传递信号的重要途径, 介导细胞增殖、分化、迁移、调亡等多种生物学反应促进实体肿瘤进展^[51]。

李磊等^[52]用实时荧光定量PCR、蛋白质印迹检测显示, 姜黄素处理可使GC细胞中Hsp90、JAK2和STAT3的基因转录、蛋白表达水平降低, 证实HSP90-JAK/STAT3信号通路激活与GC有关。傅军等^[53]进一步证明, JAK2/STAT3信号通路可通过调控细胞自噬进而影响GC细胞微血管生成能力。JAK2/STAT3通路的过度活化在胃泌素促进GC细胞EMT中也发挥了重要作用, JAK2/STAT3通路可以调控EMT过程从而促进GC发生^[54]。Yang等^[55]发现, circUBE2Q2存在于GC细胞释放的外泌体中, 可能是一种新的GC增殖促进因子和预后标志。miR-370-3p作为在GC细胞中可被circUBE2Q2吸收的潜在miRNA, 通过FISH测定证实了miR-370-3p与circUBE2Q2在细胞质中共定位, 表明两者存在结合靶点并相互作用。通过挽救实验敲除circUBE2Q2, GC细胞中STAT3通路相关因子的蛋白水平高表达, 外泌体circUBE2Q2可作为miR-370-3p的分子海绵, 激活STAT3通路促进GC细胞增殖。同时胞外通过外泌体传递circUBE2Q2, 以促进细胞间的通讯并最终促进GC的恶性进展。胞内实验发现, 联合敲除circUBE2Q2和STAT3抑制剂后抑制肿瘤的生长相比于单独敲除circUBE2Q2更显著。

4.3 外泌体circRNA通过靶向Wnt/ β -catenin信号通路调控GC

Wnt/ β -catenin信号通路在正常胚胎发育、组织分化、体内平衡和肿瘤发生中发挥重要作用。Wnt/ β -catenin信号通路在GC中的机制主要包括配

体表达增加、基因突变、表观遗传变化和ncRNA异常调控等^[56]。该通路激活的特征是 β -catenin的细胞质积累和核易位, 并与TCF/淋巴增强因子(LEF)等转录因子形成复合物, 最终诱导靶基因如EMT相关基因的变异^[57]。

此前研究证实部分circRNAs能在癌症进展过程中激活Wnt/ β -catenin信号通路, 例如Wang等^[58]发现, GC细胞中circ-SMAD4的表达增强, 细胞核中circ-SMAD4募集TCF4促进 β -catenin转录, 从而导致Wnt/ β -catenin通路的激活。该研究最终证实, circ-SMAD4通过激活 β -catenin调节的Wnt/ β -catenin通路促进GC的发生。circ-LMO7作为miR-30a-3p海绵激活Wnt/ β -catenin信号通路, 促进GC细胞的增殖、迁移和侵袭^[59]。Chen等^[60]发现, GC细胞其外泌体中circ-0091741表达显著上调, miR-330-3p表达下调, 经生物信息学分析含三方基序14(tripartite motif-containing14, TRIM14) mRNA的3'UTR序列与miR-330-3p存在结合位点, circ-0091741通过竞争性结合miR-330-3p并抑制其表达, 解除miR-183a-3p对TRIM14蛋白的表达抑制作用并增加了TRIM14的表达, TRIM14可以通过稳定散乱片段极性蛋白2(Dsh homolog 2, Dvl2)进而引起Wnt/ β -catenin信号通路的激活, Dvl2和 β -catenin的蛋白水平表达上调, 促进GC细胞自噬和化疗耐药作用。

