

Kertas Asli/Original Articles

Peranan RNA Bulat dalam Kanser Kolorektal

SITI NURMI NASIR & NADIAH ABU

ABSTRACT

Circular RNAs (circRNAs) are a class of non-coding RNAs formed by covalently closed loops through backsplicing. From previous studies, RNA was found to be involved in the development and formation of colorectal cancer. By emphasizing on the true function of circRNAs through focusing on its biogenesis, roles in disease treatment and roles as biomarkers, we are able to utilize circRNAs as therapy for cancer. Cancer is a chronic disease that contributes to high mortality worldwide. Colorectal cancer is one of the most common cancer in the world and in Malaysia in general. The incidence and mortality rates of colorectal cancer worldwide show a drastic and alarming increase. Colorectal cancer occurs due to mutations from certain genes involved in proliferation regulation, cell survival and cell death. This article aims to discuss the role and importance of Circular RNA in colorectal cancer. By identifying the true function of circRNAs, it can help us to develop our understanding on the real biological roles of circRNAs in colorectal cancer.

Keywords: Colorectal cancer, circular RNA, circRNA, colorectal

ABSTRAK

RNA bulat merupakan kelas RNA bukan pengekodan yang dibentuk secara kovalen sehingga membentuk gelung tertutup melalui proses sambat balik. Dari kajian sebelum ini, didapati bahawa RNA terlibat dalam pembangunan dan pembentukan kanser kolorektal. Penekanan pada fungsi sebenar RNA bulat dalam kanser kolorektal dengan memberi fokus kepada aplikasi biogenesis, rawatan penyakit, dan sebagai biopenanda mampu membangunkan terapi kanser dengan RNA bulat sebagai sasaran. Kanser merupakan penyakit kronik yang menyumbang kepada kadar kematian yang tinggi di seluruh dunia. Kanser kolorektal merupakan kanser utama yang paling lazim dihadapi penduduk di seluruh dunia dan di Malaysia secara amnya. Kadar insiden dan mortaliti kanser kolorektal dunia memperlihatkan peningkatan yang drastik dan membimbangkan. Kanser kolorektal berlaku disebabkan oleh mutasi daripada gen tertentu yang terlibat di dalam pengawalaturan proliferasi, kebolehhidupan sel dan kematian sel. Artikel ini bertujuan untuk membincangkan peranan dan kepentingan RNA bulat dalam kanser kolorektal. Dengan mengenal pasti fungsi sebenar RNA bulat, ia dapat membantu kita untuk meningkatkan pemahaman tentang peranan biologi molekul RNA bulat yang sebenarnya dalam kanser kolotektal.

Katakunci: kanser; kolorektal; RNA bulat

KANSER KOLOREKTAL

Menurut Pertubuhan Kesihatan Sedunia (WHO), kira-kira 10 juta penduduk dunia dilaporkan meninggal dunia akibat kanser pada tahun 2020 (Sung et al. 2021). Menurut laporan 'Malaysian Study on Cancer Survival' (MySCan), kanser merupakan penyebab kematian yang keempat utama di hospital kerajaan (12.6%) dan hospital swasta (26.7%) pada tahun 2016 (Subha 2019). Namun, jumlah ini telah meningkat pada tahun 2019 yang mana kanser telah

menjadi punca utama kematian di hospital swasta iaitu sebanyak 33.19% (National Cancer Registry 2018). Jumlah kes kanser di Malaysia meningkat sebanyak 11% pada tahun 2012-2016 berbanding tahun 2007-2011 berdasarkan laporan MySCan (Sung et al. 2021). Tiga jenis kanser yang paling kerap berlaku di Malaysia iaitu kanser payudara (11.9%) diikuti dengan kanser kolorektal (10.6%) dan kanser paru-paru (19.1%) (Veettil et al. 2017).

Kanser kolorektal atau kanser usus besar adalah kanser yang berlaku di bahagian kolon atau rektum. Ia merupakan

salah satu penyebab utama kematian di seluruh dunia. Menurut Daftar Kanser Kebangsaan (NCR), kanser kolorektal merupakan kanser yang paling kerap terjadi pada lelaki (16.3%) dan kedua paling kerap berlaku pada wanita (11.1%) selepas kanser payudara (Azizah et al. 2019; Arunah C et al. 2020). Kanser kolorektal kebiasaannya dijumpai di kalangan mereka yang berumur 50 tahun ke atas (Veettil et al. 2017). Oleh itu, risiko mendapat kanser kolorektal meningkat apabila umur semakin meningkat.

Rawatan kanser kolorektal diberikan mengikut kesesuaian pesakit berdasarkan faktor seperti tahap kanser, mutasi genetik yang terdapat dalam kanser, serta umur dan status kesihatan pesakit secara amnya (Teh et al. 2021). Bagi kanser tahap satu, peluang pesakit untuk sembuh adalah sehingga 90% dan pembedahan sahaja sudah memadai untuk menyembuhkan penyakit ini (Simon 2016). Bagi kanser tahap dua dan tiga pula, pesakit mungkin perlu menjalani rawatan kemoterapi dan radioterapi selepas pembedahan bagi mengurangkan risiko kanser berulang di samping meningkatkan peluang pesakit untuk hidup dengan selesa.

Rawatan kanser konvensional seperti pembedahan, kemoterapi dan radioterapi masih kekal relevan terutamanya untuk pesakit kanser tahap awal. Namun, disebabkan oleh kesan sampingan yang teruk serta rawatan kemoterapi yang membunuh semua sel yang ada, pelbagai rawatan alternatif telah diperkenalkan seperti terapi sasaran, imunoterapi dan radioterapi lanjutan. Kadar kemandirian selama 5 tahun untuk pesakit kanser kolorektal masih belum memuaskan kerana sebahagian besar daripada pesakit yang dirujuk sudah berada dalam keadaan kritikal, kanser tahap empat, dan merebak mencapai metastatis. Diagnosis awal, prognosis yang tepat, dan pemantauan berulang memainkan peranan penting dalam diagnosis dan rawatan kanser.

Kadar kemandirian pesakit kanser kolorektal yang telah di diagnosis bagi peringkat akhir adalah pada 13.1% (Simon 2016), berbanding dengan pesakit kanser kolorektal yang di diagnosis pada peringkat awal antara 70- 90%. Sebanyak 66% kes di kalangan lelaki dan 65% kes di kalangan wanita hanya dikesan pada peringkat akhir (Tahap 3 dan 4) yang mana menyumbang kepada peningkatan risiko kematian (Schliemann et al. 2020). Oleh itu, pemahaman yang lebih mendalam mengenai mekanisme molekul yang terlibat dalam perkembangan kanser kolorektal serta mengenal pasti biopenanda diagnostik dan prognostik baru adalah penting bagi membolehkan diagnosis awal dapat dilakukan.

PENGENALAN RNA BULAT

RNA bulat (*circRNAs*) merupakan sekumpulan besar RNA bukan pengekodan yang dibentuk oleh penyambatan balik.

Ia dicirikan oleh ketiadaan hujung 3' dan 5' yang mana membentuk gelung tertutup (Xu et al. 2019). Pada awalnya, RNA bulat telah dikenalpasti dalam analisis viroid RNA pada tahun 1970-an (Sanger et al. 1976), tetapi hanya dianggap sebagai hasil produk sambatan dengan peranan yang belum difahami. Bagaimanapun, dengan peredaran teknologi daya pemrosesan tinggi telah menemukan fungsi biologi RNA bulat yang meluas dan ini telah menimbulkan minat di kalangan para penyelidik (Memczak et al. 2013). RNA bulat mempunyai kaitan dengan fungsi biologi yang tertentu, terutamanya dalam menjaga homeostasis bersel seperti kawalan kitaran sel, pengisyratan sel, tindak balas terhadap tekanan sel, dan banyak lagi (Wang et al. 2017). RNA bulat lebih stabil berbanding RNA linear dan boleh dijumpai dalam tisu, serum, dan air kencing (Wang et al. 2017).

Walaupun RNA bulat telah lama ditemui, penyelidikan mengenai fungsinya masih di peringkat awal. Kedudukan taburan RNA bulat yang berbeza mempamerkan fungsi yang berlainan, sebagai contoh, RNA bulat yang terletak di sitoplasma kebanyakannya berfungsi sebagai span-miRNA (*miRNA-sponge*) dan berpotensi untuk diterjemahkan. Manakala, bagi RNA bulat yang tersebar di nukleus, ia dapat mengaturkan transkripsi bagi gen induk (Cheng et al. 2021). Selain itu, salah satu fungsi penting RNA bulat adalah kemampuannya untuk mengikat protein (Lu 2020). Sebuah takungan protein molekul diciptakan dengan mengikat protein spesifik kepada RNA bulat dan berfungsi sebagai umpan untuk memudahkan tindak balas segera terhadap rangsangan ekstraselular (Lei et al. 2020); malah ada yang mengekodkan peptida.

