

基于生物信息学分析探讨 circRNA 在口腔鳞状细胞癌中的调控作用

邱在玲¹, 林雪梅², 吕红兵²

摘要: **目的** 通过生物信息学方法和 qRT-PCR 实验筛选并验证口腔鳞状细胞癌(OSCC)中差异表达的环状 RNA(circRNA),并构建 OSCC 中可能的 circRNA-miRNA-mRNA 调控网络。 **方法** 选取 GEO 数据库中 2 个 OSCC 的 circRNA 高通量数据,使用 R 软件识别 OSCC 中的差异 circRNA,对筛选出的 circRNA 取交集后获得候选 circRNA。通过 qRT-PCR 在人口腔黏膜角质细胞系(HOK)和 OSCC 细胞系中验证候选 circRNA 的表达水平。使用 circInteractome 和 circBank 数据库预测 circRNA 下游的 miRNA,通过 miRDB 和 TargetScan 数据库预测 miRNA 的靶基因。使用 DAVID 在线数据库对靶基因进行 GO 功能和 KEGG 通路富集分析。通过 STRING 数据库和 Cytoscape 软件确定核心基因,采用 GEPIA 生存分析网站分析其与预后的关系。 **结果** 共筛选出 3 个差异 circRNA、7 个 miRNA 和 2 575 个潜在靶 mRNA。GO 和 KEGG 富集分析表明,靶基因主要富集在肿瘤相关的通路和生物学过程。基于富集分析、蛋白质相互作用网络图构建和核心基因的生存分析结果,筛选出 3 个核心基因(*EGF*、*STAT5A* 和 *LEF1*),从而建立 OSCC 相关的 circRNA-miRNA-核心基因调控网络。 **结论** 本研究为 circRNA 在 OSCC 中的调控机制提供参考,为 OSCC 的诊断及靶向治疗拓宽思路。

关键词: 口腔鳞状细胞癌; 环状 RNA; miRNA; 生物信息学

文献标志码: A **文章编号:** 1672-4194(2024)01-0026-07

头颈部鳞状细胞癌(head and neck squamous cell carcinoma, HNSC)的发病率在全球恶性肿瘤中排名第 6 位,每年导致数十万人死亡^[1]。HNSC 的亚型中,以口腔鳞状细胞癌(oral squamous cell carcinoma, OSCC)最常见,约占 90%。由于 OSCC 具有很强的侵袭和转移能力,确诊时常已是中晚期。在过去几十年中,OSCC 的病理生物学机制和治疗方法虽取得一定进展,但其预后并未得到改善,复发率仍较高,5 a 生存率<60%^[2]。因此,探索 OSCC 发病的分子机制是指导 OSCC 早期诊断和治疗的重点。

环状 RNA(circular RNA, circRNA)是一类通过前体信使 mRNA 反向剪接而形成的缺少 5' 末端帽子和 3' 末端尾的闭合环状非编码 RNA,这种独特的闭合结构使 circRNA 对核酸酶更具耐受性,比线性 RNA 更稳定^[3]。由于 circRNA 的丰富性、保守性、稳定性和普遍性,且阶段特异性表达于组织器官中,使其有望成为新的肿瘤诊断标志物,并为肿瘤的靶向治疗提供新思路^[4-5]。随着 RNA 测序(RNA-seq)和生物信息学分析技术的发展, circRNA 被发现参与包括 OSCC 在内的各类恶性肿瘤的发生和发展,并参与调节基因的表达和影响肿瘤的生

物学过程^[6-7]。但目前绝大部分 circRNA 在 OSCC 中的生物学作用和调控机制尚不清楚。本研究采用生物信息学方法筛选 OSCC 差异表达的 circRNA,预测 circRNA 下游的 miRNA 及 mRNA,为寻找 OSCC 中 circRNA 调控路径及治疗靶点提供一定的研究基础。

1 材料与方法

1.1 主要材料和仪器 人口腔黏膜角质细胞系 HOK(ZQY012,上海中乔新舟生物公司)、人 OSCC 细胞系 CAL27(CRL-2095)和 SCC9(CRL-1629)(美国 ATCC 细胞库); DMEM/F12 培养基(C11330500BT)和胎牛血清(10099141)(美国 Gibco 公司); 100 U/mL 青霉素和链霉素(15140-122)、Trizol 总 RNA 提取试剂(15596018)(美国 Invitrogen 公司); 逆转录试剂盒(RR047A)和 PCR 试剂盒(RR820A)(日本 Takara 公司); 细胞培养箱(BB5060UV,德国 Heraeus 公司); 实时荧光定量聚合酶链反应(real-time fluorescent quantitative polymerase chain reaction, qRT-PCR)扩增仪(Light-Cycler® 480,美国 Roche 公司)。

