

皮肤鳞癌中hsa_circ_0070934的表达和作用

顾冬玲, 王成海*

扬州大学医学部(基础医学院·公共卫生学院), 病理学教研室, 江苏 扬州

收稿日期: 2026年4月28日; 录用日期: 2026年5月22日; 发布日期: 2026年5月29日

摘要

目的: 探讨hsa_circ_0070934在皮肤鳞状细胞癌(CSCC)中的表达、临床病理意义及促癌功能。方法: 通过circRNA表达谱筛选CSCC癌组织与癌旁正常组织差异表达circRNA, qRT-PCR验证68例CSCC组织中hsa_circ_0070934表达, 分析其临床病理相关性; 采用CCK-8、细胞克隆形成实验检测其对细胞增殖的调控作用。结果: hsa_circ_0070934在CSCC组织中显著高表达, 其表达水平与肿瘤大小、病理分化程度密切相关; 过表达hsa_circ_0070934可促进CSCC细胞增殖与克隆形成, 敲低hsa_circ_0070934可表达则显著抑制细胞增殖。裸鼠荷瘤实验表明敲低hsa_circ_0070934表达可抑制皮下移植瘤的体积和重量。结论: hsa_circ_0070934在CSCC中发挥促癌作用, 可能参与了CSCC的恶性进展, 是值得进一步研究的潜在预后生物标志物和治疗靶点。

关键词

皮肤鳞状细胞癌, hsa_circ_0070934, 临床病理意义, 增殖, 生长

Expression and Role of hsa_circ_0070934 in Cutaneous Squamous Cell Carcinoma

Dongling Gu, Chenghai Wang*

Department of Pathology, School of Basic Medical Sciences (School of Public Health), Faculty of Medicine, Yangzhou University, Yangzhou Jiangsu

Received: April 28, 2026; accepted: May 22, 2026; published: May 29, 2026

Abstract

Objective: Circular RNA is a type of non-coding RNA. This study aimed to investigate the expression, clinicopathological significance and function of hsa_circ_0070934 in cutaneous squamous cell carcinoma (CSCC). **Methods:** Differentially expressed circular RNAs in CSCC tissues and adjacent normal

*通讯作者。

tissues were screened by circular RNA expression profile, and the expression of hsa_circ_0070934 in 68 CSCC tissues was verified by qRT-PCR. The clinicopathological significance of hsa_circ_0070934 expression was analyzed. Cell proliferation and colony formation were detected by CCK-8 assay and cell clone formation assay, respectively. Results: The expression level of hsa_circ_0070934 was up-regulated in 68 CSCC tissues, and its expression was closely related to tumor size and pathological differentiation. Overexpression of hsa_circ_0070934 promoted the proliferation and colony formation of CSCC cells, whereas knockdown of hsa_circ_0070934 markedly inhibited cell proliferation. Subcutaneous tumor-bearing nude mouse experiments revealed that silencing hsa_circ_0070934 expression reduced the volume and weight of subcutaneous xenograft tumors. Conclusion: hsa_circ_0070934 exerts an oncogenic role in CSCC, participates in the malignant progression of CSCC, and serves as a promising prognostic biomarker and therapeutic target for further research.

Keywords

Cutaneous Squamous CELL Carcinoma, hsa_circ_0070934, Clinicopathological Significance, Proliferation, Growth

Copyright © 2026 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

皮肤中常见的恶性肿瘤为皮肤鳞状细胞癌(cutaneous squamous cell carcinoma, CSCC), 简称皮肤鳞癌。通过流行病学调查统计, 皮肤鳞癌的发生与长期阳光照射和电离辐射有关[1][2]。虽然皮肤鳞状细胞癌的治疗策略已经取得了很大的进步, 但皮肤鳞状细胞癌患者的预后仍然很差[3]。因此, 探索皮肤鳞癌进展的分子机制对开发新的有效治疗方法至关重要。

环状 RNA (circular RNA, cir-RNA) 是一类非编码内源性的 RNA, 具有闭环状结构, 具有较好的稳定性[4]。本研究通过 circRNA 表达谱检测发现 hsa_circ_0070934 表达水平升高, 但其生物学功能和作用尚不清楚, 故研究 CSCC 组织中 hsa_circ_0070934 的表达, 揭示其与 CSCC 患者临床特征关联, 探讨 hsa_circ_0070934 在细胞增殖中的作用。