4.4 中医药干预相关信号通路调控GC

4.4.1 中医药干预Akt/mTOR通路调控GC

王昌高等^[61]选取人GC/顺铂耐药细胞株BGC-823/DDP作为研究对象, 不同浓度处理后胡桃醌可明显降低膜联蛋白A2(ANXA2)、切除修复交叉互补基因1(ERCC1)、p-Akt、p-mTOR的蛋白表达水平, 抑制BGC-823/DDP中Akt和mTOR磷酸化, 进而抑制Akt/mTOR信号通路的传导。李伟等^[62]采用一定梯度浓度的姜黄素(curcumin, CUR)经处理后的BGC-823和MKN-28的研究发现, 姜黄素上调GC细胞中B淋巴细胞瘤-2基因(Bcl-2)相关X蛋白(Bax)、活化胱天蛋白酶3(active-caspase-3)和-9蛋白水平的表达, 下调Bcl-2、p-Akt、p-mTOR的蛋白表达(图1)。霍浩然等^[63]选取人GCS-7901细胞, 分为对照组、三个不同浓度(200、400、800 μ g/mL)川芎嗪组和LY294002(PI3K特异性抑制剂, 5 μ g/mL)干预组, 结果显示, 经川芎嗪高剂量干预后, p-

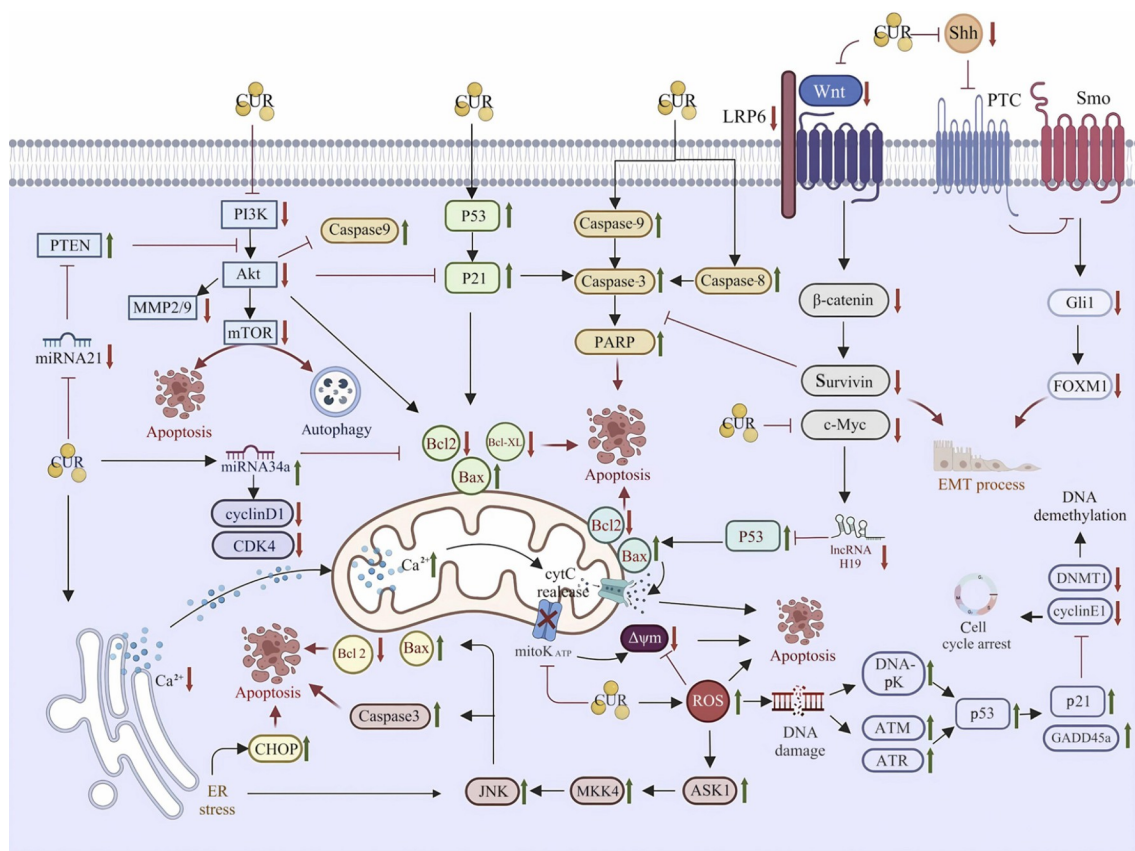


图1 CUR干预Akt/mTOR通路调控GC机制示意图

PI3K、p-Akt、p-mTOR表达显著下调，裂解Caspase-3蛋白表达上调，提高微管相关蛋白1轻链3(LC3)-II/LC3-I比值，抑制Akt/mTOR通路，诱导GC细胞自噬同时抑制增殖。

