

DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2025.06.003

· 基础研究 ·

环状RNA hsa_circ_0081621 促进人喉鳞状细胞癌细胞的恶性生物学行为

刘胜辉^{1,2}, 艾雪迎^{1,2}, 徐玉茹¹, 李姝琪^{1,2}, 刘猛¹, 胡国斌¹, 单保恩^{2,3} (1. 河北医科大学第四医院 耳鼻喉科, 河北石家庄 050011; 2. 河北医科大学第四医院 科研中心, 河北 石家庄 050011; 3. 河北医科大学第四医院 肿瘤研究所, 河北 石家庄 050011)

[摘要] **目的:** 探究环状RNA hsa_circ_0081621 对人喉鳞状细胞癌 AMC-HN-8 和 TU177 细胞恶性生物学行为的影响。**方法:** 常规培养 AMC-HN-8 和 TU177 细胞, 用转染试剂将 si-NC、si-hsa_circ_0081621、空载体(vector)和 hsa_circ_0081621 过表达载体(hsa_circ_0081621-OE)转染至 AMC-HN-8 和 TU177 细胞, 分别记作 si-NC、si-hsa_circ_0081621、vector 和 hsa_circ_0081621-OE 组。用 CCK-8 法、克隆形成实验、划痕愈合实验和 Transwell 小室实验分别检测敲减或过表达 hsa_circ_0081621 对 AMC-HN-8 和 TU177 细胞增殖、迁移和侵袭能力的影响。**结果:** 在 AMC-HN-8 和 TU177 中成功地敲减或过表达了 hsa_circ_0081621; 敲减或过表达 hsa_circ_0081621 能显著抑制或促进 AMC-HN-8 和 TU177 细胞的增殖、迁移和侵袭能力($P < 0.01$ 或 $P < 0.001$ 或 $P < 0.0001$)。**结论:** hsa_circ_0081621 可促进人喉鳞状细胞癌 AMC-HN-8 和 TU177 细胞的恶性生物学行为。**[关键词]** 喉鳞状细胞癌; AMC-HN-8 细胞; TU177 细胞; 环状RNA; hsa_circ_0081621; 增殖; 迁移; 侵袭**[中图分类号]** R739.65 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385x(2025) 06-0579-08

Circular RNA hsa_circ_0081621 promotes malignant biological behavior of human laryngeal squamous cell carcinoma cells

LIU Shenghui^{1,2}, AI Xueying^{1,2}, XU Yuru¹, LI Shuqi^{1,2}, LIU Meng¹, HU Guobin¹, SHAN Baoen^{2,3} (1. Department of Otolaryngology, Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050011, Hebei, China; 2. Department of Research Center, Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050011, Hebei, China; 3. Tumor Research Institute, Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050011, Hebei, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effects of circular RNA (circRNA) hsa_circ_0081621 on the malignant biological behaviors of human laryngeal squamous cell carcinoma AMC-HN-8 and TU177 cells. **Methods:** AMC-HN-8 and TU177 cells were routinely cultured. si-NC, si-hsa_circ_0081621, empty vector (vector), and hsa_circ_0081621 overexpression vector (hsa_circ_0081621-OE) were transfected into AMC-HN-8 and TU177 cells, namely si-NC, si-hsa_circ_0081621, vector, and hsa_circ_0081621-OE groups, respectively. The effects of knockdown or overexpression of hsa_circ_0081621 on the proliferation, migration, and invasion of AMC-HN-8 and TU177 cells were detected by CCK-8 assay, colony formation assay, scratch wound healing assay, and Transwell chamber assay. **Results:** Successful knockdown or overexpression of hsa_circ_0081621 was achieved in AMC-HN-8 and TU177 cells. hsa_circ_0081621 knockdown significantly inhibited while hsa_circ_0081621 overexpression significantly promoted the proliferation, migration, and invasion of AMC-HN-8 and TU177 cells ($P < 0.01$ or $P < 0.001$ or $P < 0.0001$). **Conclusion:** hsa_circ_0081621 promotes the malignant biological behaviors of human laryngeal squamous cell carcinoma AMC-HN-8 and TU177 cells. **[Key words]** laryngeal squamous cell carcinoma (LSCC); AMC-HN-8 cell; TU177 cell; circular RNA; hsa_circ_0081621; proliferation; migration; invasion

[Chin J Cancer Biother, 2025, 32(6): 579-586. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2025.06.003]

喉癌是最常见头颈部恶性肿瘤之一, 喉鳞状细胞癌(laryngeal squamous cell carcinoma, LSCC)为其主要病理类型, 占95%以上^[1]。目前, 治疗手段主要有手术、放化疗、靶向及免疫治疗等, 由于LSCC患者早期缺乏典型临床表现, 很多患者在就诊时已处于晚期^[2], 治疗效果不佳, 5年生存率没有显著提高^[3]。研究LSCC发生发展的分子机制和转移特点, 为临床

诊断和治疗提供有效治疗靶点和预后标志物成为新的研究方向。近年来, 越来越多的研究^[4-5]证实, 环状RNA(circular RNA, circRNA)在转录体中广泛存在,

[基金项目] 河北省省级科技计划 [No.(2020)20377709D]

[作者简介] 刘胜辉(1982—), 男, 博士, 副主任医师, 硕士生导师, 主要从事头颈部肿瘤治疗的研究

[通信作者] 单保恩(扫码获取作者联系方式)