1.2 方法

1.2.1 数据收集 以“oral squamous cell carcinoma”和“circRNA”为关键词在基因表达数据库(gene expression omnibus, GEO)(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>)中进行搜索,选取 2 个数据集(GSE131182 和 GSE221398)进行分析。2 个数据

收稿日期: 2023-12-19

资助项目: 福建省卫生健康青年科研课题资助计划(2021QNA053)

作者单位: 1. 福建省级机关医院口腔中心,福州 350003;

2. 福建省高校口腔医学重点实验室,福建医科大学 附属口腔医院,福州 350004

作者简介: 邱在玲,女,住院医师,医学硕士。Email: zailingq530@163.com

集均使用高通量测序技术检测 OSCC 组织和正常组织中 circRNA 的表达量。

1.2.2 筛选差异表达的 circRNA 使用 R 语言中的“limma”包对 2 个数据集中的 circRNA 进行差异分析,以基因表达差异倍数(fold change,FC)变化的对数值 $|\log_2FC| > 2$ 且 $P < 0.05$ 为筛选标准。使用“gplot”软件包中的 heatmap 函数功能,绘制 circRNA 的聚类热图,利用“ggplot2”包绘制差异表达 circRNA 的聚类火山图。使用韦恩图(VENNY2.1)将 2 个数据集获得的差异表达 circRNA 取交集后筛选出候选 circRNA。利用 UALCAN 数据库分析 circRNA 宿主基因在肿瘤基因组图谱计划(the cancer genome atlas, TCGA)数据库收录的 HNSC 中的表达情况,筛选出与 OSCC 密切相关的潜在的 circRNA 分子。

1.2.3 细胞培养 HOK 细胞和 CAL27 细胞加入 DMEM 培养基中、SCC9 细胞加入 DMEM/F12 培养基中,置于 37 ℃、体积分数为 0.05 的 CO₂ 细胞培养箱内培养。培养基均含有 10% 胎牛血清、100 U/mL 青霉素和链霉素。

1.2.4 qRT-PCR 按说明书采用 Trizol 法提取 HOK 细胞和 OSCC 细胞的总 RNA。使用 Prime-Script™ RT reagent Kit 试剂盒进行逆转录反应。使用 SYBR® Premix Ex Taq™ II 试剂盒在 qRT-PCR 扩增仪进行分析。PCR 反应体系(20 μL): SYBR Premix Ex Taq II (Tli RNaseH Plus)10 μL,上下游引物各 0.4 μL,cDNA 2 μL,无酶水 7.2 μL。预变性 95 ℃ 反应 30 s,扩增条件为 95 ℃ 反应 5 s、60 ℃ 反应 30 s,重复 40 个循环。引物由生工生物工程(上海)有限公司合成(表 1),表达水平根据内参 GAPDH 进行标准化,采用 2^{-ΔΔCt}法进行基因相对表达量分析,以 3 个独立重复孔的测量结果进行统计。

表 1 实时荧光定量 PCR 引物序列

Tab.1 Primer sequence used in real-time PCR assay

基因名称	引物序列(5'—3')
hsa_circ_0004390	F: TGGCCTTCCTCATCATGGTT
	R: TGTTCTGTCCAGTCATCGA
hsa_circ_0001580	F: GCAAAACCGAACCTAGTCCC
	R: TTGCTTTCTTCTTCGCCTGC
hsa_circ_0008285	F: GCTGTTAACGGGAAAGGTTGA
	R: TCTCCTTCTGCTTCTCCGTG
GAPDH	F: GGGAAACTGTGGCGTGAT
	R: GAGTGGGTGTCGCTGTTGA

1.2.5 circRNA 结合 miRNA 及下游靶基因的预测 使用 circInteractome 和 circBank 数据库预测候选 circRNA 的潜在靶向 miRNA,并利用韦恩图筛选出 2 个数据库可同时预测到的 miRNA。通过 miRDB 和 TargetScan 数据库预测 miRNA 的下游靶基因,把 2 个数据库均能预测到的靶基因定为 miRNA 的靶 mRNA。

1.2.6 GO 和 KEGG 富集分析 使用 DAVID 在线分析工具对靶基因进行基因本体论(gene ontology, GO)功能富集分析和京都基因与基因组百科全书(Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)通路富集分析。其中,GO 分析包括生物学过程(biological process, BP)、细胞组分(cellular component, CC)和分子功能(molecular function, MF)。使用 R 软件中“ggplot2”包对数据进行可视化。