2. 资料与方法

2.1. 一般资料

本研究选取了 2023 年 1 月至 2025 年 10 月期间, 我院接受手术治疗的 68 例皮肤鳞癌病例。纳入标准: ① 术前未接受化疗、放疗和免疫治疗; ② 病例临床资料完整。排除标准: ① 合并其他恶性肿瘤患者; ② 血液疾病以及免疫疾病病例; ③ 中途失访者。

2.2. 材料和试剂

2 株 CSCC 细胞株 A431 和 HSC-1 来源于中国科学院上海细胞库。所有细胞系在添加了 10% 胎牛血清(FBS, Gibco) DMEM 培养基、100 U/ml 青霉素/链霉素双抗, 在 37℃, 5% CO₂ 的温湿培养箱中孵育。hsa_circ_0070934 mimic (过表达) 和 si-hsa_circ_0070934 (降低表达) 以及相关对照组的质粒(载体 MSCV) 合成于南京金斯瑞生物科技有限公司。通过 Lipofectamine 3000 试剂盒将过表达质粒和降低表达质粒转染到癌细胞中。

2.3. 环状 RNA 表达谱测序

提取 5 例 CSCC 组织和癌旁正常组织的总 RNA, 提交给上海康成生物工程技术有限公司(中国上海)进行环状 RNA 和表达谱筛选分析。数据分析和图像采集由上海康成公司(上海, 中国)提供。

2.4. 实时荧光定量 PCR (qRT-PCR)实验

使用 TRIzol (Invitrogen, 美国)分离 RNA, 并使用 RevertAid RT 试剂盒(Thermo Fisher Scientific, 美国)将其反转录为 cDNA。通过 QuantStudio5 (Thermo Fisher Scientific, USA), 使用 $2 \times$ Universal SYBR Green Fast qPCR Mix 进行实时荧光定量聚合酶链反应(qRT-PCR), 并通过 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法分析结果。GAPDH 作为 hsa_circ_0070934 的内源性对照。hsa_circ_0070934 引物序列 F: GGTGTATCCTGTGGAAGAAGC; R: TTGGCCAATTCTCCATATCA。GAPDH 引物序列 F: GCACCGTCAAGGCTGAGAAC; R: GGATCTCGCTCCTGGAAGATG。

2.5. 细胞克隆形成实验

将过表达和敲低表达质粒转染至皮肤鳞癌细胞中, 100 个/皿接种于 60 mm 培养皿中。培养 2 W 后可见细胞克隆。4%多聚甲醛固定细胞克隆后, 用 0.1%结晶紫溶液染色。Image J 分析克隆数。

2.6. CCK-8 细胞增殖实验

取 3500 个/ml 细胞悬液接种于 96 孔板(100 μ L/孔)。每孔加入 10 μ L 细胞计数试剂盒 8 (Cell Counting Kit-8, CCK-8, DOJINDO, 日本), 孵育 2 h, 酶标仪测定 450 nm 处的吸光度, 评估细胞的 OD 值。

2.7. 裸鼠皮下荷瘤实验

6 周龄雄性 BALB/C 裸鼠购自扬州大学动物实验中心, 并得到扬州大学机构动物保护与使用委员会批准。将 2×10^6 个处理后的 A431 细胞接种于裸鼠腋下 0.5 cm 皮下($n = 5$ 只/组)。每 3 天测量肿瘤体积, 计算公式为 $V = 0.5 \times \text{长} \times \text{宽}^2$ 。30 d 后处死裸鼠剥离瘤体并拍照, 测量肿瘤体积和重量, 并提取肿瘤组织用于进一步分析和实验。

2.8. 统计学处理

统计数据使用的是 SPSS 22.0 软件和 Graph Pad 8.0。分类资料采用[例(%)]表示, 两组间比较采用 χ^2 检验。 $*P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

3. 结果

3.1. 环状 RNA 表达谱测序结果

利用环状 RNA 芯片检测 5 例 CSCC 组织及其癌旁正常组织中环状 RNA 的差异性表达。测序结果如图 1 所示, 图中展示了前五个表达上调的环状 RNA, hsa_circ_0070934 是其中之一。