其异常表达可以影响包括癌症在内的很多疾病的发生发展过程,但有关头颈部肿瘤的相关研究较少。本课题组在前期研究^[6]中,用荧光原位杂交技术(fluorescence *in situ* hybridization, FISH)检测 67 例 LSCC 组织中 hsa_circ_0081621 表达及其对患者预后情况分析发现,其高表达与 LSCC 患者预后不良相关;T 分期、淋巴结转移和 hsa_circ_0081621 表达是 LSCC 患者的独立预后因素,但 hsa_circ_0081621 在 LSCC 发生发展中发挥的生物学功能及其作用机制还不十分清楚。因此,本研究构建针对 hsa_circ_0081621 的过表达载体和 siRNA,通过多种细胞功能实验检测 hsa_circ_0081621 在 LSCC 发生发展中发挥的生物学功能,为临床诊断和治疗提供有效治疗靶点和预后标志物。

1 材料与方法

1.1 细胞与主要试剂

人 LSCC 细胞 AMC-HN-8 和 TU177 购自北京北纳创联生物技术研究院,由河北医科大学第四医院科研中心保存。逆转录试剂盒购自中实同创公司,si-NC 和 si-hsa_circ_0081621 由广州锐博生物技术有限公司设计合成,pLC5-ciR 空白载体(vector)和 pLC5-ciR-hsa_circ_0081621 过表达质粒(hsa_circ_0081621-OE)由广州吉赛生物科技公司配制。

1.2 细胞培养、转染与分组

TU177 细胞用 RPMI 1640 完全培养基(含 10% 胎牛血清、100 U/ml 青霉素和 100 μg/mL 链霉素)培养,AMC-HN-8 细胞用 DMEM 完全培养基(含 10% 胎牛血清、100 U/mL 青霉素和 100 μg/mL 链霉素),在 37 °C、5%CO₂ 条件下培养,每隔 1~2 d 换培养基 1 次,选择对数生长期的细胞进行后续实验。

构建敲减表达的 LSCC 细胞:取对数生长期的 AMC-HN-8 和 TU177 细胞接种于 6 孔板进行培养,待细胞汇合度为 30%~50% 时进行转染。制备转染复合物:将 5 μL si-NC 或 si-hsa_circ_0081621 加入 120 μL 无血清培养基中;在混合物中加入 12 μL 转染试剂(HiPerFect)室温下处理 15 min。弃去待转染细胞的培养基,将上述混合物与 1 863 μL 无血清培养基混匀后加入待转染的细胞中。培养 6 h 后换成完全培养基,继续培养 24~48 h。细胞分为 si-NC 组和 si-hsa_circ_0081621 组。

构建基因过表达 AMC-HN-8 和 TU177 细胞:取对数生长期的细胞接种于 6 孔板进行培养,待细胞汇合度达 70%~80% 时进行转染。制备转染复合物:将 2 μL 质粒加入 100 μL 无血清培养基,加入 12 μL 转染试剂(PolyFect),轻轻吹打后室温处理 15 min,加入

600 μL 完全培养基。弃去待转染细胞的培养基,将上述混合物和 3 mL 完全培养基加入待转染的细胞中,培养 24 h 后收集细胞,收集细胞进行后续实验。细胞分为 vector 组和 hsa_circ_0081621-OE 组。

1.3 qPCR 法检测各组 AMC-HN-8、TU177 细胞中 hsa_circ_0081621 表达

收集各组细胞,用 TRIzol 试剂提取细胞总 RNA,用逆转录试剂盒将其逆转录为 cDNA。取适量的 cDNA 模板进行 qPCR 检测,PCR 反应程序参数:95 °C 5 min,95 °C 15 s,58 °C 30 s,72 °C 30 s,共 40 个循环。以 U6 作为内参,采用 2^{-ΔΔCT} 法计算 hsa_circ_0081621 的相对表达量。以 GAPDH 作为后续实验的内参,将 circRNA 及线性 RNA 逆转录产物进行扩增,PCR 反应程序参数:98 °C 45 s,98 °C 10 s,58 °C 30 s,72 °C 1 min,共 35 个循环,72 °C 继续延伸 5 min。扩增产物进行琼脂糖凝胶电泳。取出凝胶,在 254 nm 波长的紫外灯下进行观察并拍照。切取 circRNA 对应的产物进行 Sanger 法基因测序。引物序列:hsa_circ_0081621 的正向引物为 5'-AATAAACTGACTGTTCGTGGCA-3',反向引物为 5'-GCAGCGAGCGGTTCTTCT-3';相应的线性 RNA 的正向引物为 5'-ATCCGACTCCCAGCCCACAAC-3',反向引物为 5'-TCCGTCAGCACCTCCTTCACC-3'。GAPDH 正向引物为 5'-GACCACAGTCCATGCCATCAC-3',反向引物为 5'-ACGCCTGCTTCACCACCTT-3';U6 正向引物为 5'-CTCGCTTCGGCAGCACA-3',反向引物为 5'-CTCGCTTCGGCAGCACA-3'。

1.4 克隆形成实验、CCK-8 法检测各组 AMC-HN-8、TU177 细胞的增殖能力

取各组 AMC-HN-8、TU177 细胞用完全培养基重悬,以 1 × 10³ 个/孔将其接种于 6 孔板中,培养 7~10 d 后出现肉眼可见的细胞集落时终止培养,用 PBS 清洗 3 次后每孔加入 4% 多聚甲醛固定 20 min,去除固定液,加入结晶紫染色 15 min,弃去染液后用自来水缓慢冲洗,将 6 孔板晾干后拍照并计数(以 ≥ 50 个细胞的集落为一个克隆),实验重复 3 次。