1.2.7 靶基因蛋白质相互作用(protein-protein interaction, PPI)网络构建及 OSCC 核心基因筛选

采用 STRING 数据库对靶基因进行 PPI 关系预测,并将输出的数据导入 Cytoscape 软件,利用 cytohubba 插件筛选 PPI 网络中节点度排名前 10 位的核心基因,并进行可视化。将 10 个核心基因输入 GEPIA 数据库,分析核心基因与 HNSC 患者预后的关系。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 26.0 软件进行统计分析,计量资料采用 $\bar{X} \pm S$ 表示。2 组间比较采用 t 检验。双侧检验, $P < 0.05$ 为差别有统计学意义。

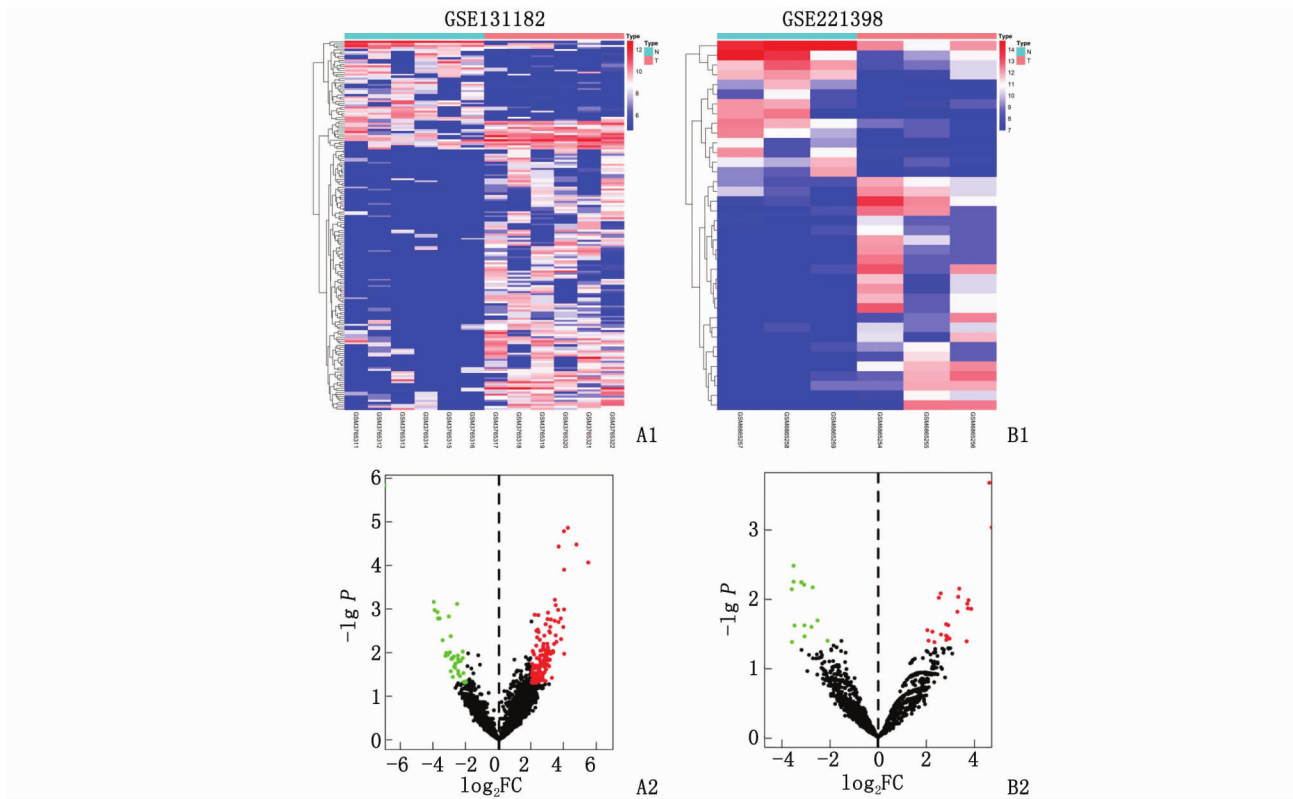
2 结 果

2.1 OSCC 中差异表达 circRNA 的鉴定 GSE131182 和 GSE221398 数据集分别筛选出 180 个(上调 141 个,下调 39 个)和 38 个(上调 24 个,下调 14 个)差异表达的 circRNA。通过绘制热图(红色区域:相对高表达量的 circRNA;蓝色区域:相对低表达量的 circRNA)和火山图(红色区域:上调的 circRNA;绿色区域:下调的 circRNA)(图 1),展示 circRNA 在 OSCC 中的差异性表达特征。