4.4.2 中医药干预STAT3通路调控GC

马翠翠等^[64]采用GC细胞SGC-7901细胞悬液皮下接种于裸鼠右侧腋窝处，建立裸鼠皮下移植瘤模型，相比于单纯西药对照组，益气健脾抗癌方可以发挥更明显的祛邪与扶正同治的作用及效果。益气健脾抗癌方干预后发现，JAK2、STAT3、P-STAT3、HIF-1 α 蛋白表达水平下调，证实其机制可能是通过影响JAK2/STAT3信号通路，从而抑制GC细胞的增殖、侵袭及转移。汪正^[65]用构建STAT3通路的关键蛋白分子STAT3过表达质粒转染GC细胞，通过划痕及Transwell实验证明，GC细胞的迁移和侵袭能力提高，但经小豆蔻明干预后GC细胞的迁移和侵袭能力却受到了抑制。采用免疫印迹的方法，过表达STAT3，小豆蔻明干预后E-cadherin的表达上调，N-cadherin、 α 平滑肌肌动

蛋白(α -SMA)、Vimentin和Snail的表达明显下降，证实小豆蔻明通过作用于STAT3信号通路来抑制GC细胞的迁移、侵袭及EMT，并通过该通路来促进GC细胞的凋亡。

4.4.3 中医药干预Wnt/ β -catenin通路调控GC

贾永森等^[66]采用MTT法对通芪方作用24、48和72 h后的MGC-803细胞进行细胞毒性实验，研究显示通芪方有较强抑制作用。通芪方通过下调Wnt/ β -catenin通路中关键分子增殖细胞核抗原(PCNA)、CyclinD1等周期相关分子的表达调节MGC803细胞周期，并且药效存在“时间饱和”现象，即在48 h时药物作用达到平台期，S期细胞比率显著下降，可在G₁期有效抑制MGC803细胞进行干预。李灵^[67]通过MNNG构建大鼠CAG模型，通过PCR法观察到，在Wnt/ β -catenin信号通路的调节方面，与模型组相比，半夏泻心汤高剂量组Wnt、Dv、 β -catenin、CyclinD1和C-myc mRNA表达显著降低；同时APC的mRNA表达上调，抑制Wnt/ β -catenin信号通路的异常激活，从而抑制胃黏膜上皮

表1 外泌体circRNA在GC发生发展中的作用

外泌体circRNA	表达水平	作用途径	功能	参考文献
circAXIN1	上调	Wnt/ β -catenin	促进细胞增殖和迁移	[29]
circ_0088300	上调	miR-1305	促进细胞的增殖、迁移和侵袭	[32]
circ_0001190	下调	miR-586/SOSTDC1	促进细胞凋亡	[33]
circ-RanGAP1	上调	miR-877-3p	促进细胞侵袭和转移	[36]
circSHKBP1	上调	miR-582-3p	促进血管生成	[40]
circSHKBP1	上调	HSP90	阻断STUB1与HSP90相互作用, 抑制HSP90泛素化	[41]
circ-PVT1	上调	miR-30a-5p/YAP1	调节自噬、侵袭和凋亡, 促进耐药	[44]
circ_0063526	上调	miR-449a、SHMT2	促进耐药	[45]
circNRIP1	上调	miR-149-5p、Akt/mTOR	促进细胞增殖、迁移	[49]
Hsa_circ_0010882	上调	PI3K/Akt/mTOR	促进GC细胞的增殖、迁移和侵袭	[50]
circUBE2Q2	上调	miR-370-3p、STAT3	促进GC细胞增殖	[60]
circ_SMAD4	上调	Wnt/ β -catenin	促进GC的发生	[65]
circ_0091741	上调	Wnt/ β -catenin	促进GC细胞自噬和化疗耐药	[66]