取各组 AMC-HN-8、TU177 细胞用完全培养基重悬,以 1 × 10³ 个/孔将其接种到 96 孔板。分别于细胞贴壁后 0、24、48、72、96 h 时向每孔中加入 10 μL CCK-8 试剂,继续培养 2 h,用酶标仪测定每孔细胞在 450 nm 波长处的光密度(D)值,以 D 值代表细胞的增殖能力。实验重复 3 次。

1.5 划痕愈合实验、Transwell 实验检测各组 AMC-HN-8、TU177 细胞的迁移和侵袭能力

划痕愈合实验:取各组 AMC-HN-8、TU177 细胞,用无血清培养基重悬,将细胞接种到 6 孔板中,培养至汇合度达 100% 时用 10 μL 无菌移液器吸头在板上

做垂直划痕,用PBS冲洗漂浮细胞后加入无血清培养基继续培养,在划痕后0和24 h在倒置相差显微镜下观察、拍照,测量划痕间距离,计算细胞的迁移面积百分比。实验重复3次。

Transwell侵袭实验:按照说明书将Matrigel基质胶和无血清培养基按1:7比例进行稀释。将Transwell小室放入24孔板,在上室中加入20 μ L稀释的基质胶,在细胞培养箱中处理过夜。取转染24 h后的各组AMC-HN-8、TU177细胞,用无血清培养基重悬至密度为 10^6 个/mL,在Transwell小室上室中加入200 μ L各组细胞悬液,下室中加入600 μ L完全培养基。培养24~48 h后取出上室,用棉签轻轻擦掉基质胶及细胞,PBS冲洗3次,用4%多聚甲醛固定20 min,加入结晶紫染色15 min,自来水缓慢冲洗,室温晾干,在倒置相差显微镜下($\times 100$)观察、拍照,随机观察5个视野,对穿膜细胞进行计数。实验重复3次。

Transwell迁移实验:无需铺胶,其他步骤同上。

1.6 统计学处理

所有实验数据经Excel整理后使用SPSS 26.0软件进行统计分析。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间的比较用 t 检验;计数资料以例数和百分率表示,两组间比较用卡方检验,所有统计检验均为双侧。以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 hsa_circ_0081621在AMC-HN-8细胞中表达水平明显高于TU77细胞

qPCR法检测结果(图1A)显示,hsa_circ_0081621在AMC-HN-8和TU177细胞中均有表达,但在AMC-HN-8细胞的表达水平明显高于TU177细胞($P < 0.001$)。

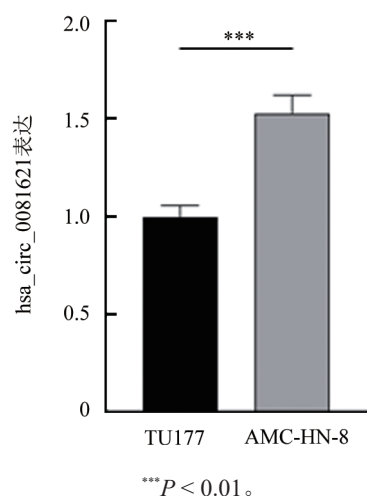


图1 qPCR法检测AMC-HN-8和TU177细胞 hsa_circ_0081621的相对表达量

2.2 在AMC-HN-8、TU177细胞中成功地敲减了 hsa_circ_0081621的表达

qPCR法检测结果(图2)显示,与si-NC组比较,si-hsa_circ_0081621组AMC-HN-8和TU177细胞中 hsa_circ_0081621表达水平均显著降低(均 $P < 0.001$)。实验结果说明,在AMC-HN-8和TU177细胞中成功地敲减了 hsa_circ_0081621的表达。

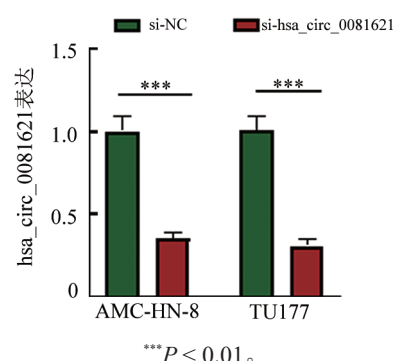


图2 qPCR法检测转染si-hsa_circ_0081621后AMC-HN-8、TU177细胞 hsa_circ_0081621的表达

2.3 敲减 hsa_circ_0081621表达能显著抑制AMC-HN-8和TU177细胞的克隆形成能力

克隆形成实验检测结果(图3)显示,与si-NC组比较,si-hsa_circ_0081621组AMC-HN-8和TU177细胞克隆形成数目均显著减少($P < 0.001$ 或 $P < 0.0001$)。实验结果表明,敲减 hsa_circ_0081621表达可显著降低AMC-HN-8和TU177细胞的克隆形成能力。