3.2. 68 例 CSCC 中 hsa_circ_0070934 表达验证

在 68 例 CSCC 组织中对环状 RNA 测序的前五名环状 RNA 高表达进行了 qRT-PCR 验证, 实验结果如图 2 所示, 在 CSCC 中 hsa_circ_0070934 表达水平为 2.758 ± 0.213 , 明显高于癌旁正常组织, $P < 0.05$; hsa_circ_0003528 表达水平为 3.064 ± 0.213 , 明显高于癌旁正常组织, $P < 0.05$; 其他三个环状 RNA 表达在 CSCC 与癌旁正常组织中无明显差异, P 均 > 0.05 。该实验提示 hsa_circ_0070934 和 hsa_circ_0067772 在 CSCC 中发挥促癌基因的作用。本研究选择表达水平更高的 hsa_circ_0070934 做

研究对象。

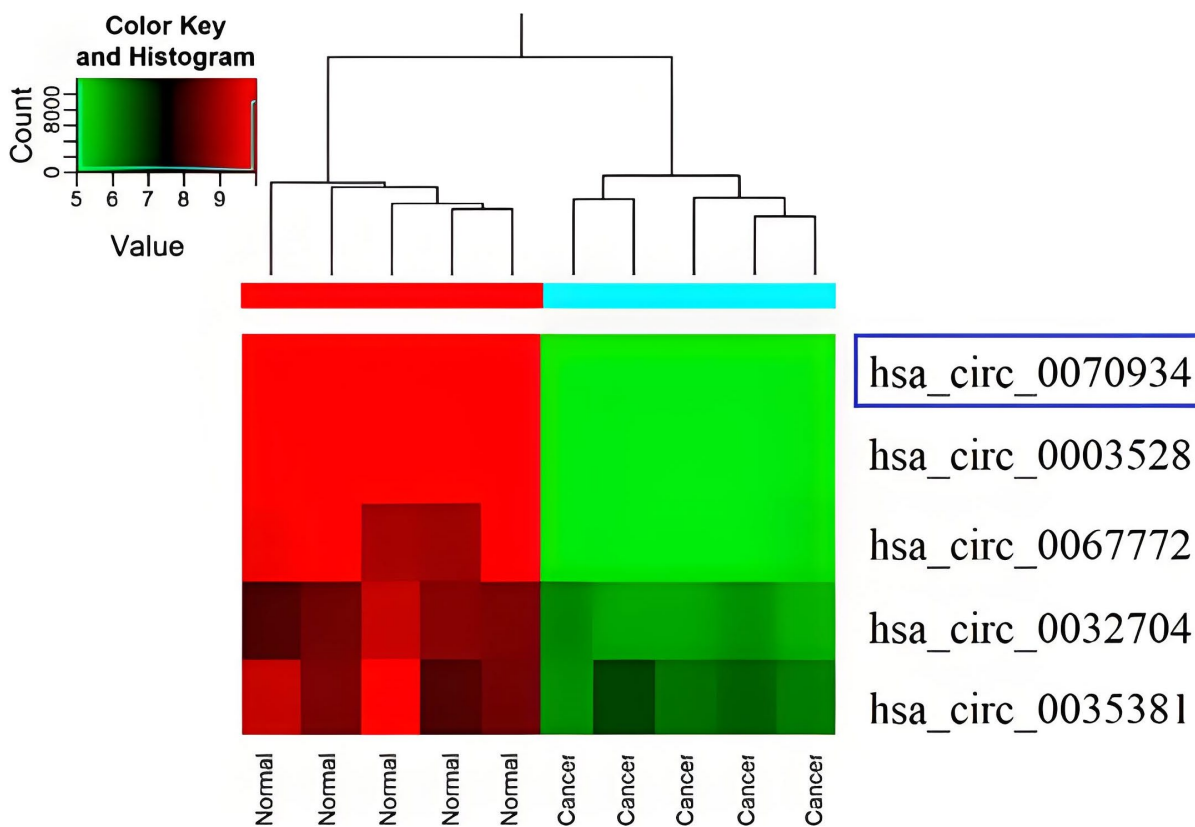
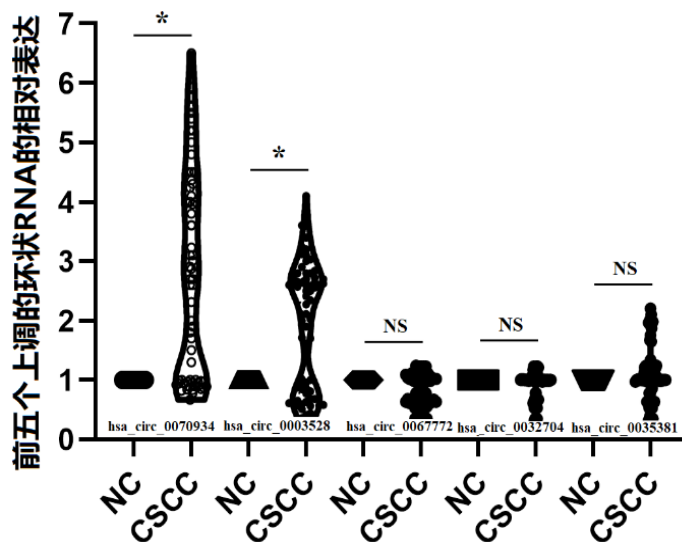


