

环状 RNA 在恶性肿瘤发生发展和诊疗中的研究进展*

宗曾艳^{1,2}, 孔凡虹¹, 王萌萌^{1,2}, 熊 丹^{1,2} 综述, 张秀明^{1,2△} 审校

(1. 深圳大学第三附属医院医学检验科, 广东深圳 518001; 2. 安徽理工大学医学院, 安徽淮南 232000)

摘 要: 环状 RNA(circRNA) 是一类共价闭合环状的内源性非编码 RNA, 在各种真核细胞基因组广泛存在。因其具有丰度高、结构稳定、高度保守及组织特异表达等性质, 成为最近几年研究的热点。研究发现, circRNA 竞争性吸附微小 RNA(miRNA), 作为 miRNA 海绵, 参与多种基因的表达调控, 在肿瘤发生发展、侵袭转移等过程中发挥重要作用。该文就 circRNA 的起源、特征、功能及其在肿瘤发生发展、侵袭转移、诊断预后方面的研究作以下综述。

关键词: 环状 RNA; 非编码 RNA; 肿瘤; 侵袭转移; 诊断和预后

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2020.01.032 **中图法分类号:**R730.2

文章编号:1673-4130(2020)01-98-06

文献标识码:A

Research progress of circular RNA in carcinogenesis, development, diagnosis and treatment of malignant tumors*

ZONG Zengyan^{1,2}, KONG Fanhong¹, WANG Mengmeng^{1,2}, XIONG Dan^{1,2}, ZHANG Xiuming^{1,2△}

(1. Department of Clinical Laboratory, the Third Affiliated Hospital of Shenzhen University, Shenzhen, Guangdong 518001, China; 2. Medical College, Anhui University of Science and Technology, Huainan, Anhui 2323000, China)

Abstract: Circular RNA (circRNA) is a kind of covalently closed circular endogenous non-coding RNA, which is widely found in the genomes of various eukaryotic cells. Because of its characteristics of high abundance ratios, stable structure, highly conservative and specific expression of tissue, circRNA has become the focus of research in recent years. It was found that circRNA competitively adsorbs miRNA, as a miRNA sponge, it is involved in the expression regulation of a variety of genes and plays an important role in tumor development, invasion, metastasis and other processes. In this paper, the origin, characteristics and functions of circRNA and its role in tumor development, invasion and metastasis, diagnosis and prognosis are reviewed.

Key words: circular RNA; non-coding RNA; tumor; invasion and metastasis; diagnosis and prognosis

环状 RNA(circRNAs) 是 1976 年使用电子显微镜在 RNA 病毒研究中首次被发现的^[1], 此后在人类中也检测到了 circRNA^[2]。过去很长时间内, 因为受检测技术的制约, circRNA 一直被认为是 RNA 在剪切过程中产生的无作用的错误产物, 随着生物信息和高通量测序技术的进步, 研究人员发现并且鉴定了大量 circRNA。与线性 RNA 不同, 是闭合的环状结构, 能抵抗核糖核酸酶(RNase)降解, 更具有稳定性, 可能在人体中有着特殊作用, 现在的很多研究已经证实, circRNA 在心血管, 糖尿病, 神经系统等疾病中均有表达上调或下调现象^[3-5], 尤其在很多肿瘤疾病中也

有异常表达, 在不同的肿瘤类型和分期中发挥着抑癌基因, 原癌基因或者两者共兼的作用^[6], 人们对于环状 RNA 作为肿瘤诊断, 治疗等的潜力也正在逐步进行挖掘。

1 circRNA 的特征及产生机制

1.1 circRNA 的特征 基于目前的研究, circRNA 已经被发现具有一些独特的特征, 第一, circRNA 种类繁多, 含量丰富, 半衰期长, 对来自人类、猕猴和小鼠的多种组织的 circRNA 序列进行大规模研究, 分别从这 3 个物种中发现了 104 388、96 675 和 82 321 个 circRNA, 在一些特殊情况下它的表达量甚至能达到

* 基金项目: 国家自然科学基金面上项目(81772921); 国家自然科学基金青年科学基金项目(81502344); 深圳市卫生计生委学科建设能力提升项目(SZXJ2017018); 深圳市医疗卫生三名工程(SZSM201601062)。