层细胞和固有层细胞的增殖并加速其凋亡, 阻止胃黏膜上皮层细胞和固有层细胞发生突变。

5 总结

GC形成的机制涉及到多种分子和信号通路所构成的复杂网络, 大量研究已证实, 外泌体circRNA与GC信号通路密切相关, 通过作用于某靶点诱导信号通路的激活、抑制与转导, 调控GC细胞增殖、凋亡、EMT、血管生成、化疗耐药, 参与GC的发生发展。基于国内外基础实验研究总结出: 外泌体circRNA主要通过Akt/mTOR、STAT3、Wnt/ β -catenin等相关信号通路在调控GC中发挥重要作用(表1)。

中医认为胃癌的形成是一个慢性化且复杂的过程, 多虚实夹杂, 传统中医药凭借多靶点多环节多途径的优势在治疗肿瘤方面具有明显优势。外泌体及circRNA调控基因转录后表达是近年来生物信息医学领域研究的热点, 可从中医药干预此途径以改善胃黏膜及调节肿瘤微环境, 在分子作用机制层面拓展了新的研究思路。然而中医药治疗胃癌的信号通路并不是独立存在, 目前国内外相关文献多为针对某一单一通路的作用机制进行研究, 对信号通路之间的相互联系研究少之又少, 后续对通路间的串扰关系还需充分验证, 为临床应用提供更完整的理论依据。

参考文献

[1] Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(3): 209-249

[2] Chen W, Zheng R, Baade PD, et al. Cancer statistics in China, 2015. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66(2): 115-132

[3] Di L, Wu H, Zhu R, et al. Multi-disciplinary team for early gastric cancer diagnosis improves the detection rate of early gastric cancer. *BMC Gastroenterol*, 2017, 17(1): 147

[4] Smyth EC, Nilsson M, Grabsch HI, et al. Gastric cancer. *Lancet*, 2020, 396(10251): 635-648

[5] Wei L, Sun J, Zhang N, et al. Noncoding RNAs in gastric cancer: implications for drug resistance. *Mol Cancer*, 2020, 19(1): 62

[6] Biagioni A, Skalamera I, Peri S, et al. Update on gastric cancer treatments and gene therapies. *Cancer Metastasis Rev*, 2019, 38(3): 537-548

[7] Jung G, Hernández-Illán E, Moreira L, et al. Epigenetics of colorectal cancer: biomarker and therapeutic potential. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2020, 17(2): 111-130

[8] Zhang H, Jiang L, Sun D, et al. CircRNA: a novel type of biomarker for cancer. *Breast Cancer*, 2018, 25(1): 1-7

[9] Wang Y, Liu J, Ma J, et al. Exosomal circRNAs: biogenesis, effect and application in human diseases. *Mol Cancer*, 2019, 18(1): 116

[10] Li Y, Zheng Q, Bao C, et al. Circular RNA is enriched and stable in exosomes: a promising biomarker for cancer diagnosis. *Cell Res*, 2015, 25(8): 981-984

[11] Yan Y, Fu G, Ye Y, et al. Exosomes participate in the carcinogenesis and the malignant behavior of gastric