2.2 确定候选 circRNA 通过韦恩图将 2 个数据集筛选出的差异表达 circRNA 取交集,获得 4 个 circRNA,其中 3 个(hsa_circ_0004390、hsa_circ_0001580 和 hsa_circ_0008285)被 circBase 收录,作为候选 circRNA。在 TCGA 数据库收录的 HNSC 患者的癌组织和正常组织中,利用 UALCAN 数据库对上述 3 个 circRNA 的宿主基因 LPAR3、KDM1B 和 CDYL 的表达量进行分析,结

果显示,3 个基因在 HNSC 患者的癌组织和正常组织中均存在差异性表达(图 2)。进一步使用 qRT-PCR 在 CAL27、SCC9 和 HOK 细胞中进行验证,结果显示,

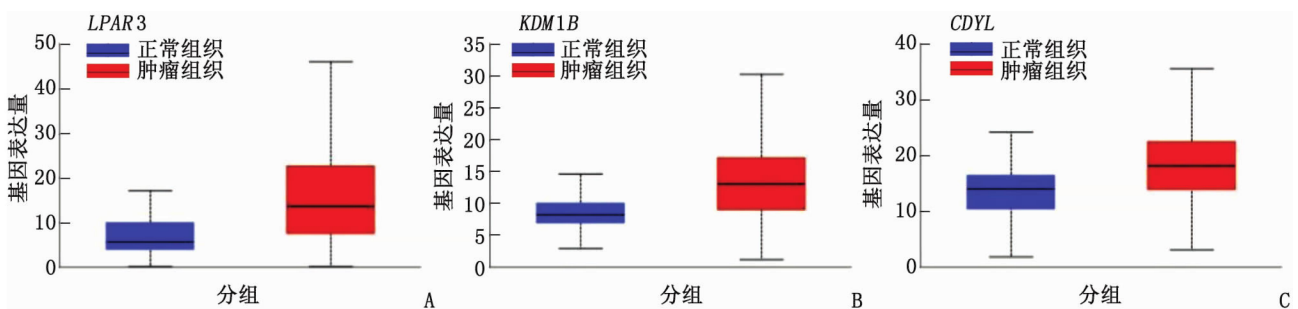
与 HOK 细胞比较,3 个 circRNA 在 CAL27 和 SCC9 细胞中的表达均增高,差别有统计学意义($P < 0.05$,图 3)。



FC:差异倍数;OSCC:口腔鳞状细胞癌。A:GSE131182;B:GSE221398。

图 1 OSCC 中差异性表达 circRNA 的聚类热图和火山图

Fig. 1 Clustering heat maps and volcano plots of the differentially expressed circRNA in OSCC



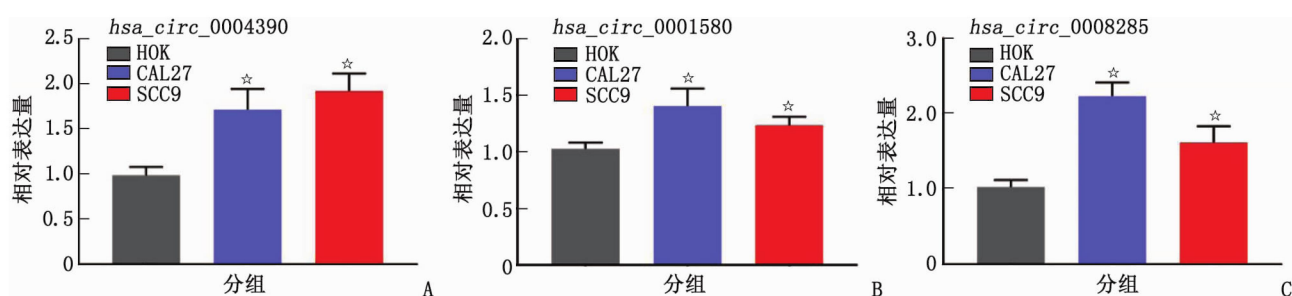
HNSC:头颈部鳞状细胞癌。正常组织 44 例,肿瘤组织 250 例。A:LPAR3($P=1.62 \times 10^{-12}$);B:KDM1B($P=1.62 \times 10^{-12}$);C:CDYL($P=7.05 \times 10^{-10}$)。