2.4 敲减 hsa_circ_0081621表达能显著抑制AMC-HN-8和TU177细胞的增殖能力

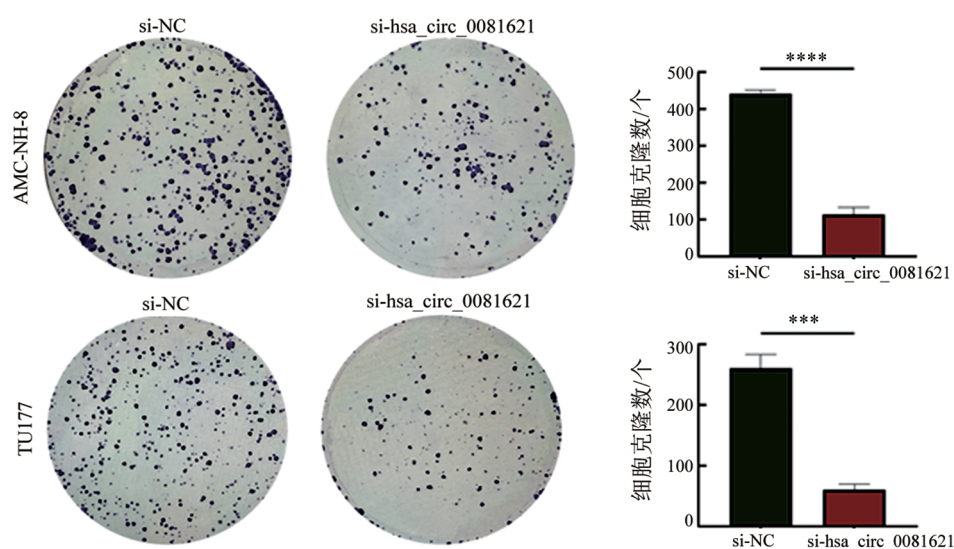
CCK-8法检测结果(图4)显示,si-NC转染组比较,si-hsa_circ_0081621组AMC-HN-8和TU177细胞的增殖能力均显著降低(均 $P < 0.001$)。实验结果表明,敲减 hsa_circ_0081621表达能显著抑制AMC-HN-8和TU177细胞的增殖能力。

2.5 敲减 hsa_circ_0081621表达显著抑制AMC-HN-8和TU177细胞的迁移和侵袭能力

划痕愈合实验检测结果(图5A)显示,与si-NC组比较,si-hsa_circ_0081621组AMC-HN-8和TU177细胞的划痕愈合率均显著下降(均 $P < 0.001$)。Transwell实验检测结果(图5B)显示,与si-NC组比较,si-hsa_circ_0081621组AMC-HN-8和TU177细胞的迁移和侵袭细胞数均明显下降(均 $P < 0.0001$)。

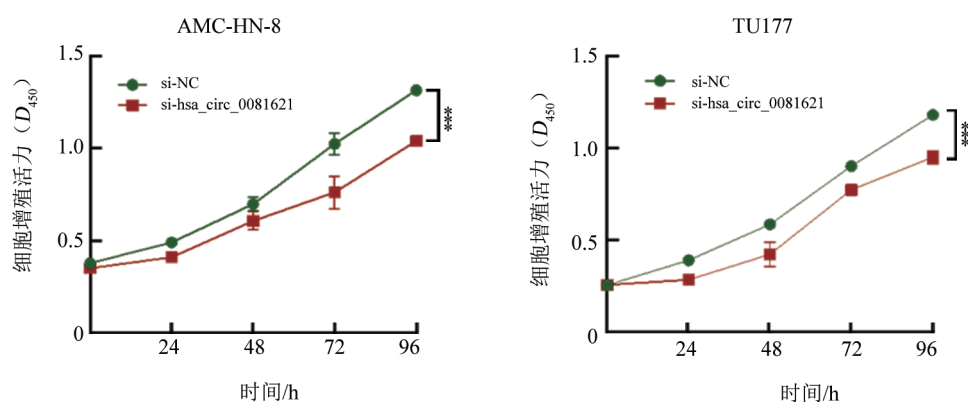
2.6 在AMC-HN-8和TU177细胞成功地过表达了 hsa_circ_0081621

qPCR法检测结果(图6)显示,与vector组比较,hsa_circ_0081621-OE组AMC-HN-8和TU177细胞 hsa_circ_0081621的表达均显著升高(均 $P < 0.01$)。



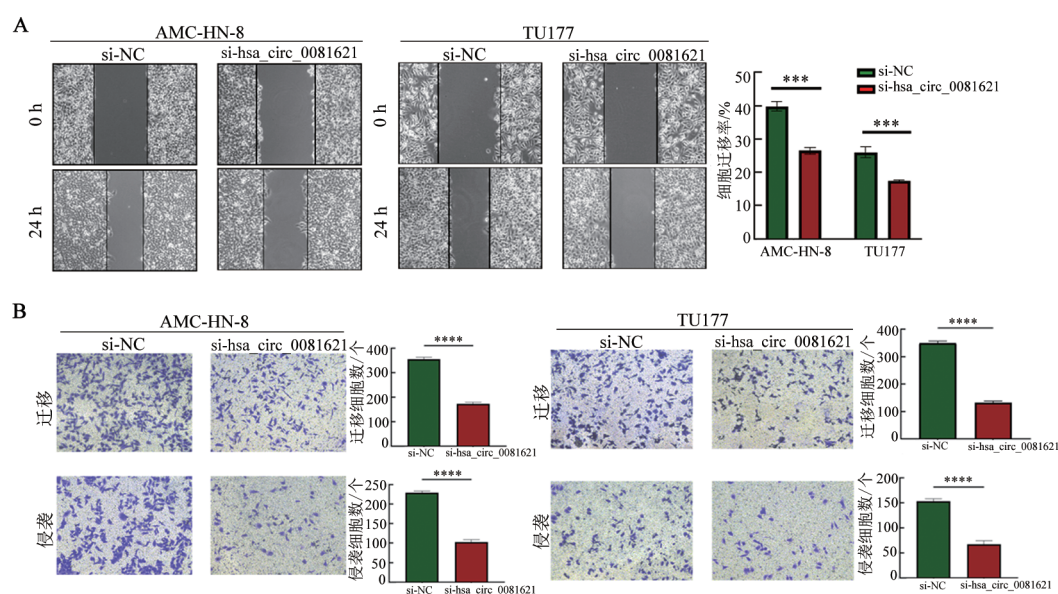
*** $P < 0.01$, **** $P < 0.0001$.