Figure 1. circ-RNA sequencing demonstrates the top five circ-RNAs with upregulated expression
图 1. 环状 RNA 测序展示了前五个表达上调的环状 RNA



在 CSCC 中 hsa_circ_0070934 表达水平明显高于癌旁正常组织, $*P < 0.05$, $^{NS}P > 0.05$ 。

Figure 2. qRT-PCR validation of the top five highly expressed circ-RNAs
图 2. 前五名高表达环状 RNA 的 qRT-PCR 验证

3.3. hsa_circ_0070934 表达与临床资料的相关性

基于上述 qRT-PCR 验证结果, 研究 hsa_circ_0070934 表达与临床资料的相关性。实验分为两组: 高表达组(表达水平高于对照组, $n=44$)和低表达组(表达水平低于或等于对照组, $n=22$)。四格交叉表统计结果如表 1 所示, 在 CSCC 中, hsa_circ_0070934 表达与肿瘤大小($\chi^2=10.405$)和分化($\chi^2=4.766$)密切相关(P 均 <0.05); 而在年龄、临床分期和淋巴转移中的表达无明显差异, 均 $P>0.05$ 。

Table 1. Relationship between hsa_circ_0070934 expression and clinical data

表 1. hsa_circ_0070934 表达与临床资料的相关性

指标		高表达组($n=44$)	低表达组($n=22$)	χ^2	P
年龄	<55	26	10	1.892	0.169
	≥ 55	18	14		
性别	男	24	16	0.062	0.803
	女	20	8		
肿瘤大小(cm)	<5	15	18	10.405	0.001*
	≥ 5	29	6		
HPV 感染	有	20	9	0.402	0.526
	无	24	15		
分化程度	高-中分化	19	17	4.766	0.029*
	低分化	25	7		
淋巴结转移	有	18	5	2.796	0.094
	无	26	19		
TNM 分期	I~II期	24	18	2.751	0.097
	III期	20	6		

注: * $P < 0.05$ 。

3.4. hsa_circ_0070934 促进 CSCC 细胞增殖

基于上述 hsa_circ_0070934 的表达与肿瘤大小密切关联, 使用细胞克隆实验和细胞增殖实验研究 hsa_circ_0070934 对 CSCC 细胞增殖和生长的影响。首先通过 qRT-PCR 验证了 CSCC 细胞中过表达或降低 hsa_circ_0070934 表达质粒的有效性($P < 0.05$, 图 3(A))。