- cancer. *Scandinavian J Gastroenterol*, 2017, 52(5): 499-504
- [12] Zhang L, Yu D. Exosomes in cancer development, metastasis, and immunity. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*, 2019, 1871(2): 455-468
- [13] He C, Zheng S, Luo Y, et al. Exosome theranostics: biology and translational medicine. *Theranostics*, 2018, 8(1): 237-255
- [14] Kalluri R, LeBleu VS. The biology, function, and biomedical applications of exosomes. *Science*, 2020, 367(6478): eaau6977
- [15] Jafari A, Babajani A, Abdollahpour-Alitappeh M, et al. Exosomes and cancer: from molecular mechanisms to clinical applications. *Med Oncol*, 2021, 38(4): 45
- [16] Ning X, Zhang H, Wang C, et al. Exosomes released by gastric cancer cells induce transition of pericytes into cancer-associated fibroblasts. *Med Sci Monit*, 2018, 24: 2350-2359
- [17] Jin Y, Xing J, Xu K, et al. Exosomes in the tumor microenvironment: Promoting cancer progression. *Front Immunol*, 2022, 13: 1025218
- [18] Whiteside TL. Tumor-derived exosomes and their role in cancer progression. *Adv Clin Chem*, 2016, 74: 103-141
- [19] de Mello RA, Amaral GA, Neves NM, et al. Current and potential biomarkers in gastric cancer: a critical review of the literature. *Future Oncol*, 2021, 17(25): 3383-3396
- [20] Takahashi R, Prieto-Vila M, Hironaka A, et al. The role of extracellular vesicle microRNAs in cancer biology. *Clin Chem Lab Med*, 2017, 55(5): 648
- [21] Kinoshita T, Yip KW, Spence T, et al. MicroRNAs in extracellular vesicles: potential cancer biomarkers. *J Hum Genet*, 2017, 62(1): 67-74
- [22] Chen L, Wang L, Zhu L, et al. Exosomes as drug carriers in anti-cancer therapy. *Front Cell Dev Biol*, 2022, 10: 728616
- [23] Terrón-Camero LC, Andrés-León E. NGS methodologies and computational algorithms for the prediction and analysis of plant circular RNAs. *Methods Mol Biol*, 2021, 2362: 119-145
- [24] Wang C, Liu H. Factors influencing degradation kinetics of mRNAs and half-lives of microRNAs, circRNAs, lncRNAs in blood *in vitro* using quantitative PCR. *Sci Rep*, 2022, 12(1): 7259
- [25] Zhang P, Dai M. CircRNA: a rising star in plant biology. *J Genet Genomics*, 2022, 49(12): 1081-1092
- [26] Zang J, Lu D, Xu A. The interaction of circRNAs and RNA binding proteins: an important part of circRNA maintenance and function. *J Neurosci Res*, 2020, 98(1): 87-97
- [27] Peng Y, Xu Y, Zhang X, et al. A novel protein AXIN1-295aa encoded by circAXIN1 activates the Wnt/ β -catenin signaling pathway to promote gastric cancer progression. *Mol Cancer*, 2021, 20(1): 158
- [28] Wang X, Ding X, Nan L, et al. Investigation of the roles of exosomes in colorectal cancer liver metastasis. *Oncol Rep*, 2015, 33(5): 2445-2453
- [29] Qu JL, Qu XJ, Zhao MF, et al. Gastric cancer exosomes promote tumour cell proliferation through PI3K/Akt and MAPK/ERK activation. *Digestive Liver Dis*, 2009, 41(12): 875-880
- [30] Shi H, Huang S, Qin M, et al. Exosomal circ_0088300 derived from cancer-associated fibroblasts acts as a miR-1305 sponge and promotes gastric carcinoma cell tumorigenesis. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 676319
- [31] Liu C, Yang J, Zhu F, et al. Exosomal circ_0001190 regulates the progression of gastric cancer via miR-586/SOSTDC1 Axis. *Biochem Genet*, 2022, 60(6): 1895-1913
- [32] 汪洁, 苏丽清, 黄淑铃, 等. 外泌体中环状RNA在癌症早期诊断中的研究进展. *医学综述*, 2022, 28(12): 2373-2378
- [33] Whiteside TL. The role of tumor-derived exosomes in epithelial mesenchymal transition (EMT). *Transl Cancer Res*, 2017, 6(S1): S90-S92
- [34] Lu J, Wang Y, Yoon C, et al. Circular RNA circ-RanGAP1 regulates VEGFA expression by targeting miR-877-3p to facilitate gastric cancer invasion and metastasis. *Cancer Lett*, 2020, 471: 38-48
- [35] Asprițoiu VM, Stoica I, Bleotu C, et al. Epigenetic regulation of angiogenesis in development and tumors progression: potential implications for cancer treatment. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 689962
- [36] Momeny M, Sabourinejad Z, Zarrinrad G, et al. Anti-tumour activity of tivozanib, a pan-inhibitor of VEGF receptors, in therapy-resistant ovarian carcinoma cells. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 45954
- [37] Chang SH, Lu YC, Li X, et al. Antagonistic function of the RNA-binding protein HuR and miR-200b in post-transcriptional regulation of vascular endothelial growth factor- α expression and angiogenesis. *J Biol Chem*, 2013, 288(7): 4908-4921
- [38] Xie M, Yu T, Jing X, et al. Exosomal circSHKBP1 promotes gastric cancer progression via regulating the miR-582-3p/HUR/VEGF axis and suppressing HSP90 degradation. *Mol Cancer*, 2020, 19(1): 112
- [39] Du WW, Fang L, Yang W, et al. Induction of tumor apoptosis through a circular RNA enhancing Foxo3 activity. *Cell Death Differ*, 2017, 24(2): 357-370
- [40] Mashouri L, Yousefi H, Aref AR, et al. Exosomes: composition, biogenesis, and mechanisms in cancer metastasis and drug resistance. *Mol Cancer*, 2019, 18(1): 75
- [41] Safaei R, Larson BJ, Cheng TC, et al. Abnormal