图 2 使用 UALCAN 检测 HNSC 中候选 circRNA 宿主基因的表达水平

Fig. 2 Expression levels of parent gene of candidate circRNA in HNSC as assessed using UALCAN

2.3 OSCC 相关 circRNA 调控的靶基因 GO 和 KEGG 富集分析 通过生物信息学分析预测 *hsa_circ_0004390*、*hsa_circ_0001580* 和 *hsa_circ_0008285* 结合的 miRNA 有 7 个(*hsa-miR-548p*、*hsa-miR-643*、*hsa-miR-330-3p*、*hsa-miR-384*、*hsa-miR-615-5p*、*hsa-miR-647* 和 *hsa-miR-892a*)，下游靶基因 2 575 个,通过 DAVID 进行 GO 和 KEGG 富集分析(图 4)。GO 功能注释的结果显示,这些基因主要参与的生物过程包括 RNA 聚合

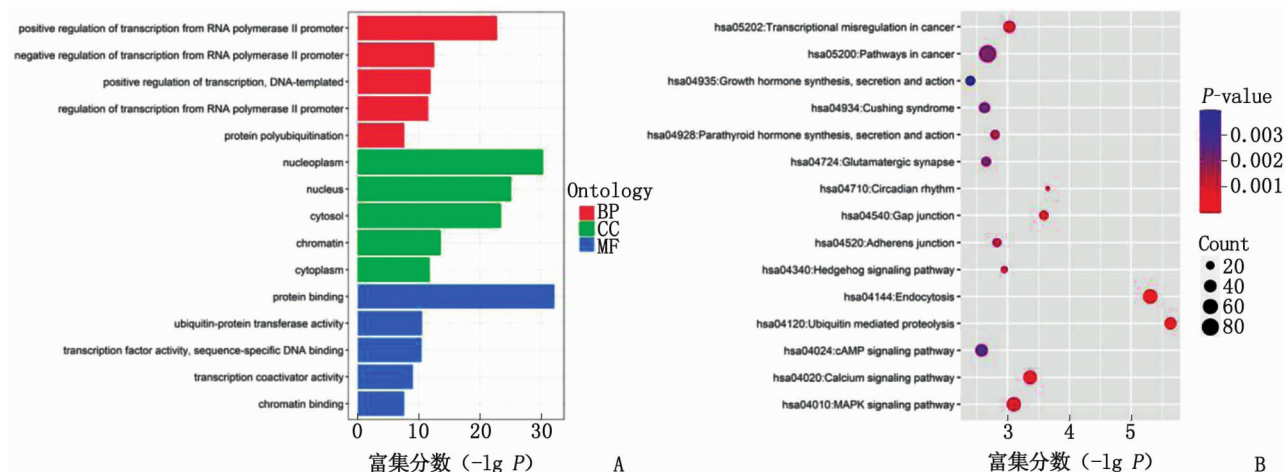
酶 II 启动子的转录调控、转录的正调控、DNA 模板、蛋白质多泛素化等;定位细胞成分包括核质、细胞核、胞质溶胶、染色质、细胞质等;以及参与相关分子功能,包括蛋白质结合、泛素蛋白转移酶活性、转录因子活性、序列特异性 DNA 结合、染色质结合等。KEGG 通路分析显示,靶基因富集在多个癌症相关通路,如泛素介导的蛋白水解、钙信号通路、MAPK 信号通路、癌症的转录失调、Hedgehog 信号通路、cAMP 信号通路和癌症通路等。



OSCC:口腔鳞状细胞癌。A: *hsa_circ_0004390*; B: *hsa_circ_0001580*; C: *hsa_circ_0008285*。与 HOK 细胞比较, ☆: $P < 0.05$ 。

图 3 使用 qRT-PCR 检测 HOK 和 OSCC 细胞系中候选 circRNA 的表达水平

Fig. 3 Expression levels of the candidate circRNA in HOK and OSCC cell lines as assessed using qRT-PCR