图3 克隆形成实验检测敲减 hsa_circ_0081621 表达对 AMC-HN-8 和 TU177 细胞克隆形成能力的影响($\times 40$)



*** $P < 0.001$.

图4 CCK-8 法检测敲减 hsa_circ_0081621 表达对 AMC-HN-8 和 TU177 细胞增殖能力的影响



*** $P < 0.01$, **** $P < 0.0001$.

图5 划痕愈合实验(A $\times 100$)和Transwell实验(B $\times 200$)检测敲低 hsa_circ_0081621 表达对 AMC-HN-8 和 TU177 细胞迁移和侵袭能力的影响

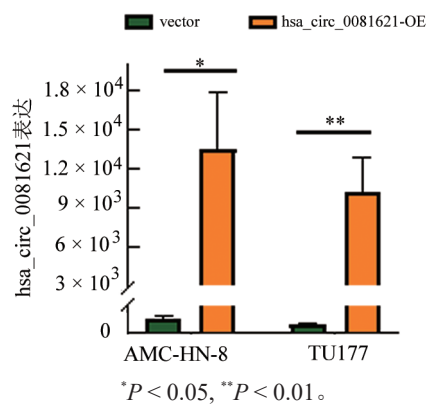


图6 qPCR法检测过转染pLC5-ciR-hsa_circ_0081621后 AMC-HN-8和TU177细胞中 hsa_circ_0081621 的表达

2.7 过表达 hsa_circ_0081621 能明显提升 AMC-HN-8

和TU177细胞的克隆形成能力

克隆形成实验检测结果(图7)显示,与 vector 组比较, hsa_circ_0081621-OE 组 AMC-HN-8 和 TU177 细胞形成的克隆数均明显增加($P < 0.0001$)。实验结果表明,过表达 hsa_circ_0081621 可明显提升 AMC-HN-8 和 TU177 细胞的克隆形成能力。

2.8 过表达 hsa_circ_0081621 能显著增强 AMC-HN-8 和 TU177 细胞的增殖能力

CCK-8 法检测结果(图8)显示,与 vector 组比较, hsa_circ_0081621-OE 组 AMC-HN-8 和 TU177 细胞的增殖能力均显著增强($P < 0.001$ 或 $P < 0.0001$)。实验结果表明,过表达 hsa_circ_0081621 能显著增强 AMC-HN-8 和 TU177 细胞的增殖能力。

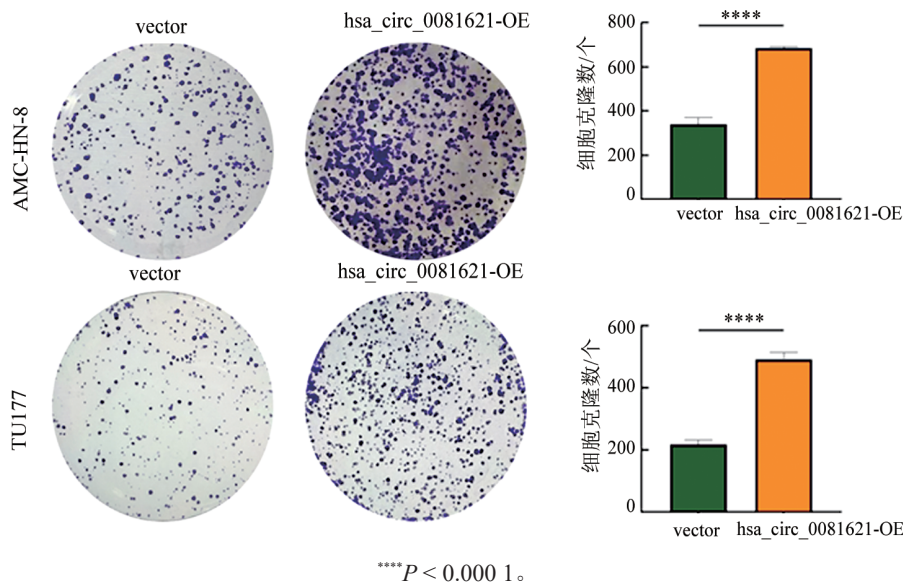


图7 克隆形成实验检测过表达 hsa_circ_0081621 对 AMC-HN-8 和 TU177 细胞克隆形成能力的影响($\times 40$)