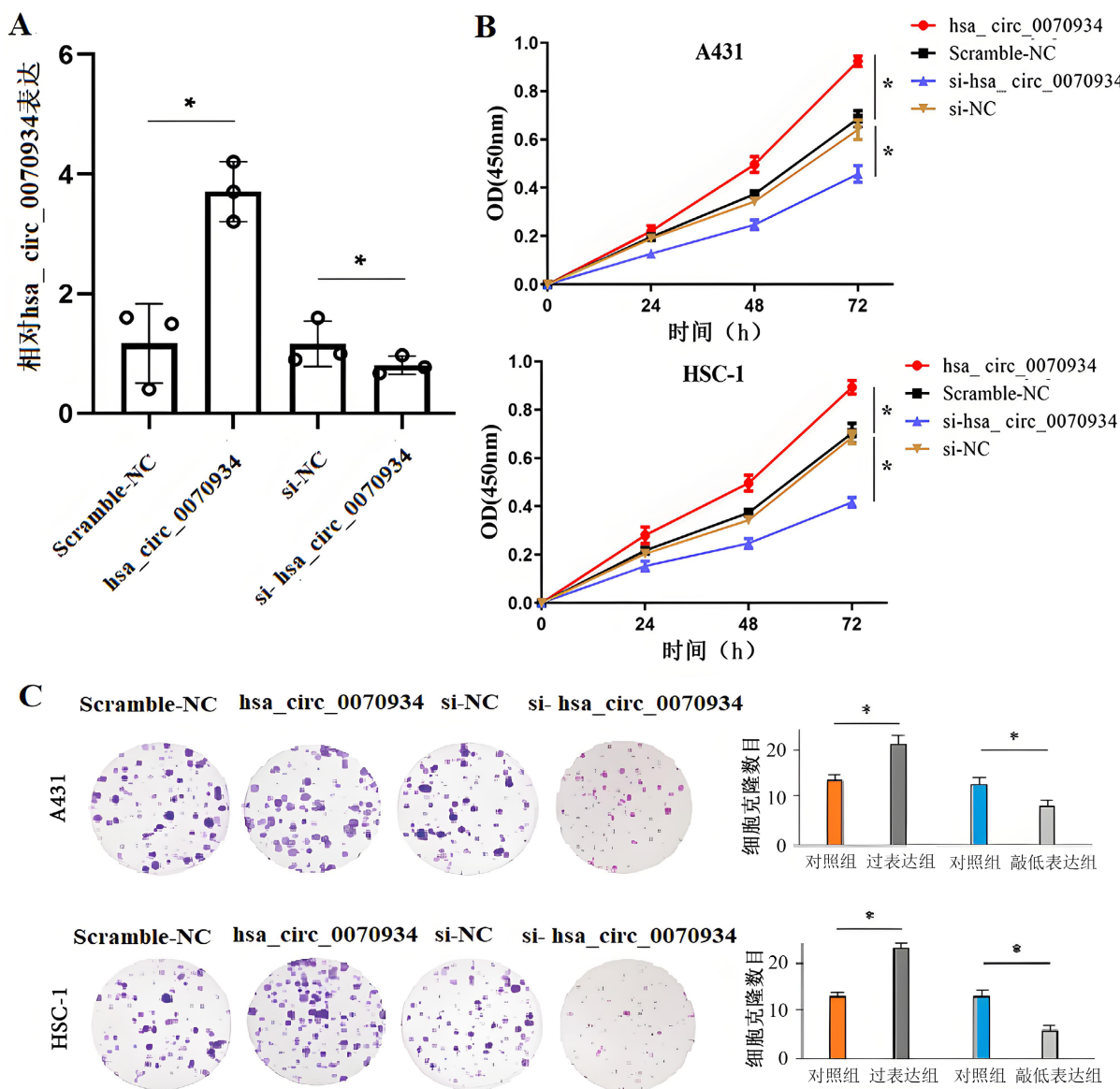
CCK-8 实验结果显示(图 3(B)), 72 h 时在 A431 细胞中, 过表达 hsa_circ_0070934 (0.89 ± 0.03)的细胞增殖活性明显高于 Scramble-NC (0.68 ± 0.04), $P < 0.05$ 。降低 hsa_circ_0070934 表达(0.42 ± 0.02)细胞增殖活性明显低于 si-NC 对照组(0.64 ± 0.02), $P < 0.05$; 72 h 时在 HSC-1 细胞中, 过表达 hsa_circ_0070934 (0.87 ± 0.03)细胞增殖活性明显高于 Scramble-NC (0.64 ± 0.04), $P < 0.05$; 降低 hsa_circ_0070934 表达(0.39 ± 0.02)细胞增殖活性明显低于 si-NC 对照组(0.68 ± 0.02), $P < 0.05$ 。

细胞克隆实验显示(图 3(C)), 在 A431 细胞中, 与 Scramble-NC (14.2 ± 2.3)相比, 过表达 hsa_circ_0070934 (24.3 ± 3.1)细胞克隆数目明显增加($P < 0.05$)。与 si-NC 对照组(13.8 ± 0.02)相比, 降低 hsa_circ_0070934 表达(7.4 ± 1.2)细胞克隆数目明显减少($P < 0.05$); 在 HSC-1 细胞中, 与 Scramble-NC (14.1 ± 1.3)相比, 过表