△ 通信作者, E-mail: ZXMO760@163.com。

本文引用格式: 宗曾艳, 孔凡虹, 王萌萌, 等. 环状 RNA 在恶性肿瘤发生发展和诊疗中的研究进展[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 41(1): 98-

其相应的线性 mRNA 的 10 倍以上^[7-8],并且还提示细胞质中的 circRNA 半衰期比与之对应的线性 RNA 平均 20 h 的半衰期更长,大多是在 48 h 以上,它们在各种组织、细胞、体液中都有丰富的表达^[9]。第二,具有很好的稳定性,这是由于其独特的首尾紧闭连续环状结构,缺乏与各种细胞蛋白相互作用所必需的帽和尾结构,而不易被核酸外切酶降解,使其更加稳定^[2],利于检验人员在血浆、组织及外泌体中检测到,并因此有望成为肿瘤标志物。第三, circRNA 还具有细胞、组织和发育阶段特异度, circRNA 在造血细胞,血小板,红细胞及其成熟过程中差异表达,发挥着尚未得到充分认识的作用^[10]。RYBAK-WOLF 等^[11]的研究中对 29 种不同类型或不同阶段的神经细胞和组织的核糖体缺失 RNA 进行了全面测序和分析,发现 circRNA 在大脑中具有高特异度表达。 circRNA 含量在神经组织^[12],尤其是突触等永久细胞中丰度很高,其水平受神经元活动调节^[13],而在不稳定细胞中丰度很低。在 PATOP 等^[14]的研究中,证明了由于 circRNA 高的复制率使其含量被稀释,使得 circRNA 丰度和细胞增殖之间存在负相关关系。第四, circRNA 在物种进化中显示出高度保守性。例如,常表达于人类中的一些 circRNA,能在小鼠中检测到,有时甚至能在果蝇的大脑中发现^[11]。斑马鱼 29% circRNA 序列与人类、小鼠和腔棘细胞 circRNA 序列具有同源性^[15]。

1.2 circRNA 的产生机制 在真核生物中, circRNA 大多是由 mRNA 前体反剪接而来,反剪接是指上游外显子的 5'端与下游外显子的 3'端交替循环,产生共价闭合环状。 circRNA 的来源途径有多种,大多取决于供体的转录本,可能来源于外显子^[7],内含子^[16],外显子-内含子^[17]或者来自基因间的区域^[18],外显子 circRNA 含量最多,主要存在于真核生物细胞胞质中,内含子模式的主要存在于细胞核。现在发现的外显子 circRNA 主要形成过程有直接索尾连接和外显子跳跃两种。直接索尾连接是打破传统的线性 RNA 剪切,而由外显子反向剪切,将 5'帽和 3'尾端连接起来形成内源性环状闭合的 RNA^[19];外显子跳跃,是指上游外显子 3'端的剪接受体位点连接到下游外显子 5'帽剪接供体位点,形成含有一个或多个跃迁外显子的 RNA 套索,然后,套索中的内含子序列被移除,从而产生成熟的外显子 circRNA^[20],以第一种最为常见。

2 circRNA 的调控机制

2.1 circRNA 作为 miRNA 海绵 miRNA 是一类由小的非编码 RNA,通过结合相应的 miRNA 反应元件来调节靶标 mRNA 的翻译的群体, miRNA 海绵是

某些 circRNA 的主要功能。例如, circs-7 是目前研究最为成熟的 circRNA,因其拥有 70 多个保守的微小反应原件,能与 AGO 蛋白协同影响 miR-7 在中枢神经系统中的功能^[3], Circ-TCF25 作为 miR-103 和 miR-107 的海绵与膀胱癌细胞的一些恶性表型相关,能促进细胞周期蛋白依赖性激酶 6 (CDK6)的表达类似的^[21], circRNA_100290 可能作为一种竞争性的内源性 RNA,通过吸收 miR-29b 家族成员来调控 CDK6 的表达^[22]。通过微阵列分析及生物学信息和荧光素酶基因报告分析证明 circRNA_0084043 可能作为 miR-153-3p 的海绵,直接与之结合,发挥着致癌基因的作用,促进黑色素瘤的生长、迁移^[23]。 LI 等^[24]已经证实 circVAPA 在结直肠癌 (CRC) 患者组织和血浆中上调,并通过海绵 miR-101 在 CRC 中发挥致癌特性。