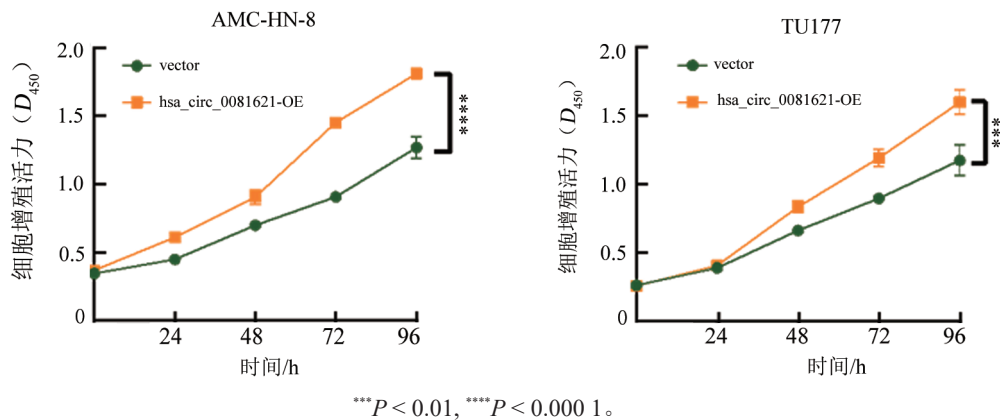


图8 CCK-8 法检测过表达 hsa_circ_0081621 表达对 AMC-HN-8 和 TU177 细胞增殖能力的影响

2.9 过表达 hsa_circ_0081621 能显著增强 AMC-HN-8 和 TU177 细胞的迁移和侵袭能力

划痕愈合实验检测结果(图9A)显示,与 vector

组比较, hsa_circ_0081621-OE 组 AMC-HN-8 和 TU177 细胞的划痕愈合能力均显著增强(均 $P < 0.0001$)。

Transwell 实验检测结果(图9B)显示,与 vector 组比较, hsa_circ_0081621-OE 组 AMC-HN-8 和

TU177 细胞的迁移和侵袭细胞数均显著增多(均 $P < 0.0001$)。

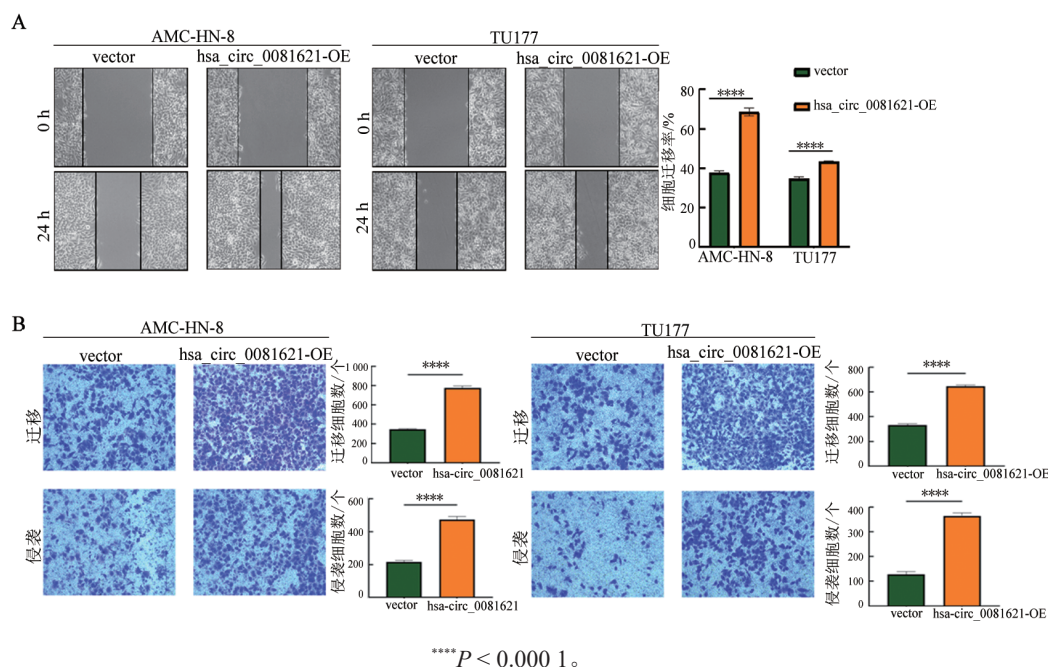


图9 划痕愈合实验(A × 100)和Transwell实验(B × 200)检测过表达 hsa_circ_0081621 对 AMC-HN-8 和 TU177 细胞迁移和侵袭能力的影响

3 讨论

近年来,随着高通量测序技术的发展,被发现的 circRNA 的种类越来越多^[7]。目前,已有超过 3 000 种 circRNA 被证实存在于各种人类细胞类型的转录组中^[8]。circRNA 的异常表达可以影响包括癌症在内的很多疾病发生发展过程。circRNA 通过参与并调控癌症发生发展的各阶段进程发挥重要作用。circRNA 可以竞争性结合 miRNA,发挥分子海绵作用,或者编码蛋白质或多肽,指导翻译,参与细胞内基因的调节和转录,影响肿瘤的发生发展^[9-11]。circRNA 持续调控细胞增殖信号、逃避生长抑制因子、损害分化信号、促进肿瘤转移和侵袭、诱导血管生成^[12-16]等,通过调节 Wnt/ β -catenin、MAPK/ERK 和 PTEN/PIK3/AKT^[17-18]等信号通路,参与肿瘤的发生发展。一些重要分子如 p53 和 KRAS 也参与 circRNA 的调控^[19-21]。circRNA 可以作为促癌因子或抑制因子在肿瘤中发挥作用,这两种 circRNA 在人体各组织和器官中的表达水平处于动态平衡状态,这种状态一旦被打破就有可能导致癌症的发生。

通过微阵列或 RNA 测序分析发现,组织中 circRNA 表达的广泛失调可导致癌症的发生发展^[22]。研究^[23]发现, circRNA 参与肺癌的发生发展,非小细胞肺癌中 hsa_circ_0037515 和 hsa_circ_0037516 的表