RNA bulat pada umumnya terdiri daripada 1-5 exon. Analisis secara mendalam telah menemukan kehadiran banyak penyongsang pelengkap Alu berulang dalam segmen intron (Jeck et al. 2013). Hal ini merungkaikan tentang susunan ini, sebenarnya membantu tapak penyambatan bagi memudahkan pencarian antara satu sama lain dan menggalakkan pembentukan gelung tertutup (Lu 2020). Disebabkan oleh bentuk yang tertutup kerana ketiadaan hujung 3' dan 5', RNA bulat juga mampu menahan tindakbalas daripada ribonuklease seperti exonuclease dan RNase R (Wang et al. 2017).

RNA bulat mempunyai empat ciri tertentu iaitu; pertama, ia membentuk struktur bulatan, tanpa struktur hujung melalui sambungan belakang kepala-ke-ekor. Ciri-ciri ini mampu meningkatkan kestabilan dan ketahanan terhadap kerosakan eksonukase, berbanding molekul RNA linear (Suzuki & Tsukahara 2014). Kedua, ia mempunyai panjang yang berbeza, bermula dari beratus hingga ribuan nukleotida (Lasda & Parker 2014) dan mempunyai corak ekspresi yang luas (Salzman et al. 2013). Berdasarkan jujukan asalnya, iaitu intronik atau exonik, RNA bulat dikategorikan dalam tiga sub-kumpulan iaitu circRNAs

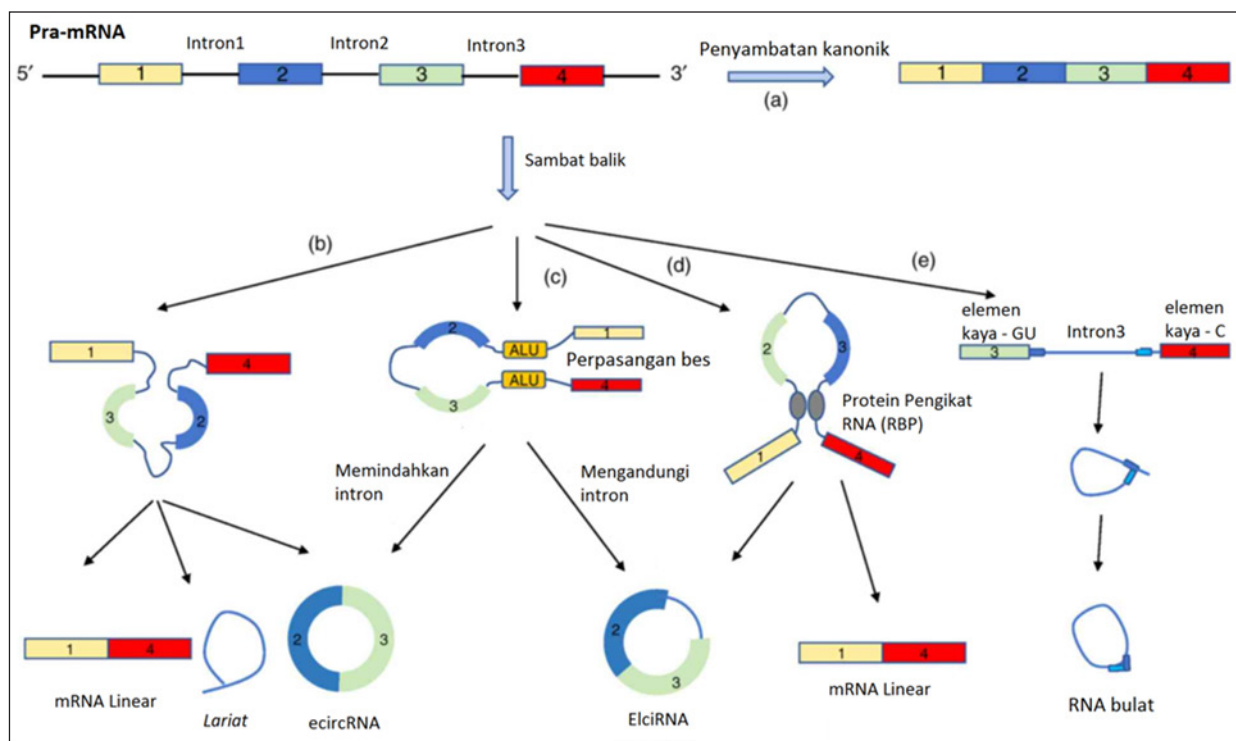
exonik (*EcircRNAs*), intron-RNA bulat (*ciRNAs*), dan circRNA dengan intron yang terlekat (*ElciRNAs*). Setiap kategori dihasilkan melalui mekanisme pengitaran yang berbeza (Guo et al. 2014). Diantara tiga sub-kumpulan tersebut, *ciRNA* dan *ElciRNA* berada di nukleus, manakala bagi *EcircRNAs* pula terdapat di sitoplasma (Zhao et al. 2019). Namun, sehingga hari ini mekanisme biogenesis dan perubahan proses penyambungan dari RNA linear ke circRNA belum dapat dijelaskan sepenuhnya.

BIOGENESIS RNA BULAT

RNA bulat dihasilkan oleh peristiwa penyambungan bukan kanonik yang biasanya dikenali sebagai sambat balik (*back-splicing*), yang dianggap sebagai peristiwa penyambungan alternatif. Dalam proses penyambungan kanonik, intron dikeluarkan dari mRNA prekursor (pra-mRNA) dan ekson kemudian disambungkan secara kovalen, sehingga membentuk molekul RNA linear yang dapat mengkodkan protein (Rajah 1a) (Liang et al. 2014). Walaupun proses sambat balik dianggap sebagai peristiwa penyambungan alternatif, mekanisme molekular yang mendasari biogenesis RNA bulat masih sukar difahami.

Beberapa model yang berpotensi untuk biogenesis RNA bulat telah dicadangkan. Diantaranya ialah, model '*lariat-driven circularization or exon skipping*', yang mana merupakan mekanisme biogenesis bagi kebanyakan RNA. Mengikuti mekanisme ini, pra-mRNA sebahagiannya dilipat semasa proses transkripsi, peristiwa ini menggalakkan serangan dari tapak penyambatan 5' ('*splice donor*') dari intron hulu ('*upstream intron*') ke tapak penyambatan 3' ('*splice acceptor*') dari intron hiliran ('*downstream intron*') (Nisar et al. 2021). Proses sambat balik bagi kawasan lipatan ini membentuk RNA bulat, manakala ekson yang masih kekal membentuk mRNA linear (Gambarajah 1b) (Artemaki et al. 2020).

Model kedua adalah '*intron pairing-driven circularization or the direct back-splicing mechanism*'. Peristiwa ini berlaku dimana, jujukan pelengkap songsang diapit pada intron (kebanyakannya urutan Alu) menyebabkan sambat balik terjadi dan menghasilkan RNA bulat. RNA bulat yang terhasil dari peristiwa ini boleh dikategorikan kepada dua kumpulan iaitu: kumpulan pertama di mana urutan intron dikekalkan dan wujud bersama dengan ekson (*ElciRNAs*) dan kumpulan yang kedua ialah urutan intron dikeluarkan (*EcircRNAs*) (Gambarajah 1c) (Jeck et al. 2013). Terdapat juga RNA



Rajah 1. Biogenesis RNA bulat yang diadaptasi daripada Zhao et al. Ini ialah artikel akses terbuka yang diedarkan di bawah syarat Lesen Atribusi Creative Commons
Sumber: Zhao et al. [27].

bulat intronik; di mana biogenesisnya memerlukan motif konsensus yang terdiri daripada elemen kaya ‘7-nt GU-rich’ berhampiran tapak penyambatan 5’ dan elemen kaya ‘11-nt C-rich’ berhampiran tapak ‘branch point’ (Gambarajah 1e) (Jeck et al. 2013).

Biogenesis RNA bulat juga diatur oleh faktor penyambatan dan protein pengikat RNA (RBPS) seperti protein MBL dan QKI (Zhao et al. 2019). Protein pengikat RNA ini akan mendekati tapak penderma dan tapak penerima melalui sisi pengikatan intron dan dengan itu memudahkan proses pembentukan gelung (‘circularization’) (Gambarajah 1d) (Nisar et al. 2021).

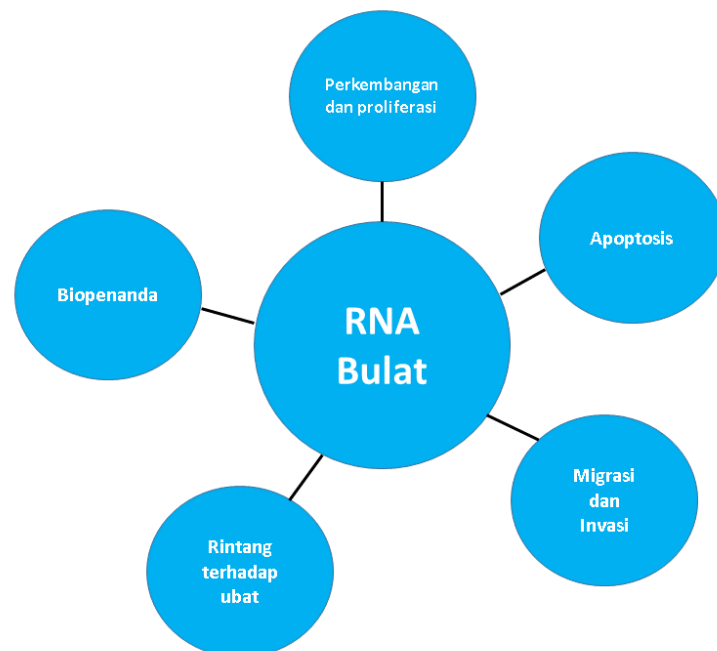
RNA BULAT DALAM KANSER KOLOREKTAL.