BP:生物学过程;CC:细胞组分;MF:分子功能。A:GO分析(排位1~15);B:KEGG通路分析(排位1~15)。

图 4 候选 circRNA 调控靶基因的富集分析结果

Fig. 4 Enrichment analysis results of candidate circRNA-related target mRNAs

2.4 OSCC 核心基因筛选及预后分析 KEGG 通路分析结果显示,癌症通路(hsa05200)上富集的基因最多,其与候选 circRNA 和 miRNA 的关系如表 2 所示。将此通路富集的 83 个基因输入 STRING 数据库进行 PPI 网络分析,数据导入 Cytoscape 计算网络及各个节点的拓扑特性, mRNA 编码的 83 个蛋白质中,82 个之间有相互作用,相互作用关系共 531 个,平均每个蛋白质可以与 12.8 个蛋白质产生作用,整个网络的相互作用关系显著性为 $P < 1.0 \times 10^{-16}$,表明这些蛋白质之间有紧密的相互作用关系。网络中连接度高的节点对网络的稳定性起重要作用,节点越大、颜色越深,则节点度越大(图 5),最内圈即为节点度排位 1~10 的核心基因 (CTNNB1、HIF1A、EGF、FOXO1、FN1、PIK3R1、CREBBP、STAT5A、LEF1 和 SMAD2),它们在 OSCC 的发生、发展过程中可能具有重要功能。将核心基因输入 GEPIA 数据库,结果显示,3 个核心基因 (EGF、STAT5A 和 LEF1) 与 HNSC 患者的总生存率相关 ($P < 0.05$)。

3 讨论

随着医学的发展,OSCC 的诊疗技术虽不断提高,但 OSCC 患者的总生存率并未得到明显改善。因此,系统研究调控 OSCC 进展的分子机制显得尤为重要。大量数据表明,circRNA 的异常表达与肿瘤的发生发展机制密切相关,能够通过 miRNA 应答元件(miRNA response element, MRE)与 mRNA 竞争性结合 miRNA,从而调控下游基因的表达和功能^[8]。研究发现,多个 circRNA 可以通过“circRNA-miRNA-mRNA”轴调控 OSCC 的发生发展^[9]。但 circRNA 在 OSCC 肿瘤信号通路中更加具体和特质性的机制研究仍较少,如何运用 circRNA 的生物学功能治疗和诊断 OSCC 仍需深入研究。

本研究利用生物信息学分析筛选出 3 个差异表达的 circRNA,即 *hsa_circ_0004390*、*hsa_circ_0001580* 和 *hsa_circ_0008285*,并通过 qRT-PCR 验证了这 3 个 circRNA 在 OSCC 细胞系中高表达,它们的宿主基因 *LPAR3*、*KDM1B* 和 *CDYL* 在 TCGA

表 2 circRNA-miRNA-mRNA 靶向关系预测结果

Tab. 2 Prediction result of circRNA-miRNA-mRNA targeting relationship

circRNA	miRNA	靶基因
hsa_circ_0004390	hsa-miR-548p	WNT2B, ETS1, CASP8, FGF9, PIM2, PRKACB, NKX3-1, NCOA3, ARNTL2, MITF, PRKCA, RUNX1T1, COL4A4, PPARD, CEBPA, CTBP2, LEF1, CACUL1, GNAI3, PIK3R1, STK4, CBL, LRP6, MAPK8, VHL, SMAD2, TCF7L2, CDK6, VEGFA, SP1, FGFR2, FGFR1
	hsa-miR-643	RB1, RAF1, CTBP2
hsa_circ_0001580	hsa-miR-330-3p	CCND3, IL13RA1, APPL1, MMP2, RUNX1, CRK, SOS2, RALA, CRISPLD1, HIF1A, FOXO1, GNAI3, FZD3, CREBBP, CTNNB1, FGFR1
	hsa-miR-384	ADARB1, LAMC1, SKP2, PRKACB, ARNT2, CCNE2, PTGER2, LPAR1, FZD5, FGFR1
hsa_circ_0008285	hsa-miR-615-5p	APC2, TPM3, MMP24, TGFB2, TRAF4, LPAR1, FN1
	hsa-miR-647	CCND2, IKBKG, APC2, NCOA1, DAPK3, ARNT, IFNG, CUL1, PLD1, CAMK2G, STAT5A, GADD45A, FN1, PML, EGF, KITLG, IL-5
	hsa-miR-892a	RET, CRKL, PLCB4, ADCY9, RARB, ADCY2, RASGRP3, MLH1, IL-7R

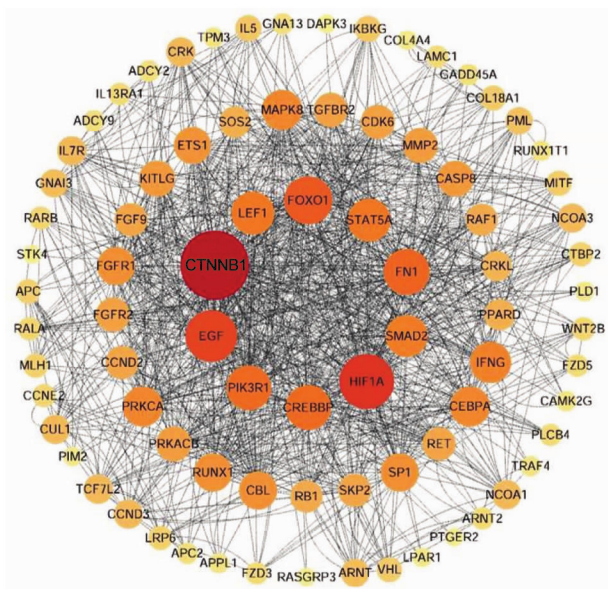


图 5 候选 circRNA 相关靶基因的蛋白质相互作用网络图

Fig. 5 The protein-protein interaction network diagram of candidate circRNA-related target genes