2.2 参与基因表达的调控 一般来说, circRNA 由于其在细胞内的位置和特殊结构,可以通过与 RNA 聚合酶协同,与作为海绵的线性 RNA 竞争,来调控其亲代或下游基因的表达,最终在转录、翻译阶段改变基因表达。有研究表明^[25-26], circRNA 可能在基因调控中发挥关键作用。

2.2.1 与 RNA 聚合酶结合形成转录复合体 外显子环状 RNA (EIciRNA) 可以与细胞核中的 RNA 聚合酶结合来调控其自身所对应基因的表达,例如与真核翻译起始因子 3 亚基 J, poly (A) 结合蛋白相互作用蛋白 2 结合,主要富集在细胞核,与 U1 小核核糖核酸颗粒和 RNA 聚合酶 II 相互作用,以顺式作用的方式增强亲本基因的转录,这表明可能在转录水平发挥作用^[27-28]。例如一个内含子 circRNA (ciRNA) 锚蛋白副本区域 52 (ciankrd52),能够与聚合酶 II (Pol II) 机制相互作用,通过富集亲本基因的转录位点,积极调控 Pol II 转录活性,因此,敲除 ci ankrd52 可能降低亲本基因表达^[29]。

2.2.2 与其他非编码 RNA 竞争 circRNA 与线性 RNA 竞争,反向剪接是 circRNA 形成的主要机制,规范的剪接 mRNA 前体 (pre-mRNA) 形成线性 RNA,而经反向剪切形成 circRNA,所以 circRNA 的合成通常以其线性等价物为代价的^[30],故两者剪接形式之间存在竞争。 circRNA 作为一种竞争内源性 RNA (ceRNA),还可以与 miRNA 竞争,影响靶 RNA 的稳定性或翻译,从而在转录水平上调控基因表达,进而参与肿瘤细胞增殖、侵袭和迁移等生物学过程^[31]。

2.3 circRNA 具有编码蛋白的能力 传统观点, 5'帽和 3'尾是很重要的原件,能起始和推动翻译,因此没有 5'帽和 3'尾结构的 circRNA 被认为没有编码蛋白的功能。但是来自盲肌位点的 circRNA 的翻译为

circRNA 具有编码蛋白的能力提供了强有力的证据^[32]。在 XIN 等^[33]和 CHEN 等^[27]的研究中,由外显子,外显子-内含子产生的 circRNA 具有开放阅读框,而有翻译成多肽或蛋白质的潜力。YUN 等^[34]首次发现了 RNA 最丰富的碱基修饰,即在 circRNA 的 A 甲基的第 6 位加 N 元素(m6A),到达高效启动蛋白翻译作用,这种单个的 m6A 位点就足以驱动翻译起始。

3 circRNA 参与肿瘤进程

随着研究的深入,已经有越来越多证据表明,circRNA 与肿瘤病毒作用关系密切,调控肿瘤的发生、发展,参与肿瘤细胞周期,增殖过程,促进肿瘤侵袭和迁移能力,在对肿瘤早期诊断和预后等阶段显示出巨大潜力。

3.1 circRNA 在肿瘤发生中的研究进展 circRNA 在人体中表达差异,尤其在肿瘤细胞中表达类型和丰度差异更大,因此其可能与肿瘤发生,发展有关。例如,在 CHEN 等^[35]的研究中,表明 circRNA 与直肠癌,乳腺癌等肿瘤疾病的发生有关。

3.1.1 调节细胞周期和肿瘤细胞增殖 细胞增殖调控是一个复杂而精确的过程,由多种信号驱动,这些信号通过调节细胞周期使细胞分裂和生长。许多研究表明,circRNA 在控制肿瘤增殖方面发挥重要作用。YANG 等^[36]采用定量蛋白质组学,发现小脑退化相关蛋白 1 反义 RNA (CDR1as)是一种罕见的致癌 circRNA,对肝癌患者细胞中 CDR1as 调控蛋白进行了鉴定,发现了高达 330 个在肝癌细胞 G2 期增强 CDR1as 表达的不同蛋白,这表明它们可能是受 CDR1as 调控的蛋白,因此 CDR1as 发挥调控蛋白作用,影响肝癌细胞的增殖周期,参与肿瘤的发生。LI-ANG 等^[37]研究结果发现 circ-ABCB10 在乳腺癌组织中表达明显上调,在接下来的菌落形成实验、细胞周期分析和凋亡实验中,发现与健康对照组相比,敲除 circ-ABCB10 基因后,G₀/G₁ 期细胞明显增多,乳腺癌细胞不能正常分化,乳腺癌细胞增殖受到抑制,促进细胞凋亡,为临床早期预防提供了新策略。通过双荧光素酶检测,有研究证明^[38]circRNA_100269 过表达抑制胃癌细胞增殖,与 miR-630 呈负相关关系,circRNA_100269 和 miR-630 的直接相互作用构成了调控 GC 细胞增殖的新途径。