Pada masa kini, kajian pengekspresan daya pemprosesan tinggi (*high-throughput expression profiling studies*), berfungsi sebagai sumber penting dalam meneliti corak pengekspresan RNA bulat dalam kanser. Melalui kajian tersebut, RNA bulat didapati terlibat dalam perkembangan kanser dan diekspreskan secara pembezaan dalam kebanyakan kanser termasuk kanser kolorektal (Alarcon

et al. 2015). Rajah 2 menunjukkan ringkasan peranan RNA bulat di dalam kanser kolorektal.

RNA BULAT MENGAWAL ATUR PROSES PROLIFERASI DAN PERKEMBANGAN KANSER KOLOREKTAL.

Dalam CRC, beberapa RNA bulat telah dikenal pasti dan dicirikan sebagai “onkogenik”. Ini kerana penglibatan RNA bulat dalam proses kawal atur menaik dengan mengaruhkan proses proliferasi, migrasi dan invasi sel serta merencat proses kitaran sel dan apoptosis (Long et al. 2021). Beberapa RNA bulat menunjukkan lebih dari satu fungsi onkogenik seperti circAGFG1 (hsa_circ_0058514), circCCDC66 (hsa_circ_0001313; hsa_circ_000374), circCSPP1 (hsa_circ_0001806; hsa_circ_001780), circHUWE1 (hsa_circ_0140388), circPRKDC (hsa_circ_0136666) dan lain-lain lagi. Sebagai contoh, Wu et al. telah membuktikan bahawa ekspresi circZNF609 meningkat dalam tisu CRC berbanding dengan tisu mukosa menggunakan RT-qPCR. Selain itu, ekspresi circZNF609 menunjukkan korelasi positif dengan ekspresi *glioma-associated oncogene 1*, dimana apabila rebanan



Rajah 2. Peranan RNA bulat di dalam kanser kolorektal

ekspresi pada circZNF609 berlaku atau lebih ekspresi pada miR-150 telah merencat proses migrasi sel HCT116 melalui pelekatan (*sponging*) pada miR-150. Keputusan sebaliknya berlaku, apabila *con-transfection* dilakukan terhadap *circZNF609 siRNA* dan *miR-150 inhibitor* menunjukkan berlaku peningkatan pada proses migrasi dalam sel HCT 116 (Wu et al. 2018). Selain itu, CDR1 antisense RNA (CDR1as) juga dikenali sebagai CiRS-7 berfungsi sebagai onkogen apabila dikawal atur naik dalam tisu CRC. Kajian menunjukkan bahawa CiRS-7 mampu merencat epidermal growth factor receptor (EGFR) dan tapak jalan RAF1/MAPK yang mana merupakan sasaran terapeutik baru dalam CRC metastatik (Lee and Kopetz 2015; Weng et al 2017).

Bagi RNA bulat bagi RNA bulat yang dikawalatur turun kebiasaannya berfungsi sebagai penindas tumor pada kanser kolorektal yang mana bertindak dengan menekan proliferasi, migrasi dan invasi sel disamping mencetuskan perkembangan kitaran sel dan apoptosis (Zheng et al. 2020). Sebagai contoh, penyenyapan pada hsa_circ_0007142 menggunakan *small interfering (si)RNAs* mengurangkan kadar proliferasi, migrasi dan invasi bagi sel HT-29 dan HCT 116 (Zhu et al. 2019). Yin et al. menunjukkan bahawa rebahan ekspresi pada circ_0007142 menyebabkan pengurangan berlaku pada kitaran pembahagian sel 25A melalui penyerapan (*sponging*) miR-122-5p (Yin et al. 2020). Disamping itu, ia juga turut ia turut menindas proses proliferasi sel, perkembangan koloni, migrasi dan juga invasi (Yin et al. 2020). Sesetengah RNA bulat menggalakkan angiogenesis dalam kanser kolorektal, dimana ia merupakan peristiwa penting bagi mengekalkan kemandirian dan keagresifan sel tumor (Chen et al. 2020; Geng et al. 2019).

Sebilangan RNA bulat mampu merencatkan peralihan epitelium kepada mesenkima (EMT) yang merupakan proses berkait rapat dengan metastasis dalam sel kanser kolorektal (Shen et al. 2019). Sel-sel penghubung (cell-cell contact) dan protein sitoskeleton mengalami perubahan semasa EMT berlaku. Kadar ekspresi penanda epitelium E-cad menurun, manakala tahap penanda mesenkima seperti N-cad dan vimentin, meningkat (Kalluri et al. 2003; Kalluri et al. 2009; Lee et al. 2006; Nieto et al. 2016). Beberapa faktor transkripsi EMT (EMT-TFs) seperti Snail, Twist, slug, dan ZEB families, dikenal pasti sebagai pengawal atur semasa proses EMT berlaku. EMT-TFs bertindak dengan mengikat kepada E-box bagi mengaturkan penanda EMT (Eger et al. 2005; Battle et al. 2000; Hajra et al. 2002; Comijn et al. 2001; Kang & Massague 2004). Selain itu, sesetengah tapak jalan pengisyaratan, khususnya tapak jalan Wnt/ β catenin, TGF- β /SMAD, dan Notch, berkemungkinan mempengaruhi EMT (Zhou et al. 2012; Tse & Kalluri et al. 2007; Yang & Weinberg et al 2008).

Geng et al. mengesahkan bahawa apabila lebih ekspresi terhadap hsa_circ_0009361, proses proliferasi, EMT, migrasi dan invasi dalam sel kanser kolorektal akan ditindas melalui kawal atur pengekspresan APC2 dan merencat aktiviti tapak jalan Wnt/ β -catenin, yang mana berupaya untuk mengaruhi proses EMT (Geng et al. 2019). Ren et al. telah mendedahkan bahawa hsa_circ_0001178 berfungsi sebagai ceRNA untuk miR-382/587/616 bagi mengawalatur naik ZEB1 (punca pencetus EMT), dengan itu memudahkan penyebaran metastasis dalam kanser kolorektal (Ren et al. 2020). Vimentin merupakan penanda mesenkima yang penting dalam EMT dan berfungsi sebagai pengatur bagi kebanyakan protein utama yang terlibat dalam pelekatan dan migrasi sel (Kidd et al. 2014). Fosforilasi residu Serin dalam vimentin merencat polimerisasi subunit, dan seterusnya menggalakkan pelepasan filamen vimentin serta meningkatkan kelarutan protein (Danielsson et al. 2018). Yang et al. memperihalkan interaksi fizikal antara circPTK2 dan protein vimentin pada tapak fosforilasi Ser38, Ser55 dan Ser82, melindungi vimentin dari fosforilasi oleh PKA, CDK1 atau PLK; kemudian, vimentin akan menggalakkan EMT pada sel CRC samada secara in vitro atau pun in vivo (Yang et al. 2020).

Menurut Hang et al. (2018) terdapat 185 RNA bulat yang diekspreskan secara pembezaan diantara kanser paru-paru bukan sel kecil (NSCLC) dan tisu normal telah dikenal pasti melalui penjujukan RNA. Di samping itu, Zeng et al. (2017) juga telah menemui sebanyak 192 RNA bulat dikawalatur naik dan 239 RNA bulat dikawalatur turun di dalam tisu kanser kolorektal dari pesakit yang belum dan telah mencapai metastasis. Buat pertama kalinya, Bachmayr-Heyda et al. (2015) melaporkan tentang pengekspresan RNA bulat didapati mengalami pengurangan dalam titisan sel CRC dan tisu kanser kolon jika dibandingkan dengan tisu normal. Mereka juga turut menemui tentang korelasi negatif bagi kehadiran RNA bulat dalam proliferasi sel, dimana kehadiran RNA bulat adalah tinggi di dalam sel yang tidak mengalami proses proliferasi.

Kebanyakan RNA bulat yang dikawalatur naik di dalam kanser kolorektal menunjukkan keupayaan dalam meningkatkan kadar kebolehhidupan sel (*viability cell*) dan proliferasi. Rebahan ekspresi (*knockdown*) RNA bulat akan merencat proses tersebut dan juga meningkatkan apoptosis sel. CiRS-7 (Tang et al. 2017; Weng et al. 2017; Stagsted et al. 2019) dan circHIPK3 (Tang et al. 2017; Zeng et al. 2018) adalah dua daripada 10 teratas circRNA yang paling biasa dijumpai, dan kedua-duanya dikawalatur naik dalam kanser. CiRS-7 merangsang perkembangan sel kanser kolorektal melalui pelekatan terhadap miR-7 yang bertindak sebagai penindas tumor dan mengawalatur pengekspresan penindas-miR-7 onkogen (*miR-7-*

suppressed oncogenes) seperti EGFR, IGF1R dan RAF1 (Tang et al. 2017; Weng et al. 2017). Rebahan ekspresi CiRS-7 dalam sel kanser kolorektal mengurangkan kebolehidupan sel dan kapasiti pembentukan koloni serta meningkatkan bilangan sel dalam fasa G_0/G_1 (Tang et al. 2017) dalam kitaran sel.