收集的 HNSC 样本中也显示差异表达,表明分别由 *LPAR3*、*KDM1B* 和 *CDYL* 生成的 *hsa_circ_0004390*、*hsa_circ_0001580* 和 *hsa_circ_0008285* 可能参与了 OSCC 的生物学进程。研究发现, *circKDM1B* (*hsa_circ_0001580*) 通过调节 *miR-1322/PRC1* 轴促进肝细胞癌进展^[10]。 *circCDYL* (*hsa_circ_0008285*) 可能通过 *miR-190a-3p* 上调 *TP53INP1* 基因的表达,促进乳腺癌恶性表型细胞凋亡并抑制其增殖^[11]。 *circLPAR3* (*hsa_circ_0004390*) 可通过结合 *miR-375/miR-433* 促进 *HMGB1* 的表达,从而在食管鳞状细胞癌中发挥致癌作用^[12]。本研究则通过生物信息学分析揭示候选 circRNA 在 OSCC 中潜在的调控机制。

通过数据库预测 *hsa_circ_0004390*、*hsa_circ_0001580* 和 *hsa_circ_0008285* 结合的 miRNA 以及 miRNA 下游的靶 mRNA,共筛选出 7 个 miRNA、2 575 个 mRNA。GO 和 KEGG 富集分析结果显示,靶基因在肿瘤相关的生物学功能和通路中明显富集。将富集在癌症通路的 83 个基因构建 PPI 调控网络图,筛选出 10 个核心基因。研究发现,这 10 个基因均参与 OSCC 生物学功能的调控。生存分析结果显示, *EGF*、*STAT5A* 和 *LEF1* 对 HNSC 患者的总生存率有影响。 *EGF* 表达增加可促进 OSCC 细胞的增殖、迁移和侵袭等恶性生物学行为^[13-14]。 *STAT5A* 在正常组织中不表达,在 OSCC 组织中的表达相比于癌前病变组织增加,可作为 OSCC 早期诊断的标志物和药物干预靶点^[15]。 *LEF1* 是一种参与 Wnt β -catenin 通路的重要转录因子,过表达可促进 OSCC 细胞的增殖,并抑制细胞凋亡^[16]。 *EGF* 和 *STAT5A* 对应的上游 miRNA 和 circRNA 为 *hsa-miR-647* 和 *hsa_circ_0008285*, *LEF1* 对应 *hsa-miR-548p* 和 *hsa_circ_0004390*。本研究中 *hsa_circ_0008285* 和 *hsa_circ_0004390* 在 2 个数据集的癌组织以及 OSCC 细胞系中表达均上调,与以上 3 个核心基因的研究结果相符。 *has-miR-647* 和 *hsa-miR-548p* 在多种肿瘤中异常表达,与恶性细胞的增殖、迁移和侵袭等密切相关^[17-18]。因此,笔者推测, *hsa_circ_0008285/hsa-miR-647/EGF*、*hsa_circ_0008285/hsa-miR-647/STAT5A* 和 *hsa_circ_0004390/hsa-miR-548p/LEF1* 为 3 条可能的调控途径,为 circRNA 调控 OSCC 发生、发展的分子机制提供新的研究方向,从而为 OSCC 的早期诊断寻找新的分子标志物或治疗靶点。然而,本研究只是基于生物

信息学分析得到的结果,还需进一步收集大量的临床样本,并通过一系列动物、细胞学及分子生物学实验进行验证。

参考文献:

- [1] LIU Z L, MENG X Y, BAO R J, et al. Single cell deciphering of progression trajectories of the tumor ecosystem in head and neck cancer[J]. *Nat Commun*, 2024, 15(1):2595.
- [2] ALKHADAR H, MACCLUSKEY M, WHITE S, et al. Comparison of machine learning algorithms for the prediction of five-year survival in oral squamous cell carcinoma[J]. *J Oral Pathol Med*, 2021, 50(4):378-384.
- [3] ASHWAL-FLUSS R, MEYER M, PAMUDURTI N R, et al. circRNA biogenesis competes with pre-mRNA splicing [J]. *Mol Cell*, 2014, 56(1):55-66.
- [4] 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.
- [5] GUARNERIO J, ZHANG Y, CHELONI G, et al. Intragenic antagonistic roles of protein and circRNA in tumorigenesis[J]. *Cell Res*, 2019, 29(8):628-640.
- [6] LI H S, FENG H R, ZHANG T, et al. CircHAS2 activates CCNE2 to promote cell proliferation and sensitizes the response of colorectal cancer to anlotinib [J]. *Mol Cancer*, 2024, 23(1):59.
- [7] LI X, WANG C X, ZHANG H, et al. CircFNDC3B accelerates vasculature formation and metastasis in oral squamous cell carcinoma[J]. *Cancer Res*, 2023, 83(9):1459-1475.
- [8] HANSEN T B, JENSEN T I, CLAUSEN B H, et al. Natural RNA circles function as efficient microRNA sponges [J]. *Nature*, 2013, 495(7441):384-388.
- [9] ATTAR R, NOEL K, ROMERO M A, et al. Regulatory role of circular RNAs in oral squamous cell carcinoma[J]. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*, 2023, 69(8):250-257.
- [10] YI M, LHU S M, HE Y, et al. CircKDM1B promotes hepatocellular carcinoma progression through regulating *miR-1322/PRC1* axis[J]. *Environ Toxicol*, 2023, 38(8):2031-2040.
- [11] WANG S H, LIU F X, MA H, et al. CircCDYL acts as a tumor suppressor in triple negative breast cancer by sponging *miR-190a-3p* and upregulating *TP53INP1* [J]. *Clin Breast Cancer*, 2020, 20(5):422-430.
- [12] CHENG H Z, JIANG W, SONG Z J, et al. Circular RNA circLARP3 facilitates esophageal squamous cell carcinoma progression through upregulating *HMGB1* via sponging *miR-375/miR-433* [J]. *Onco Targets Ther*, 2020, 13:7759-7771.
- [13] HAQUE A S M R, MORIYAMA M, KUBOTA K, et al. CD206⁺ tumor-associated macrophages promote proliferation and invasion in oral squamous cell carcinoma via EGF production[J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1):14611.
- [14] XIE H, MA Y D, LI J, et al. WNT7A promotes EGF-induced migration of oral squamous cell carcinoma cells by activating β -Catenin/MMP9-mediated signaling [J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11:98.
- [15] KAR P, SUPAKAR P C. Expression of *STAT5A* in tobacco chewing-mediated oral squamous cell carcinoma [J]. *Cancer Lett*, 2006, 240(2):306-311.
- [16] HOU Y M, YU W Q, WU G Y, et al. Carcinogenesis promotion in oral squamous cell carcinoma: *KDM4A* complex-mediated gene transcriptional suppression by *LEF1* [J]. *Cell Death Dis*, 2023, 14(8):510.
- [17] YE G T, HUANG K Z, YU J, et al. *MicroRNA-647* targets *SRF-MYH9* axis to suppress invasion and metastasis of gastric cancer [J]. *Theranostics*, 2017, 7(13):3338-3353.
- [18] HU X M, YAN X H, HU Y W, et al. *MiRNA-548p* suppresses hepatitis B virus X protein associated hepatocellular carcinoma by downregulating oncoprotein hepatitis B X-interacting protein [J]. *Hepatol Res*, 2016, 46(8):804-815.

Exploring the Regulatory Role of circRNA in Oral Squamous Cell Carcinoma Based on Bioinformatic Analysis

QIU Zailing¹, LIN Xuemei², LÜ Hongbing²

1. Oral Center, Fujian Provincial Governmental Hospital, Fuzhou 350003, China;

2. Stomatological Key Laboratory of Fujian College and University, School and Hospital of Stomatology, Fujian Medical University, Fuzhou 350004, China

ABSTRACT: **Objective** To identify differentially circRNA in oral squamous cell carcinoma (OSCC) using bioinformatics and qRT-PCR, and to investigate the role of the circRNA-miRNA-mRNA regulatory network in OSCC. **Methods** Two circRNA expression datasets of OSCC were acquired from the gene expression omnibus (GEO) database. Then, differentially expressed circRNA in OSCC were screened using R software. The candidate circRNA were obtained by intersecting the screened circRNA. The expression levels of the candidate circRNA were validated in human oral keratinocyte (HOK) and OSCC

(下转第 36 页)