达 hsa_circ_0070934 (23.8 ± 2.4) 细胞克隆数目明显增加 ($P < 0.05$)。与 si-NC 对照组 (14.6 ± 2.4) 相比, 降低 hsa_circ_0070934 表达 (7.7 ± 1.2) 细胞克隆数目明显减少 ($P < 0.05$)。CCK-8 实验和细胞克隆实验均提示, hsa_circ_0070934 能促进 CSCC 细胞的增殖和生长。

3.5. 裸鼠体内验证降低 hsa_circ_0070934 表达对 CSCC 细胞生长的影响

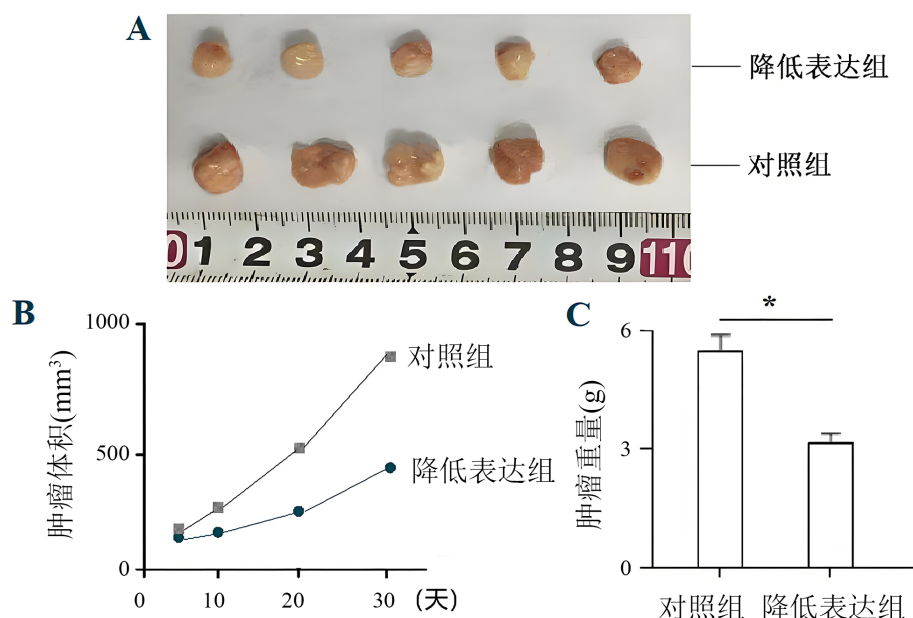
因 hsa_circ_0070934 在 CSCC 组织中表达水平升高, 故此实验观察降低 hsa_circ_0070934 表达对 A431 细胞增殖和生长的影响。体内实验如图 4 所示, 降低 piR-35296 表达组中移植瘤生长体积和质量均小于对照组, P 均 < 0.05 。



A. 过表达或降低 hsa_circ_0070934 表达质粒有效。B. 高表达 hsa_circ_0070934 促进 CSCC 细胞增殖活性增加; 降低 hsa_circ_0070934 表达减弱 CSCC 细胞增殖活性, P 均 < 0.05 。C. 高表达 hsa_circ_0070934 促进细胞克隆; 降低 hsa_circ_0070934 表达抑制细胞克隆, P 均 < 0.05 。

Figure 3. hsa_circ_0070934 promotes the proliferation of CSCC cells

图 3. hsa_circ_0070934 促进 CSCC 细胞增殖



A: 降低 hsa_circ_0070934 表达后, 移植瘤体较小; B-C: 降低 piR-35296 表达后, 移植瘤的体积和重量均小于对照组, * P 均 <0.05 。

Figure 4. Effects of downregulating hsa_circ_0070934 expression on the growth of subcutaneous xenograft tumors

图 4. 降低 hsa_circ_0070934 表达对皮下移植瘤生长的影响

4. 讨论

circ_RNA 是一类错误剪接的副产物, 直到 2013, 研究发现 circ_RNA 可以作为内源性 RNA, 能成为 miRNA 的分子海绵[5]。在多种生理和病理过程中, circ_RNA 发挥重要的调控作用, 如编码肽段和调节编码 RNA 的蛋白表达。研究发现 CSCC 也呈现出多个 circ_RNA 作为促癌或抑癌作用[6]。然而, CSCC 中大多数环状 RNA 的生物学功能尚未得到充分研究, 环状 RNA 在 CSCC 中的表达谱和功能需要进一步研究。