CircHIPK3, juga dikenali sebagai circ_0000284, didapati dikawalatur naik dalam tisu kolorektal kanser dan titisan sel kanser kolorektal iaitu HT-29, SW480 dan SW620 (Li et al. 2021). Selain itu, circHIPK3 berfungsi sebagai span-miR-7 (*miR-7 sponge*) dan meningkatkan perkembangan kanser kolorektal melalui pengawalan terhadap pengekspresan target miR-7 iaitu FAK, YY1, IGF1R dan EGFR (He et al. 2018). Hal ini menunjukkan bahawa, CiRS-7 dan circHIPK3 berpotensi menjadi sasaran terapeutik yang signifikan. Selain itu, RNA bulat yang lain, seperti circRNA-ACAP2 (He et al. 2018), circ_00098 (Xu et al. 2017), circ_0001955 (Ding et al. 2020) dan circ_0055625 (Zhang et al. 2019) juga telah ditemukan mampu menjadi sasaran terapeutik yang berpotensi untuk kanser kolorektal dan berfungsi melalui perlekatan kepada miRNA.

Melalui kajian yang lepas, apabila rebahan ekspresi dilakukan terhadap RNA bulat, hasil yang diperolehi menunjukkan proses perkembangan dan proliferasi kanser kolorektal telah ditindas dan peningkatan dalam proses apoptosis (Li et al. 2021). Penemuan ini meningkatkan pemahaman terhadap rangkaian kawal atur circRNA/miRNA dan proses pathogenesis kanser kolorektal (Li et al. 2021). Disamping itu, dengan maklumat yang diperolehi dapat dicadangkan tentang potensi terapeutik apabila RNA bulat ini disenyapkan atau pun dikawalatur naik terhadap target miRNAs tersebut (Li et al. 2021). Selain itu, penyenyapan terhadap circ-BANP telah mengurangkan proliferasi sel kanser kolorektal dan pengekspresan Akt terfosforil (*phosphorylated Akt*) mencadangkan bahawa circ-BANP berkemungkinan berupaya meningkatkan perkembangan kanser kolorektal melalui tapak jalan PI3K/Akt (Zhu et al. 2017).

RNA BULAT MENGAWAL ATUR PROSES MIGRASI, INVASI DAN METASTASIS KANSER KOLOREKTAL

Secara umum, RNA bulat dikawalatur naik dalam kanser kolorektal akan meningkatkan proses migrasi, invasi dan metastasis. Apabila rebahan ekspresi RNA bulat dilakukan ataupun dikawalatur naik terhadap miRNA target, didapati berlaku penurunan dalam proses tersebut. CDR1as (Tang et al. 2017; Weng et al. 2017), circHIPK3 (Zeng et al. 2018), circRNA-ACAP2 (He et al. 2018), circ_0055625

(Zhang et al. 2019), circPPP1R12A (Zheng et al. 2019) dan circ_000082663 (Shi et al. 2020) berfungsi dalam perkembangan proses migrasi, invasi dan metastasis di dalam kanser kolorektal. Walaubagaimanapun, apabila dilakukan penyenyapan, proses tersebut berjaya ditindas. Oleh itu, RNA bulat tersebut mampu bertindak sebagai target terapeutik yang berpotensi dalam menindas perkembangan dan proliferasi, serta migrasi, invasi dan juga metastasis dalam kanser kolorektal (Li et al. 2021).

RNA bulat yang dikawalatur turun merupakan penindas tumor dalam proses migrasi, invasi dan metastasis dalam kanser kolorektal. Selain menindas proliferasi kanser kolorektal, circ-ITGA7 (Li et al. 2018), circDDX17 (Li et al. 2018), circ_0026344 (Yuan et al. 2018) dan circ-FBXW7 (Lu et al. 2019) juga berfungsi dalam merencat proses tersebut. Memahami fungsi circRNAs dalam patogenesis kanser kolorektal memberikan pemahaman yang penting tentang potensi untuk menasarkan circRNA dalam rawatan penyakit kanser kolorektal. Secara amnya, dengan menasarkan RNA bulat yang dikawalatur naik melebihi RNA bulat yang dikawalatur turun adalah lebih praktikal kerana kemudahan dalam pengesanan dan rebahan ekspresi (Li et al. 2021). Kaedah terapeutik pada masa hadapan boleh dipertimbangkan menjurus kepada kejuruteraan RNA bulat dalam menasarkan miRNA atau protein tertentu bagi menghalang tapak jalan onkogen.

RNA BULAT DAN KERINTANGAN TERHADAP KEMOTERAPI DALAM KANSER KOLOREKTAL.

Kaedah utama bagi rawatan kanser yang berada pada tahap lanjut adalah melalui pembedahan yang digabungkan dengan kemoterapi berasaskan 5-FU dan platinum (contoh: oxiplatin) (Longley et al. 2003). Bagaimanapun, kerintangan terhadap kemoterapi telah mempengaruhi keberkesanan terhadap rawatan kanser kolorektal dan menyebabkan kanser berulang dan seterusnya merebak kepada metastasis (Hua et al. 2019). Berdasarkan bukti yang dikumpul, RNA bulat didapati mampu berfungsi sebagai pangawal atur dalam kerintangan terhadap ubat dalam kanser termasuklah kanser kolorektal (Chen et al. 2020; Lu et al. 2019). Selain itu, melalui kajian telah dilakukan didapati RNA bulat memainkan peranan penting dalam proses pengawal aturan tindakbalas terhadap radiasi (Henry & Hayes 2012).

Kerintangan terhadap kemoterapi bagi kanser kolorektal semakin meningkat dan mencabar pada masa sekarang. Keadaan ini menjadi beban kepada rawatan yang berkesan ditambah pula dengan prognosis yang lemah (Nadiah et al. 2019). Dengan melihat corak pengekspresan RNA bulat terhadap tisu kanser kolorektal yang rintang terhadap ubat (*drug-resistant CRC tissue*), penentuan

mekanisme RNA bulat dalam pencerobohan kanser dan pengisyaratan, melalui pengawal aturan terhadap RNA bulat mampu menjadikan ia sebagai biopenanda dalam meningkatkan sensitiviti terhadap kemoterapi (*chemosensitivity*) (Hong et al. 2014).

Beberapa circRNA telah dikenal pasti mampu memberikan kerintangan ubat kepada kanser kolorektal apabila diaruhkan. 5-fluorouracil (5-FU), analog pyrimidine, merupakan komponen terapeutik utama yang ditawarkan kepada pesakit kanser kolorektal (Hong et al. 2014; Kim et al. 2013). Walau bagaimanapun, dianggarkan hampir 50% pesakit kanser kolorektal mempunyai tahap kerintangan terhadap 5-FU pada peringkat akhir rawatan. Hal ini, menyebabkan risiko kematian dan risiko kanser berulang meningkat dengan ketara dan ditambah dengan keberkesanan rawatan terapeutik yang terhad (Kim et al. 2013; Xiong et al. 2017).

Profil pengekspresan RNA bulat telah mengenal pasti 71 circRNAs diekspreskan secara pembezaan antara sel kanser kolorektal yang rintang terhadap 5-FU dan sel kawalan induk (Xiong et al. 2017). Daripada profil tersebut, tiga circRNAs khususnya, circ_0007031, circ_0000504 dan circ_0007006, menunjukkan pengekspresan yang dikawalatur naik secara signifikan (Summerer et al. 2013). Keadaan ini menunjukkan keupayaan RNA bulat dalam perkembangan kerintangan terhadap kemoterapi (*chemoresistance*) di dalam kanser kolorektal.

Melalui profil pengekspresan tersebut, didapati circ_0007031 telah dikawalatur naik sebanyak 116 nilai gandaan (*fold*) dalam sel kanser kolorektal yang rintang terhadap kemoterapi dan bertindak sebagai pelekat (*sponge*) bagi miR-885-3p, yang mana berkait rapat dengan perkembangan kerintangan terhadap 5-FU (Summerer et al. 2013). Hal ini menunjukkan circ_0007031 mampu

memainkan peranan penting dalam perkembangan kerintangan terhadap 5-FU (Hua et al. 2019; Wang et al. 2020). Oleh itu, circ_0007031 berpotensi untuk dijadikan sebagai sasaran terapeutik untuk dikawalatur turun (*down-regulated*) dan juga bertindak sebagai biopenanda pronostik bagi rawatan yang berkesan.

RNA BULAT SEBAGAI BIOPENANDA DALAM KANSER KOLOREKTAL.