达量明显下降。circYAP1 可以抑制胃癌细胞的增殖和侵袭^[24]。circVAPA 则可以促进结直肠癌细胞增殖、迁移、侵袭,并抑制其凋亡^[25]。在乳腺癌细胞中也发现 circTADA2A-E6 可以促进 miR-203a-3p 靶基因 SOCS3 表达,从而抑制乳腺癌的发生发展^[26]。但是 circRNA 在头颈部肿瘤的相关研究较少。喉癌是耳鼻咽喉头颈外科常见的恶性肿瘤之一,具有高侵袭力, LSCC 是主要病理类型,占 95% 以上。决定肿瘤患者预后不良的关键因素主要是转移,约 90% 肿瘤患者的死亡是由转移引起^[27]。通过手术、放化疗、靶免治疗等手段的综合治疗, LSCC 患者的 5 年生存率没有显著提高,因此研究疾病发展机制和新的治疗靶点对于喉癌的治疗至关重要。CHEN 等^[28]通过 qPCR 法检测发现,喉癌及癌旁组织中 circSHKBP1 高表达与患者的低生存率有关。WANG 等^[29]发现, circ-RANBP 过表达可显著抑制喉癌细胞的迁移、增殖和侵袭能力。GUO 等^[30]发现, circ_0005033 在喉癌组织中的表达水平较正常组织明显升高,促进喉癌细胞的迁移、增殖、侵袭和顺铂耐药。研究^[31-32]发现, hsa_circ_0023028 高表达与喉癌患者的肿瘤分级、临床分期等密切相关。

本课题组前期从 GEO 数据库中筛选出在人 LSCC 组织及相应癌旁组织中差异表达的 hsa_circ_0081621,对 hsa_circ_0081621 引物在 cDNA 中扩增出

的片段序列进行焦磷酸测序,其结果与 circbase 数据库中的序列进行比对,验证其环化位点,证实 hsa_circ_0081621 真实存在。用 FISH 检测 67 例 LSCC 组织中 hsa_circ_0081621 表达发现,hsa_circ_0081621 的高表达预示患者预后不良^[6]。因此,本研究进行了细胞功能实验,敲减和过表达 hsa_circ_0081621 后,经 CCK-8 法、克隆形成实验、划痕愈合实验和 Transwell 实验检测发现,敲减或过表达 hsa_circ_0081621 能显著抑制或促进 AMC-HN-8 和 TU177 细胞的恶性生物学行为,结果表明,hsa_circ_0081621 可能在 LSCC 中发挥促癌作用,影响 LSCC 的发生发展及患者的预后。但是 hsa_circ_0081621 如何发挥上述生物学功能还需要进一步探索。本课题组后期将进一步探索 hsa_circ_0081621 在 LSCC 发生发展中的作用机制,为临床治疗 LSCC 提供新的思路 and 方向。

参考文献

- [1] TORRE L A, BRAY F, SIEGEL R L, *et al.* Global cancer statistics, 2012[J]. *CA A Cancer J Clinicians*, 2015, 65(2): 87-108. DOI: 10.3322/caac.21262.
- [2] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, *et al.* Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(3): 209-249. DOI:10.3322/caac.21660.
- [3] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2016[J]. *CA A Cancer J Clinicians*, 2016, 66(1): 7-30. DOI: 10.3322/caac.21332.
- [4] KRISTENSEN L S, ANDERSEN M S, STAGSTED L V W, *et al.* The biogenesis, biology and characterization of circular RNAs[J]. *Nat Rev Genet*, 2019, 20(11): 675-691. DOI: 10.1038/s41576-019-0158-7.
- [5] CHEN L L. The expanding regulatory mechanisms and cellular functions of circular RNAs[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2020, 21(8): 475-490. DOI:10.1038/s41580-020-0243-y.
- [6] LIU M, ZHAO R L, SONG X F, *et al.* High hsa_circ_0081621 expression indicates a poor prognosis of laryngeal squamous cell carcinoma: a bioinformatics analysis and retrospective clinical study [J/OL]. *Oncol Lett*, 2023, 26(5): 464[2025-02-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37780548/>. DOI:10.3892/ol.2023.14051.
- [7] BARNES D G, VIDASSOV M, RUTHENSTEINER B, *et al.* Embedding and publishing interactive, 3-dimensional, scientific figures in portable document format (PDF) files[J/OL]. *PLoS One*, 2013, 8(9): e69446[2025-02-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24086243/>. DOI:10.1371/journal.pone.0069446.
- [8] LIU C X, CHEN L L. Circular RNAs: Characterization, cellular roles, and applications[J]. *Cell*, 2022, 185(12): 2016-2034. DOI: 10.1016/j.cell.2022.04.021.
- [9] ZHONG Y X, DU Y J, YANG X, *et al.* Circular RNAs function as ceRNAs to regulate and control human cancer progression[J/OL]. *Mol Cancer*, 2018, 17(1): 79[2025-02-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29626935/>. DOI:10.1186/s12943-018-0827-8.
- [10] WANG Y A, MO Y Z, PENG M, *et al.* The influence of circular RNAs on autophagy and disease progression[J]. *Autophagy*, 2022, 18(2): 240-253. DOI:10.1080/15548627.2021.1917131.
- [11] 左思程, 王丹, 莫勇真, 等. 环状RNA参与鼻咽癌发生发展[J]. *生物化学与生物物理进展*, 2024, 51(4): 809-821. DOI:10.16476/j.pibb.2023.0110.
- [12] CONN V M, CHINNAIYAN A M, CONN S J. Circular RNA in cancer[J]. *Nat Rev Cancer*, 2024, 24(9): 597-613. DOI: 10.1038/s41568-024-00721-7.
- [13] LI H J, PENG K, YANG K, *et al.* Circular RNA cancer vaccines drive immunity in hard-to-treat malignancies[J]. *Theranostics*, 2022, 12(14): 6422-6436. DOI:10.7150/thno.77350.
- [14] LI W Z, LIU J Q, CHEN M, *et al.* Circular RNA in cancer development and immune regulation[J]. *J Cell Mol Med*, 2022, 26(6): 1785-1798. DOI:10.1111/jcmm.16102.
- [15] KIM W R, PARK E G, LEE D H, *et al.* The tumorigenic role of circular RNA-MicroRNA axis in cancer[J/OL]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(3): 3050[2025-02-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36769372/>. DOI:10.3390/ijms24033050.
- [16] KRISTENSEN L S, JAKOBSEN T, HAGER H, *et al.* The emerging roles of circRNAs in cancer and oncology[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2022, 19(3): 188-206. DOI:10.1038/s41571-021-00585-y.
- [17] WAN L, ZHANG L, FAN K, *et al.* Circular RNA-ITCH suppresses lung cancer proliferation via inhibiting the Wnt/ β -catenin pathway [J/OL]. *Biomed Res Int*, 2016, 2016: 1579490[2025-02-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27642589/>. DOI:10.1155/2016/1579490.
- [18] PAN H Y, LI T, JIANG Y G, *et al.* Overexpression of circular RNA ciRS-7 abrogates the tumor suppressive effect of miR-7 on gastric cancer via PTEN/PI3K/AKT signaling pathway[J]. *J Cell Biochem*, 2018, 119(1): 440-446. DOI:10.1002/jcb.26201.
- [19] CHEN R X, LIU S C, KAN X C, *et al.* CircUGP2 suppresses intrahepatic cholangiocarcinoma progression via p53 signaling through interacting with PURB to regulate ADGRB1 transcription and sponging miR-3191-5p[J/OL]. *Adv Sci*, 2024, 11(38): e2402329 [2025-02-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39120980/>. DOI: 10.1002/advs.202402329.
- [20] CHEN H T, WEN J, ZHANG W T, *et al.* circKDM1A suppresses bladder cancer progression by sponging miR-889-3p/CPEB3 and stabilizing p53 mRNA[J/OL]. *iScience*, 2024, 27(4): 109624[2025-02-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38632984/>. DOI:10.1016/j.isci.2024.109624.
- [21] CHEN J B, SUN Y, OU Z Y, *et al.* Androgen receptor-regulated circFNTA activates KRAS signaling to promote bladder cancer invasion [J/OL]. *EMBO Rep*, 2020, 21(4): e48467[2025-02-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32052578/>. DOI:10.15252/embr.201948467.
- [22] LYU D B, HUANG S L. The emerging role and clinical implication of human exonic circular RNA[J]. *RNA Biol*, 2017, 14(8): 1000-1006. DOI:10.1080/15476286.2016.1227904.
- [23] ZHAO D M, LIU H G, LIU H C, *et al.* Downregulated expression of hsa_circ_0037515 and hsa_circ_0037516 as novel biomarkers for non-small cell lung cancer[J/OL]. *Am J Transl Res*, 2020, 12(1): 162-170[2025-02-11]. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7013216/>.
- [24] LIU H, LIU Y, BIAN Z L, *et al.* Correction to: Circular RNA YAP1