在皮肤癌的发生发展过程中, 一些环状 RNA 发挥促癌或抑癌的作用。例如, circEBF1 在皮肤鳞癌组织和细胞中表达上调[7], 干扰 circEBF1 可阻碍皮肤鳞癌细胞的增殖、迁移、侵袭和糖酵解, 促进细胞凋亡。circEBF1 可靶向 miR-1247-5p 调控皮肤鳞癌细胞的发育。circ_0067772 在皮肤鳞癌组织和细胞中表达上调[8]。circ_0067772 通过拮抗 miR-1238-3p 正向调控 FOXP1 表达促进皮肤鳞癌细胞的增殖、迁移和侵袭。circRNA_001937 在皮肤鳞癌组织和细胞株中的表达水平显著高于相应的癌旁组织和对照细胞[9]。circRNA_001937 可直接海绵 miRNA-597-3p 从而增加其下游靶基因 FOSL2 的表达, 从而促进皮肤鳞癌进展。circFADS2 做为一个抑癌基因发挥作用, 过表达 CircFADS2 明显抑制 CSCC 细胞增殖、转移和糖酵解[10]。在皮肤鳞癌组织和细胞株中 CircIFFO1 表达水平比对照组低, 也是发挥抑癌基因的作用[11]。过表达 CircIFFO1 明显抑制 CSCC 细胞的增殖、侵袭迁移, 并促进细胞凋亡。circIFFO1 通过介导 miR-424-5p/NFIB 轴抑制皮肤鳞癌的恶性行为。hsa_circ_0001360 沉默后, 皮肤鳞癌细胞 SCL-1 的增殖、迁移和侵袭显著增加, 凋亡显著减少, 而 hsa_circ_0001360 过表达则表现出相反的调控作用[12]。

本研究首先通过环状 RNA 表达谱筛选, 在 CSCC 组织中初步发现 hsa_circ_0070934 存在表达上调现象。为验证该表达模式的可靠性, 本研究扩大样本量, 共收集 68 例 CSCC 临床组织样本, 并利用 qRT-PCR 进行验证。结果确证, hsa_circ_0070934 在 CSCC 组织中显著上调, 提示该分子可能参与 CSCC 的

病理发生过程。

进一步的相关性分析显示, hsa_circ_0070934 的表达水平与 CSCC 患者的肿瘤大小及病理分化程度密切相关, 而与其他临床指标(如年龄、性别等)无明显关联。这一发现表明, hsa_circ_0070934 的高表达可能与 CSCC 的恶性进展及高增殖潜能密切相关, 即其表达量越高, 肿瘤越倾向于处于高级别恶性表型, 从而具备更强的生长增殖能力。这一结果不仅明确了其作为促癌基因的生物学功能, 也提示其可能成为评估 CSCC 细胞增殖活跃程度及预后风险的潜在分子标志物。

为直接阐明 hsa_circ_0070934 在 CSCC 中的生物学功能, 本研究通过体外细胞功能实验进行验证。结果显示, 过表达 hsa_circ_0070934 可显著增强 CSCC 细胞的增殖活性并促进克隆形成; 反之, 敲低其表达则明显抑制细胞增殖并减少克隆形成数量。体内荷瘤实验结果显示降低 hsa_circ_0070934 表达抑制了 A431 细胞荷瘤的重量和体积, 也就抑制了增殖和生长的影响, 这一些结果表明 hsa_circ_0070934 促进了 CSCC 增殖和生长。

基于上述证据, 后续研究将重点聚焦于其调控机制。我们计划通过生物信息学预测及后续实验验证, 筛选并鉴定 hsa_circ_0070934 潜在的靶基因及调控通路, 以期阐明其驱动 CSCC 细胞增殖的分子机制。该研究可能参与了 CSCC 的恶性进展, 是值得进一步研究的潜在预后生物标志物和治疗靶点。

综上所述, 本研究证实 hsa_circ_0070934 在 CSCC 中表达水平上调, 发挥促癌基因的生物学功能, 其核心机制主要涉及促进 CSCC 细胞的增殖与生长。