Menurut ‘*National Cancer Institute*’, biopenanda bermaksud “molekul biologi yang terdapat dalam darah, cecair badan, atau tisu, yang mempunya penanda normal atau tidak normal atau pun keadaan atau berpenyakit (Artemaki et al. 2020). Secara lebih umum, biopenanda adalah apa-apa yang boleh digunakan sebagai petunjuk keadaan penyakit tertentu atau yang lain fisiologi keadaan organisma (Artemaki et al. 2020). Berdasarkan beberapa bukti yang diperolehi, RNA bulat terlibat dalam pelbagai proses perkembangan sel kanser termasuk proliferasi, apoptosis, invasi dan migrasi sel. Disebabkan oleh ciri-ciri RNA bulat yang mempunyai kestabilan yang tinggi dan banyak, pengekspresan tisu yang spesifik dan mudah dikenalpasti menjadikan RNA bulat sebagai calon yang sesuai untuk dijadikan biopenanda. Ini menunjukkan bahawa RNA bulat memainkan peranan penting dan unik di dalam permulaan dan perkembangan kanser kolorektal dan berpotensi untuk dijadikan sebagai biopenanda, molekul diagnosis dan prognosis serta sasaran molekul untuk agen terapi. Jadual 1 menunjukkan ringkasan mengenai RNA bulat yang berpotensi sebagai biopenanda dalam CRC.

Jadual 1. RNA bulat sebagai biopenanda dalam kanser kolorektal

RNA Bulat	Simbol Gen	Pengekspresan dalam CRC	Jenis Biopenanda	miRNA-Sponge	Gen sasaran/ tapak laluan	Rujukan
hsa_circ_001988	FBXW7	Dikawalatur turun	Diagnostik	-	-	(Wang et al. 2015)
circ_0122319, circ_0079480, circ_0087391	PLOD2, ISPD, AGTPBP1	Dikawalatur naik	Prognosis	-	-	(Ju et al. 2019)
circ_0000826	ANKRD12	Dikawalatur naik	Diagnostik	-	-	(Xu et al. 2019)

bersambung ...

... sambungan

CDR1as /ciRS-7	CDR1	Dikawalatur naik	Diagnostik, Prognosis	miR-7	EGFR/RAF1/MAPK pathway	(Weng et al. 2017)
circ-CCDC66	CCDC66	Dikawalatur turun	Diagnostik	miR-33b, miR-93	-	(Lin et al. 2019; Hsiao et al. 2017)
hsa_circ_0001178	USP25	Dikawalatur naik	Prognosis	miR-382, miR-587, miR-616/ZEB1	-	(Xu et al. 2019; Ren et al. 2020)
circ_0001649	SHPRH	Dikawalatur turun	Diagnostik	-	-	(Ji et al. 2018)
circ_0026344	ACVRL1	Dikawalatur turun	Prognosis	miR-21; miR-31	-	(Yuan et al. 2018)
circRNA_100290	SLC30A7	Dikawalatur naik	Prognosis	miR-516b	FZD4	(Fang et al. 2018)
circ-ABCC1	ABCC1	Dikawalatur turun	Diagnostik	-	-	(Lin et al. 2019)
circHIPK3	HIPK3	Dikawalatur naik	Prognosis	miR-7	FAK; IGF1R; EGFR; YY1	(Zeng et al. 2018)
circITGA7	ITGA7	Dikawalatur turun	Diagnostik	miR-370-3p	NF1	(Li et al. 2018)
circ-STIL	STIL	Dikawalatur turun	Diagnostik	-	-	(Lin et al. 2019)
CircRNA-104700	PTK2	Dikawalatur turun	Diagnostik	-	-	(Zhang et al. 2017)

FUNGSI RNA BULAT DALAM APOPTOSIS.

Apoptosis adalah satu mekanisme semulajadi bagi proses kematian sel (cell death). Ia merupakan salah satu topik yang paling banyak dijadikan bahan kajian bagi kalangan ahli biologi. Pemahaman mengenai mekanisme asas apoptosis adalah penting kerana ia memainkan peranan yang penting dalam patogenesis dalam kebanyakan penyakit terutamanya kanser. Kanser adalah salah satu senario di mana berlakunya terlalu sedikit apoptosis, menyebabkan sel-sel malignan tidak mengalami proses kematian. Mekanisme apoptosis adalah kompleks dan melibatkan banyak proses tapak jalan. Ketidaknormalan boleh berlaku pada bila-bila masa sepanjang proses tapak jalan ini berlaku, menyebabkan transformasi sel malignan, metastasis tumor dan berlaku kerintangan terhadap ubat anti-kanser. Walaupun menjadi punca masalah, apoptosis memainkan peranan penting dalam rawatan kanser kerana ia adalah sasaran popular untuk kebanyakan strategi rawatan.

RNA bulat memainkan peranan yang penting dalam pengawalan proses apoptosis dalam kanser kolorektal. Sebagai contoh, circ0001313 merupakan RNA bulat yang paling signifikan dalam kawal atur menaik dalam CRC, di mana ia berfungsi sebagai pelekat kepada miR-338 dan mempengaruhi sensitiviti radiasi apoptosis dalam CRC (Ameli-Mojarad et al. 2021). Selain itu, lebih ekspresi circRNA-0026344 secara signifikan akan menindas proliferasi sel CRC dan pembentukan koloni serta menggalakkan apoptosis dengan mengawal atur miR-21 dan miR-31 (Yang et al. 2019). Zhang et al menunjukkan hsa_circ_0020397 mengawal kebolehidupan dan apoptosis sel CRC dengan menggalakkan ekspresi sasaran miR-138, iaitu *telomerase reverse transcriptase (TERT)* dan *programmed death-ligand 1 (PD-L1)* (Zhang et al. 2017). Di samping itu, hsa_circ_0000523 juga didapati mampu meningkatkan kadar apoptosis sel kanser kolorektal dengan bertindak pada miR-31 dan mengaktifkan laluan isyarat Wnt/ β -katenin (Jin et al. 2018).

RUMUSAN

Pemahaman tentang peranan dan fungsi RNA bulat dalam perkembangan dan pembentukan kanser secara keseluruhan mampu membantu diagnosis dan prognosis yang lebih cepat. Keupayaan dalam mengawal atur fungsi miRNA dan protein menjadikan RNA bulat tidak hanya sebagai pengatur gen induk dalam pengembangan dan perkembangan kanser kolorektal, tetapi juga sebagai sasaran terapi baru dengan kesan yang lebih kuat untuk merawat penyakit tersebut. Di samping itu, RNA bulat bertindak sebagai biopenanda dan dapat digunakan sebagai alat penyaringan pencegahan kanser kolorektal. Oleh itu, kajian mendalam tentang RNA bulat di masa hadapan mampu menyumbang kearah kaedah pengesanan dan rawatan yang lebih baik untuk pesakit.