- inhibits the proliferation and invasion of gastric cancer cells by regulating the miR-367-5p/p27 Kip1 axis[J/OL]. *Mol Cancer*, 2019, 18(1): 117[2025-02-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31288817/>. DOI:10.1186/s12943-019-1045-8.
- [25] LI X N, WANG Z J, YE C X, *et al.* Circular RNA circVAPA is up-regulated and exerts oncogenic properties by sponging miR-101 in colorectal cancer[J/OL]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 112: 108611[2025-02-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30797148/>. DOI: 10.1016/j.biopha.2019.108611.
- [26] XU J Z, SHAO C C, WANG X J, *et al.* circTADA2As suppress breast cancer progression and metastasis *via* targeting miR-203a-3p/SOCS3 axis[J/OL]. *Cell Death Dis*, 2019, 10(3): 175[2025-02-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30787278/>. DOI:10.1038/s41419-019-1382-y.
- [27] CHATTERJEE A, RODGER E J, ECCLES M R. Epigenetic drivers of tumourigenesis and cancer metastasis[J]. *Semin Cancer Biol*, 2018, 51: 149-159. DOI:10.1016/j.semcancer.2017.08.004.
- [28] CHEN F, ZHANG H Y, WANG J. Circular RNA CircSHKBP1 accelerates the proliferation, invasion, angiogenesis, and stem cell-like properties *via* modulation of microR-766-5p/high mobility group AT-hook 2 axis in laryngeal squamous cell carcinoma[J]. *Bioengineered*, 2022, 13(5): 11551-11563. DOI:10.1080/21655979.2022.2068922.
- [29] WANG Z, GU J, YAN A H, *et al.* Downregulation of circ-RANBP9 in laryngeal cancer and its clinical significance[J/OL]. *Ann Transl Med*, 2021, 9(6): 484[2025-02-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33850881/>. DOI:10.21037/atm-21-567.
- [30] GONG L, CHEN J, JIANG X J. Circ_0005033 is an oncogene in laryngeal squamous cell carcinoma and regulates cell progression and cisplatin sensitivity *via* miR-107/IGF1R axis[J]. *Anticancer Drugs*, 2022, 33(3): 245-256. DOI:10.1097/CAD.0000000000001260.
- [31] 王梅, 龚正鹏, 于明, 等. circRNA在喉癌中的作用机制及其研究进展. *中国耳鼻咽喉颅底外科杂志*, 2022, 28(2): 119-124.
- [32] XUAN L J, QU L M, ZHOU H, *et al.* Circular RNA: a novel biomarker for progressive laryngeal cancer[J/OL]. *Am J Transl Res*, 2016, 8(2): 932-939[2025-02-11]. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4846937/>.
- [收稿日期] 2025-02-15 [修回日期] 2025-04-21
[本文编辑] 向正华