- lysosomal trafficking and enhanced exosomal export of cisplatin in drug-resistant human ovarian carcinoma cells. *Mol Cancer Ther*, 2005, 4(10): 1595-1604
- [42] Yao W, Guo P, Mu Q, et al. Exosome-derived circ-PVT1 contributes to cisplatin resistance by regulating autophagy, invasion, and apoptosis via miR-30a-5p/YAP1 axis in gastric cancer cells. *Cancer BioTher RadioPharms*, 2021, 36(4): 347-359
- [43] Yang G, Tan J, Guo J, et al. Exosome-mediated transfer of circ_0063526 enhances cisplatin resistance in gastric cancer cells via regulating miR-449a/SHMT2 axis. *Anti-Cancer Drugs*, 2022, 33(10): 1047-1057
- [44] Xia P, Xu XY. PI3K/Akt/mTOR signaling pathway in cancer stem cells: from basic research to clinical application. *Am J Cancer Res*, 2015, 5(5): 1602-1609
- [45] Szwed A, Kim E, Jacinto E. Regulation and metabolic functions of mTORC1 and mTORC2. *Physiol Rev*, 2021, 101(3): 1371-1426
- [46] Noser AA, Abdelmonsef AH, El-Naggar M, et al. New amino acid schiff bases as anticancer agents via potential mitochondrial complex i-associated hexokinase inhibition and targeting AMP-protein kinases/mTOR signaling pathway. *Molecules*, 2021, 26(17): 5332
- [47] Zhang X, Wang S, Wang H, et al. Circular RNA circNRIP1 acts as a microRNA-149-5p sponge to promote gastric cancer progression via the AKT1/mTOR pathway. *Mol Cancer*, 2019, 18(1): 20
- [48] Peng Y K, Pu K, Su H X, et al. Circular RNA hsa_circ_0010882 promotes the progression of gastric cancer via regulation of the PI3K/Akt/mTOR signaling pathway. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2020, 24(3): 1142-1151
- [49] Hanlon MM, Rakovich T, Cunningham CC, et al. STAT3 mediates the differential effects of oncostatin M and TNF α on RA synovial fibroblast and endothelial cell function. *Front Immunol*, 2019, 10: 2056
- [50] Zou S, Tong Q, Liu B, et al. Targeting STAT3 in cancer immunotherapy. *Mol Cancer*, 2020, 19(1): 145
- [51] 李帅帅, 于红红, 田维毅. 中医药防治动脉粥样硬化炎症反应相关信号通路研究进展. *中国实验方剂学杂志*, 2020, 26(23): 180-186