RUJUKAN

- Alarcon, C., Lee, H., Goodarzi, H., Halberg, N. & Tavazoie, S.T. 2015. *N6-methyladenosine marks primary microRNAs for processing*. Nature. 519. 482–485.
- Ameli-Mojarad, M., Ameli-Mojarad, M., Hadizadeh, M., Young, C., Babini, H., Nazemalhosseini-Mojarad, E., and Ashrafi Bonab, M. 2021. *The effective function of circular RNA in colorectal cancer*. Cancer Cell Int 21, 496 (2021).
- Artemaki, P. I., Andreas S. & Christos K. K. 2020. *Circular RNAs: A New Piece in the Colorectal Cancer Puzzle*. Cancers. 12. no. 9: 2464.
- Arunah, C., Feisul, I.M., Nor Saleha, I.T. & Muhammad Radzi, A.H. 2020. *Overview of colorectal cancer screening programme in Malaysia*. Med J Malaysia. 75(3):235-239. PMID: 32467538.
- Azizah, A.M., Hashimah, B., Nirmal, K., Siti Zubaidah, A.R., Puteri, N.A., Nabihah, A., Sukumaran, R., Balqis, B.,Nadia, S.M.R., Sharifah, S.S.S., Rahayu, O., Nur Alham, O. & Azlina, A.A. 2019. *Malaysia National Cancer Registry Report (MNCR) 2012-2016*. National Cancer Institute. SBN: 978-967-16142-2-8. Malaysia
- Bachmayr-Heyda, A., Reiner, A., Auer, K., Sukhbaatar, N., Aust, S., Bachleitner-Hofmann, T., Mesteri, I., Grunt, T.W., Zeillinger, R., & Pils, D. 2015. *Correlation of circular RNA abundance with proliferation – exemplified with colorectal and ovarian cancer, idiopathic lung fibrosis and normal human tissues*. Scientific Reports. 5, 8057
- Battle, E., Sancho, E., Franci, C., Dominguez, D., Monfar, M., Baulida, J. and Garcia, De, Herreros, A. 2000. *The transcription factor snail is a repressor of E-cadherin gene expression in epithelial tumour cells*. Nat Cell Biol. 2:84–9.
- Chen, C., Huang, Z., Mo, X., Song, Y., Li, X., Li, X. & Zhang M. 2022. *The circular RNA 001971/miR-29c-3p axis modulates colorectal cancer growth, metastasis, and angiogenesis through VEGFA*. J Exp Clin Cancer Res. 29;41(1):114. doi: 10.1186/s13046-022-02342-0.
- Chen, H., Pei, L., Xie, P. & Guo, G. 2020. *Circ-PRKDC Contributes to 5-Fluorouracil Resistance of Colorectal Cancer Cells by Regulating miR-375/FOXMI Axis and Wnt/ β -Catenin Pathway*. Onco Targets Ther. 23;13:5939-5953. doi: 10.2147/OTT.S253468. PMID: 32606803; PMCID: PMC7320885.
- Cheng, D., Wang, J., Dong, Z. & Li, X. 2021. *Cancer-related circular RNA: diverse biological functions*. Cancer Cell Int. 2021 Jan 6;21(1):11. doi: 10.1186/s12935-020-01703-z. PMID: 33407501; PMCID: PMC7789196.
- Comijn, J., Berx, G., Vermassen, P., Verschuere, K., van Grunsven, L., Bruyneel, E., Mareel, M., Huylebroeck, D. and van Roy, F. 2001. *The two-handed E box binding zinc finger protein SIP1 downregulates E-cadherin and induces invasion*. Mol Cell.7:1267–78.
- Danielsson, F., Peterson, M., K., Caldeira Araújo, H., Lautenschläger, F. and Gad, A., K., B. 2018. *Vimentin diversity in health and disease*. Cells. 7.
- Ding, B., Yao, M., Fan, W. & Lou, W. 2020. *Whole-transcriptome analysis reveals a potential hsa_circ_0001955/hsa_circ_0000977-mediated miRNA-mRNA regulatory sub-network in colorectal cancer*. Aging (Albany NY). 28;12(6):5259-5279. doi: 10.18632/aging.102945. Epub 2020 Mar 28. PMID: 32221048; PMCID: PMC7138558.
- Eger, A., Aigner, K., Sonderegger, S., Dampier, B., Oehler, S., Schreiber, M., Berx, G., Cano, A., Beug, H. and Foisner, R. 2005. *DeltaEF1 is a transcriptional repressor of E-cadherin and regulates epithelial plasticity in breast cancer cells*. Oncogene. 24:2375–85.
- Fang, G., Ye, B.L., Hu, B.R., Ruan, X.J. & Shi, Y.X. 2018. *CircRNA_100290 promotes colorectal cancer progression through miR-516b-induced downregulation of FZD4 expression and Wnt/ β -catenin signaling*. Biochem Biophys Res Commun. 26;504(1):184-189. doi: 10.1016/j.bbrc.2018.08.152. Epub 2018 Aug 30. PMID: 30173892.
- Geng, Y., Zheng, X., Hu, W., Wang, Q., Xu, Y., He, W., Wu, C., Zhu, D., Wu, C. & Jiang, J. 2019. *Hsa_circ_0009361 acts as the sponge of miR-582 to suppress colorectal cancer progression by regulating APC2 expression*. Clin Sci (Lond). 30;133(10):1197-1213. doi: 10.1042/CS20190286. PMID: 31109967.
- Guo, J.U., Agarwal, V., Guo, H. & Bartel, D.P. 2014. *Expanded identification and characterization of mammalian circular RNAs*. Genome Biol 15, 409.
- Hajra, K., M., Chen, D., Y. and Fearon, E., R. 2002. *The SLUG zinc-finger protein represses Ecadherin in*

- breast cancer*. *Cancer Res.* 62:1613–8.
- Hang, D., Zhou, J., Qin, N., Zhou, W., Ma, H., Jin, G., Hu, Z., Dai, J. & Shen, H. 2018. *A novel plasma circular RNA circFARSA is a potential biomarker for non-small cell lung cancer*. *Cancer Med.* 7(6):2783-2791. Epub PMID: 29722168; PMCID: PMC6010816.
- He, J.H., Li, Y.G., Han, Z.P., Zhou, J.B., Chen, W.M., Lv, Y.B., He, M.L., Zuo, J.D. & Zheng, L. 2018. *The CircRNA-ACAP2/Hsa-miR-21-5p/Tiam1 Regulatory Feedback Circuit Affects the Proliferation, Migration, and Invasion of Colon Cancer SW480 Cells*. *Cell Physiol Biochem.* 49(4):1539-1550. doi: 10.1159/000493457. Epub 2018 Sep 13. Erratum in: *Cell Physiol Biochem.* 2021;55(3):378. PMID: 30212824.
- Henry, N.L. & Hayes, D.F. 2012. *Cancer biomarkers*. *Molecular Oncology.* 6.
- Hong, Y.S., Nam, B.H., Kim, K.P., Kim, J.E., Park, S.J., Park, Y.S., Park, J.O., Kim, S.Y., Kim, T.Y., Kim, J.H., Ahn, J.B., Lim, S.B., Yu, C.S., Kim, J.C., Yun, S.H., Kim, J.H., Park, J.H., Park, H.C., Jung, K.H. & Kim, T.W. 2014. *Oxaliplatin, fluorouracil, and leucovorin versus fluorouracil and leucovorin as adjuvant chemotherapy for locally advanced rectal cancer after preoperative chemoradiotherapy (ADORE): an open-label, multicentre, phase 2, randomised controlled trial*. *Lancet Oncol.* 15(11):1245-53. Epub 2014 Sep 4. PMID: 25201358.
- Hsiao, K.Y., Lin, Y.C., Gupta, S.K., Chang, N., Yen, L., Sun, H.S. & Tsai, S.J. 2017. *Noncoding Effects of Circular RNA CCDC66 Promote Colon Cancer Growth and Metastasis*. *Cancer Res.* 2017 May 1;77(9):2339-2350. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-16-1883. Epub 2017 Mar 1. PMID: 28249903; PMCID: PMC5910173.
- Hua, X., Sun, Y., Chen, J., Wu, Y., Sha, J., Han, S. & Zhu X. 2019. *Circular RNAs in drug resistant tumors*. *Biomed Pharmacother.* 118:109233. doi: 10.1016/j.biopha.2019.109233. Epub 2019 Jul 24. PMID: 31351436.
- Jeck, W.R., Sorrentino, J.A., Wang, K., Slevin, M.K., Burd, C.E., Liu, J., Marzluff, W.F. & Sharpless, N.E. 2013. *Circular RNAs are abundant, conserved, and associated with ALU repeats*. *RNA* 2013;19:141-57.
- Ji, W., Qiu, C., Wang, M., Mao, N., Wu, S. & Dai Y. 2018. *Hsa_circ_0001649: A circular RNA and potential novel biomarker for colorectal cancer*. *Biochem Biophys Res Commun.* 26;497(1):122-126. doi: 10.1016/j.bbrc.2018.02.036. Epub 2018 Feb 6. PMID: 29421663.
- Jin, Y., Yu, L.L., Zhang, B., Liu, C.F. and Chen, Y. 2018. *Circular RNA hsa_circ_0000523 regulates the proliferation and apoptosis of colorectal cancer cells as miRNA sponge*. *Braz J Med Biol Res.* 2018; 51:e7811. <https://doi.org/10.1590/1414-431X20187811>
- Ju, H.Q., Zhao, Q., Wang, F., Lan, P., Wang, Z., Zuo, Z.X., Wu, Q.N., Fan, X.J., Mo, H.Y., Chen, L., Li, T., Ren, C., Wan, X.B., Chen, G., Li, Y.H., Jia, W.H. & Xu, R.H. 2019. *A circRNA signature predicts postoperative recurrence in stage II/III colon cancer*. *EMBO Mol Med.* 11(10):e10168. doi: 10.15252/emmm.201810168. Epub 2019 Sep 2. PMID: 31475771; PMCID: PMC6783650.
- Kalluri, R. and Neilson, E., G. 2003. *Epithelial-mesenchymal transition and its implications for fibrosis*. *J Clin Invest.* 112:1776–84.
- Kalluri, R., and Weinberg, R., A. 2009. *The basics of epithelial-mesenchymal transition*. *J Clin Invest.* 119:1420–8.
- Kang, Y. and Massague, J. 2004. *Epithelial-mesenchymal transitions: twist in development and metastasis*. *Cell.* 118:277–9.
- Kidd, M., E., Shumaker, D., K. and Ridge, K., M. 2014. *The role of vimentin intermediate filaments in the progression of lung cancer*. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 50:1–6.
- Kim, J.Y., Kim, J.S., Baek, M.J., Kim, C.N., Choi, W.J., Park, D.K., Namgung, H., Lee, S.C. & Lee, S.J. 2013. *Prospective multicenter phase II clinical trial of FOLFIRI chemotherapy as a neoadjuvant treatment for colorectal cancer with multiple liver metastases*. *J Korean Surg Soc.* 85(4):154-60. doi: 10.4174/jkss.2013.85.4.154. Epub 2013 Sep 30. PMID: 24106681; PMCID: PMC3791357.
- Lasda, E., & Parker, R. 2014. *Circular RNAs: diversity of form and function*. *RNA.* 20(12), 1829–1842. New York, N.Y.
- Lee, J., M., Dedhar, S., Kalluri, R. and Thompson, E., W. 2006. *The epithelial-mesenchymal transition: new insights in signaling, development, and disease*. *J Cell Biol.* 172:973–81.
- Lee, M.,S. and Kopetz, S.,Z. 2015. *Current and future approaches to target the epidermal growth factor receptor and its downstream signaling in metastatic colorectal cancer*, *Clin. Colorectal Cancer* 14 (4) 203–218.
- Lei, M., Zheng, G., Ning, Q., Zheng, J. & Dong, D. 2020. *Translation and functional roles of circular RNAs in human cancer*. *Molecular Cancer.* 19. 10.1186/s12943-020-1135-7.
- Li, A., Wang, W.C., McAlister, V., Zhou, Q. & Zheng, X. 2021. *Circular RNA in colorectal cancer*. *J Cell Mol Med.* 25(8):3667-3679. doi: 10.1111/jcmm.16380. Epub 2021 Mar 9. PMID: 33687140; PMCID: PMC8051750.
- Li, X., Wang, J., Zhang, C., Lin, C., Zhang, J., Zhang, W., Zhang, W., Lu, Y., Zheng, L. & Li, X. 2018. *Circular RNA circITGA7 inhibits colorectal cancer growth and metastasis by modulating the Ras pathway and upregulating transcription of its host gene ITGA7*. *J Pathol.* 246(2):166-179. doi: 10.1002/path.5125. Epub 2018 Aug 17. PMID: 29943828.