声明

本研究已获得扬州大学医学伦理委员会的批准(YXYLL2023-126)。

参考文献

- [1] Petzold, A., Wessely, A., Steeb, T., Berking, C. and Hept, M.V. (2025) Efficacy of Interventions for Cutaneous Squamous Cell Carcinoma *in Situ* (Bowen's Disease): A Systematic Review and Meta-Analysis of Proportions. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, **39**, 543-554. <https://doi.org/10.1111/jdv.20267>
- [2] Brunet-Possenti, F., Weiss, M., Pr  tet, J., Deschamps, L., Descamps, V., Halimi, C., *et al.* (2025) Detection of Alpha-Human Papillomavirus Types in Cutaneous Squamous Cell Carcinoma Associated with Markers of Carcinogenesis: A Retrospective Study. *Clinical and Experimental Dermatology*, **50**, 2147-2152. <https://doi.org/10.1093/ced/llaf264>
- [3] Potter, S., Gulbahce, E., Porretta, J., Lomo, L., Duffy, K., Winkler, N., *et al.* (2025) Invasive Squamous Cell Carcinoma of the Nipple: Case Report with Literature Review. *The American Journal of Dermatopathology*, **47**, 220-223. <https://doi.org/10.1097/dad.0000000000002880>
- [4] Liu, C. and Chen, L. (2022) Circular RNAs: Characterization, Cellular Roles, and Applications. *Cell*, **185**, 2016-2034. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2022.04.021>
- [5] Memczak, S., Jens, M., Elefsinioti, A., Torti, F., Krueger, J., Rybak, A., *et al.* (2013) Circular RNAs Are a Large Class of Animal RNAs with Regulatory Potency. *Nature*, **495**, 333-338. <https://doi.org/10.1038/nature11928>
- [6] Lee, I.T., Shen, C., Tsai, F., Chen, C. and Ma, K.S. (2022) Cancer-Derived Extracellular Vesicles as Biomarkers for Cutaneous Squamous Cell Carcinoma: A Systematic Review. *Cancers*, **14**, Article No. 5098. <https://doi.org/10.3390/cancers14205098>
- [7] Yin, D., Wei, G., Sun, X. and Yin, Y. (2022) Knockdown of circRNA circEBF1 Inhibits Cutaneous Squamous Cell Carcinoma Progression by Regulating the miR-1247-5p/CSF3 Axis. *Histology and Histopathology*, **37**, 985-997.
- [8] Li, X., Kong, Y., Li, H., Xu, M., Jiang, M., Sun, W., *et al.* (2021) CircRNA circ_0067772 Aggravates the Malignant Progression of Cutaneous Squamous Cell Carcinoma by Regulating miR-1238-3p/FOXG1 Axis. *Genes & Genomics*, **43**, 491-501. <https://doi.org/10.1007/s13258-021-01074-3>
- [9] Gao, L., Jin, H., Zhang, D. and Lin, Q. (2020) Silencing circRNA_001937 May Inhibit Cutaneous Squamous Cell Carcinoma Proliferation and Induce Apoptosis by Preventing the Sponging of the miRNA 597 3p/FOSL2 Pathway. *International Journal of Molecular Medicine*, **46**, 1653-1660. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2020.4723>
- [10] Zhang, Z., Sun, H., Hou, J., Li, L. and Wu, L. (2022) Circular RNA circFADS2 Inhibits the Progression of Cutaneous Squamous Cell Carcinoma by Regulating miR-766-3p/HOXA9 Axis. *Histology and Histopathology*, **37**, 335-348.

- [11] Yu, H., Liu, P. and Chen, T. (2023) CircIFFO1 Suppresses Tumor Growth and Metastasis of Cutaneous Squamous Cell Carcinoma by Targeting the miR-424-5p/NFIB Axis. *Archives of Dermatological Research*, **315**, 2585-2596. <https://doi.org/10.1007/s00403-023-02659-6>
- [12] Chen, P., Li, C., Huang, H., Liang, L., Zhang, J., Li, Q., *et al.* (2021) Circular RNA Profiles and the Potential Involvement of Down-Expression of Hsa_circ_0001360 in Cutaneous Squamous Cell Carcinogenesis. *FEBS Open Bio*, **11**, 1209-1222. <https://doi.org/10.1002/2211-5463.13114>