- [52] 李磊, 陈志武. 姜黄素对胃癌细胞增殖、迁移及Hsp90/JAK/STAT3通路的影响. *安徽医科大学学报*, 2019, 54(03): 448-451, 457
- [53] 傅军, 傅玉春, 张晓雲, 等. JAK2/STAT3信号通路对胃癌血管生成的影响. *蚌埠医学院学报*, 2019, 44(6): 701-704
- [54] 罗振国, 朱国琴, 许海尘, 等. 胃泌素通过JAK2/STAT3信号通路调控胃癌细胞上皮间质转化. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2017, 37(12): 1557-1561
- [55] Yang J, Zhang X, Cao J, et al. Circular RNA UBE2Q2 promotes malignant progression of gastric cancer by regulating signal transducer and activator of transcription 3-mediated autophagy and glycolysis. *Cell Death Dis*, 2021, 12(10): 910
- [56] Ji C, Yang L, Yi W, et al. Capillary morphogenesis gene 2 maintains gastric cancer stem-like cell phenotype by activating a Wnt/ β -catenin pathway. *Oncogene*, 2018, 37(29): 3953-3966
- [57] Chiurillo MA. Role of the Wnt/ β -catenin pathway in gastric cancer: an in-depth literature review. *World J Exp Med*, 2015, 5(2): 84-102
- [58] Wang L, Li B, Yi X, et al. Circ_SMAD4 promotes gastric carcinogenesis by activating wnt/ β - catenin pathway. *Cell Proliferation*, 2021, 54(3): e12981
- [59] Cao J, Zhang X, Xu P, et al. Circular RNA circLMO7 acts as a microRNA-30a-3p sponge to promote gastric cancer progression via the WNT2/ β -catenin pathway. *J Exp Clin Cancer Res*, 2021, 40(1): 6
- [60] Chen Y, Liu H, Zou J, et al. Exosomal circ_0091741 promotes gastric cancer cell autophagy and chemoresistance via the miR-330-3p/TRIM14/Dvl2/Wnt/ β -catenin axis. *Hum Cell*, 2023, 36(1): 258-275
- [61] 王昌高, 咎慧, 张万里, 等. 胡桃醌对胃癌细胞耐药性及细胞中ANXA2、ERCC1表达和AKT/mTOR信号通路的影响. *胃肠病学和肝病杂志*, 2020, 29(2): 136-141
- [62] 李伟, 周颖, 杨晋, 等. 姜黄素诱导不同分化程度胃癌细胞凋亡及保护性自噬. *中华肿瘤杂志*, 2017, 39(7): 490-6
- [63] 霍浩然, 秦瑞峰, 薛佳栋, 等. 川芎嗪抑制人胃癌SGC-7901细胞增殖的机制研究. *世界中西医结合杂志*, 2020, 15(10): 1819-23
- [64] 马翠翠. 基于JAK2/STAT3信号通路探讨益气健脾抗癌方对胃癌荷瘤裸鼠的影响. *辽宁中医药大学*, 2022
- [65] 汪正. 小豆蔻明通过抑制STAT3信号通路对胃癌细胞迁移和侵袭影响[D]. *扬州大学*, 2021
- [66] 贾永森, 江春花, 韩炳生, 等. 通芪方对胃癌MGC803细胞周期和Wnt/ β -catenin信号通路的影响. *中华中医药学刊*, 2016, 34(5): 1126-1129
- [67] 李灵. 半夏泻心汤对慢性萎缩性胃炎大鼠Wnt/ β -catenin信号通路的影响[D]. *山东中医药大学*, 2020