- Li, X.N., Wang, Z.J., Ye, C.X., Zhao, B.C., Li, Z.L. & Yang, Y. 2018. *RNA sequencing reveals the expression profiles of circRNA and indicates that circDDX17 acts as a tumor suppressor in colorectal cancer*. J Exp Clin Cancer Res. 37:325.
- Liang, D. & Wilusz, J.E. 2014. *Short intronic repeat sequences facilitate circular RNA production*. Genes & development. 28(20):2233–47. doi: 10.1101/gad.251926.114 PMID: 25281217; PubMed CentralPMCID: PMC4201285
- Lin, J., Cai, D., Li, W., Yu, T., Mao, H., Jiang, S. & Xiao, B. 2019. *Plasma circular RNA panel acts as a novel diagnostic biomarker for colorectal cancer*. Clin Biochem. 74:60-68. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2019.10.012. Epub 2019 Oct 26. PMID: 31669510.
- Long, F., Lin, Z., Li, L., Ma, M., Lu, Z., Jing, L., Li, X. & Lin, C. 2021. *Comprehensive landscape and future perspectives of circular RNAs in colorectal cancer*. Molecular Cancer. 20. 10.1186/s12943-021-01318-6.
- Longley, D.B., Harkin, D.P. & Johnston P.G. 2003. *5-fluorouracil: mechanisms of action and clinical strategies*. Nat Rev Cancer. 3:330–8.
- Lu, H., Yao, B., Wen, X. & Jia, B. 2019. *FBXW7 circular RNA regulates proliferation, migration and invasion of colorectal carcinoma through NEK2, mTOR, and PTEN signaling pathways in vitro and in vivo*. BMC Cancer. 19(1):918.
- Lu, Q., Gong, W., Wang, J., Ji, K., Wang, Y., Xu, C., Liu, Y., He, N., Du, L. & Liu, Q. 2018. *Identification of Circular RNAs Altered in Mouse Jejuna After Radiation*. Cell Physiol Biochem 47:2558-2568. doi: 10.1159/000491652
- Lu, M. 2020. *Circular RNA: functions, applications and prospects*. ExRNA. 2, 1.
- Memczak, S., Jens, M., Elefsinioti, A., Torti, F., Krueger, J., Rybak, A., Maier, L., Mackowiak, S.D., Gregersen, L.H., Munschauer, M., Loewer, A., Ziebold, U., Landthaler, M., Kocks, C., le Noble, F. & Rajewsky, N. 2013. *Circular RNAs are a large class of animal RNAs with regulatory potency*. Nature. 21;495(7441):333-8. doi: 10.1038/nature11928. Epub 2013 Feb 27. PMID: 23446348.
- Nadiah A., Hon K.W., Jeyaraman S., Yahaya A., Abdullah N.M., Mustangin M., Sulaiman S.A., Jamal R., Ab-Mutalib N.S. 2019. *Identification of differentially expressed circular RNAs in chemoresistant colorectal cancer*. Epigenomics. Jun; 11(8):875-884. doi: 10.2217/epi-2019-0042. Epub 2019 Apr 25. PMID: 31020847.
- National Cancer Registry, N.C.I. 2018. *Malaysian Study on Cancer (MySCan)*. Ministry Of Health. ISBN: 978-967-16142-0-4
- Nieto, M., A., Huang, R., Y., Jackson, R., A. and Thiery, J., P. 2016. *Emt*. Cell. 2016;166:21–45.
- Nisar, Sabah et al. “Insights Into the Role of CircRNAs: Biogenesis, Characterization, Functional, and Clinical Impact in Human Malignancies.” *Frontiers in cell and developmental biology* vol. 9 617281. 5 Feb. 2021, doi:10.3389/fcell.2021.617281
- Ren, C., Zhang, Z., Wang, S., Zhu, W., Zheng, P. & Wang, W. 2020. *Circular RNA hsa_circ_0001178 facilitates the invasion and metastasis of colorectal cancer through upregulating ZEB1 via sponging multiple miRNAs*. Biol Chem. 401(4):487-496.
- Salzman, J., Chen, R. E., Olsen, M. N., Wang, P. L., & Brown, P. O. 2013. *Cell-type specific features of circular RNA expression*. PLoS genetics, 9(9), e1003777.
- Sanger, H.L., Klotz, G., Riesner, D., Gross, H.J. & Kleinschmidt, A.K. 1976. *Viroids are single-stranded covalently closed circular RNA molecules existing as highly base-paired rod-like structures*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 73(11):3852-3856. DOI: 10.1073/pnas.73.11.3852. PMID: 1069269; PMCID: PMC431239.
- Schliemann, D., Paramasivam, D., Dahlui, M., Cardwell, C.R., Somasundaram, S., Ibrahim Tamin, N.S.B., Donnelly, C., Su, T.T. & Donnelly, M. 2020. *Change in public awareness of colorectal cancer symptoms following the Be Cancer Alert Campaign in the multi-ethnic population of Malaysia*. BMC Cancer. 25;20(1):252. doi: 10.1186/s12885-020-06742-3. PMID: 32213173; PMCID: PMC7093961.
- Subha, S.T. 2019. *Cancer: Its Alarming Trends*. Mal J Med Health Sci 15(3): 1-3, Oct 2019.
- Shen, T., Cheng, X., Liu, X., Xia, C., Zhang, H., Pan, D., Zhang, X. & Li, Y. 2019. *Circ_0026344 restrains metastasis of human colorectal cancer cells via miR-183*. Artif Cells Nanomed Biotechnol. 47(1):4038-4045. doi: 10.1080/21691401.2019.1669620. PMID: 31608699.
- Shi, L., Tao, C., Tang, Y., Xia, Y., Li, X. & Wang, X. 2020. *Hypoxia-induced hsa_circ_0000826 is linked to liver metastasis of colorectal cancer*. J Clin Lab Anal. 00:e23405.
- Simon, K. 2016. *Colorectal cancer development and advances in screening*. Clinical interventions in aging, 11, 967–976.
- Stagsted, L., Nielsen, K., Daugaard, I. & Hansen, T. 2019. *Noncoding AUG circRNAs constitute an abundant and conserved subclass of circles*. Life Sci Alliance. 2(3):e201900398.
- Summerer, I., Niyazi, M., Unger, K., Pitea, A., Zangen, V., Hess, J., Atkinson, M.J., Belka, C., Moertl, S. & Zitzelsberger, H. 2013. *Changes in circulating microRNAs after radiochemotherapy in head and neck cancer patients*. Radiat Oncol. 28;8:296. doi: 10.1186/1748-717X-8-296. Erratum in: Radiat Oncol. 2015;10:102. PMID: 24373621; PMCID: PMC3882107.

- Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R.L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A. & Bray, F. 2021. *Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries*. CA Cancer J Clin. 71: 209- 249.
- Suzuki, H. & Tsukahara, T. 2014. *A view of pre-mRNA splicing from RNase R resistant RNAs*. International journal of molecular sciences, 15(6), 9331–9342.
- Tang, W., Ji, M., He, G., Yang, L., Niu, Z., Jian, M., Wei, Y., Ren, L. & Xu, J. 2017. *Silencing CDR1as inhibits colorectal cancer progression through regulating microRNA-7*. Onco Targets Ther. 7;10:2045-2056. PMID: 28435295; PMCID: PMC5391170.
- Teh, H.S. & Woon, Y.L. 2021. *Burden of cancers attributable to modifiable risk factors in Malaysia*. BMC Public Health 21, 410.
- Tse, J., C. and Kalluri, R. 2007. *Mechanisms of metastasis: epithelial-to-mesenchymal transition and contribution of tumor microenvironment*. J Cell Biochem. 101:816–29.
- Veettil, S.K., Lim, K.G., Chaiyakunapruk, N., Ching, S.M. & Abu Hassan, M.R. 2016. *Colorectal cancer in Malaysia: Its burden and implications for a multiethnic country*. Asian Journal of Surgery. 40(6):481-489.
- Wang, X., Zhang, H., Yang, H., Bai, M., Ning, T., Deng, T., Liu, R., Fan, Q., Zhu, K., Li, J., Zhan, Y., Ying, G. & Ba, Y. 2020. *Exosome-delivered circRNA promotes glycolysis to induce chemoresistance through the miR-122-PKM2 axis in colorectal cancer*. Mol Oncol. 14(3):539-555. Epub 2020 Jan 24. PMID: 31901148; PMCID: PMC7053238.
- Wang, X., Zhang, Y., Huang, L., Zhang, J., Pan, F., Li, B., Yan, Y., Jia, B., Liu, H., Li, S. & Zheng, W. 2015. *Decreased expression of hsa_circ_001988 in colorectal cancer and its clinical significances*. Int J Clin Exp Pathol. 1;8(12):16020-5. PMID: 26884878; PMCID: PMC4730091.
- Wang, Y., Mo, Y, Gong, Z., Yang, X., Yang, M., Zhang, S., Xiong, F., Xiang, B., Zhou, M., Liao, Q., Zhang, W., Li, X., Li, X, Li, Y., Li, G., Zeng, Z. & Xiong, W. 2017. *Circular RNAs in human cancer*. Mol Cancer. 31;16(1):25. doi: 10.1186/s12943-017-0598-7. PMID: 28143578; PMCID: PMC5282898.
- Weng, W., Wei, Q., Toden, S., Yoshida, K., Nagasaka, T., Fujiwara, T., Cai, S., Qin, H., Ma, Y. & Goel, A. 2017. *Circular RNA ciRS-7-A Promising Prognostic Biomarker and a Potential Therapeutic Target in Colorectal Cancer*. Clin Cancer Res. 15;23(14):3918-3928. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-16-2541. Epub 2017 Feb 7. PMID: 28174233; PMCID: PMC5511556.
- Wu, L., Xia, J., Yang, J., Shi, Y., Xia, H., Xiang, X. and Yu, X. 2018. *Circ-ZNF609 promotes migration of colorectal cancer by inhibiting Gli1 expression via microRNA-150*. J BUON 23: 1343-1349.
- Xiong, W., Ai, Y.Q., Li, Y.F., Ye, Q., Chen, Z.T., Qin, J.Y., Liu, Q.Y., Wang, H., Ju, Y.H., Li, W.H. & Li, Y.F. 2017. *Microarray Analysis of Circular RNA Expression Profile Associated with 5-Fluorouracil-Based Chemoradiation Resistance in Colorectal Cancer Cells*. Biomed Res Int. 2017;2017:8421614. doi: 10.1155/2017/8421614. Epub 2017 Jun 1. PMID: 28656150; PMCID: PMC5471554.
- Xu, H., Wang, C., Song, H., Xu, Y. & Ji, G. 2019. *RNA-Seq profiling of circular RNAs in human colorectal Cancer liver metastasis and the potential biomarkers*. Mol Cancer. 18(1):8.
- Xu, X.W., Zheng, B.A., Hu, Z.M., Qian, Z.Y., Huang, C.J., Liu, X.Q. & Wu, W.D. 2017. *Circular RNA hsa_circ_000984 promotes colon cancer growth and metastasis by sponging miR-106b*. Oncotarget. 10;8(53):91674-91683. doi: 10.18632/oncotarget.21748. PMID: 29207676; PMCID: PMC5710956.
- Xu, H., Wang, C., Song, H., Xu, Y. & Ji, G. (2019). *RNA-Seq profiling of circular RNAs in human colorectal Cancer liver metastasis and the potential biomarkers*. Molecular Cancer. 18. 10.1186/s12943-018-0932-8.
- Yang, J. and Weinberg, R., A. 2008. *Epithelial-mesenchymal transition: at the crossroads of development and tumor metastasis*. Dev Cell. 14:818–29.
- Yang, H., Li, X., Meng, Q., Sun, H., Wu, S. and Hu, W. 2020. *CircPTK2 (hsa_circ_0005273) as a novel therapeutic target for metastatic colorectal cancer*. Mol Cancer. 19:13.
- Yang, G., Zhang., T., Ye, J, Yang J, Chen C, Cai S, and Ma, J. 2019. *Circ-ITGA7 sponges miR-3187-3p to upregulate ASXL1, suppressing colorectal cancer proliferation*. Cancer Manag Res. 2019;11:6499–509 doi: 10.2147/CMAR.S203137. PMID: 31372051; PMCID: PMC6636182.
- Yin W., Xu J., Li C., Dai X., Wu T., and Wen J. (2020). *Circular RNA circ_0007142 facilitates colorectal cancer progression by modulating CDC25A expression via miR 122 5p*. OncoTargets Ther 13: 3689 3701.
- Yuan, Y., Liu, W., Zhang, Y., Zhang, Y. & Sun, S. 2018. *CircRNA circ_0026344 as a prognostic biomarker suppresses colorectal cancer progression via microRNA-21 and microRNA-31*. Biochem Biophys Res Commun. 2018;503(2):870-875.
- Zeng, K., Chen, X., Xu, M., Liu, X., Hu, X. & Xu, T. 2018. *CircHIPK3 promotes colorectal cancer growth and metastasis by sponging miR-7*. Cell Death Dis. 9:417.
- Zeng, K., Chen, X., Xu, M., Liu, X., Hu, X., Xu, T., Sun, H., Pan, Y., He ,B. & Wang, S. 2018. *CircHIPK3 promotes colorectal cancer growth and metastasis by sponging miR-7*. Cell Death Dis. 1;9(4):417. doi: 10.1038/s41419-018-0454-8. PMID: 29549306; PMCID: PMC5856798.

- Zeng, Y., Xu, Y., Shu, R., Sun, L., Tian, Y., Shi, C., Zheng, Z., Wang, K. & Luo, H. 2017. *Altered expression profiles of circular RNA in colorectal cancer tissues from patients with lung metastasis*. Int J Mol Med. 40(6):1818-1828. Epub 2017 Oct 16. PMID: 29039473; PMCID: PMC5716445.
- Zhang, J., Liu, H., Zhao, P., Zhou, H. & Mao, T. 2019. *Has_circ_0055625 from circRNA profile increases colon cancer cell growth by sponging miR-106b-5p*. J Cell Biochem. 120(3):3027-3037.
- Zhang, P., Zuo, Z., Shang, W., Wu, A., Bi, R., Wu, J., Li, S., Sun, X. & Jiang, L. 2017. *Identification of differentially expressed circular RNAs in human colorectal cancer*. Tumour Biol. 39(3):1010428317694546. PMID: 28349836.
- Zhang, X.L., Xu, L.L. and Wang, F. 2017. *Hsa_circ_0020397 regulates colorectal cancer cell viability, apoptosis and invasion by promoting the expression of the miR-138 targets TERT and PD-L1*. Cell BiolInt. 2017;41(9):1056–1064.
- Zhao, W., Dong, M., Pan, J., Wang, Y., Zhou, J., Ma, J. & Liu, S. 2019. *Circular RNAs: A novel target among non-coding RNAs with potential roles in malignant tumors (Review)*. Mol Med Rep. 20(4):3463-3474. Epub 2019 Sep 2. PMID: 31485661; PMCID: PMC6755165.
- Zhou, B., Liu, Y., Kahn, M., Ann, D., K., Han, A., Wang, H., Nguyen, C., Flodby, P., Zhong, Q. and Krishnaveni, M., S. 2012. *Interactions between beta-catenin and transforming growth factor-beta signaling pathways mediate epithelial mesenchymal transition and are dependent on the transcriptional co-activator cAMP-response element-binding protein (CREB)-binding protein (CBP)*. J Biol Chem. 287:7026–38.
- Zheng, X., Chen, L., Zhou, Y., Wang, Q., Zheng Z., Xu, B., Wu, C., Zhou, Q., Hu, W., Wu, C. & Jiang, J. 2019. *A novel protein encoded by a circular RNA circPPP1R12A promotes tumor pathogenesis and metastasis of colon cancer via Hippo-YAP signaling*. Mol Cancer. 2019 Mar 29;18(1):47. doi: 10.1186/s12943-019-1010-6. Erratum in: Mol Cancer. 2021 Feb 25;20(1):42. PMID: 30925892; PMCID: PMC6440158.
- Zheng, X., Ma, Y.F., Zhang, X.R., Li, Y., Zhao, H.H. & Han SG. 2020. *Circ_0056618 promoted cell proliferation, migration and angiogenesis through sponging with miR-206 and upregulating CXCR4 and VEGF-A in colorectal cancer*. Eur Rev Med Pharmacol Sci. 24:4190–202.
- Zhu, M., Xu, Y., Chen, Y. & Yan, F. 2017. *Circular BANP, an upregulated circular RNA that modulates cell proliferation in colorectal cancer*. Biomed Pharmacother. 88:138-144.
- Zhu, C., L., Sha, X., Wang, Y., Li, J., Zhang, M., Y., Guo, Z., Y., Sun, S., A., and He JD. (2019). *Circular RNA hsa_circ_0007142 is upregulated and targets miR 103a 2 5p in colorectal cancer*. J Oncol 2019: 9836819.

Siti Nurmi Nasir

Nadiah Abu*

UKM Medical Molecular Biology Institute (UMBI),
Universiti Kebangsaan Malaysia,
56000 Kuala Lumpur, Malaysia

*Correspondence: nadiah.abu@ppukm.ukm.edu.my