3.1.2 促进肿瘤侵袭和迁移 有研究^[39]发现 circHIPK3 沉默能抑制鼻咽癌细胞迁移和侵袭。在 YUAN 等^[40]的研究中,证实 circ_0026344 水平与结直肠癌(CRC)的进展及淋巴结转移呈负相关关系。沉默 ZKSCAN1 mRNA 和 circZKSCAN1 均可促进细胞增殖、迁移和侵袭,相反的,这两种形式的 RNA 的

过表达在体内和体外能抑制肝癌的生长、迁移和侵袭^[41]。研究表明雄激素受体(AR)在促进透明细胞肾细胞癌(ccRCC)转移中发挥重要作用,而 circH1AT1 具有抑制 AR 增强 ccRCC 细胞迁移和侵袭作用^[42]。LI 等^[43]发现,胃癌组织中 hsa_circ_0000096 表达明显低于癌旁非肿瘤组织,进一步分析表明,hsa_circ_0000096 通过抑制细胞周期蛋白 D1、周期蛋白依赖激酶 6(CDK6)、基质金属蛋白酶 2(MMP-2)和 MMP-9 的表达,抑制 GC 细胞转移。PRMT5 circRNA 通过结合海绵 miR-30c 诱导上皮-间质转化,促进膀胱尿路上皮癌的迁移^[44]。而 ZHU 等^[45]的研究,发现 hsa_circ_0013958 在肺癌患者组织、细胞和血浆中都证实了表达上调,并且表达水平与 TNM 分期和淋巴转移有关。Hsa_circ_0072995 调控乳腺癌细胞的侵袭和迁移^[46]。

3.1.3 circRNA 在病毒相关肿瘤中的作用 肿瘤病毒包括人乳头瘤病毒、多瘤病毒、腺病毒等,可引起多种肿瘤。病毒与宿主因子之间的作用机制还不是很了解,有研究表明 circRNA 与病毒相互作用,诱导肿瘤发生或作为病毒性 circRNA 和抗病毒性 circRNA 参与未来肿瘤的治疗。在对卡波氏肉瘤(KSHV)的研究^[47]中,在 KSHV 感染细胞和 KSHV 阳性患者检测到了 hsa_circ_0001400,它可以通过抑制关键的病毒基因而发挥抗病毒分子的作用,这是新的宿主病毒与 circRNA 相互作用机制,加深了笔者对这种肿瘤病毒的理解,推测在其他病毒感染导致的肿瘤中可能也有这种情况,因此这种抗病毒 circRNA 或病毒 circRNA 可能作为未来治疗病毒所致肿瘤的靶点。经过 UNGERLEIDER 等^[48]的一系列实验,确定了广泛的病毒 circRNA 可能在 EB 病毒感染的伯基特瘤和胃癌以及那些在病毒裂解复制的潜伏阶段起着独特的作用,该研究进一步扩展了病毒转录组的功能,并为发现 EBV 如何促进感染、诱导肿瘤发生的新机制奠定了基础。在 TOPTAN 等^[49]的研究中,发现 EB 病毒(EBV)和卡波氏肉瘤疱疹病毒(KSHV)能导致 2% 的人类癌症,包括 EBV 阳性的 Burkitt 淋巴瘤、鼻咽癌等,EBV 和 KSHV 都能编码 circRNA,是一类新的病毒转录产物,在病毒相关肿瘤中表达,可能有助于病毒的致癌,为在肿瘤病毒发病机制中发挥作用的新形式的病毒基因表达研究提供了一个方向。ZHANG 等^[50]发现 circRNA (circ-Vav3)在宿主或宿主细胞感染禽白血病病毒 J 亚群(ALV-J)后表达上调,circ-Vav3 通过增强 gga-miR-375 靶基因 YAP1 表达,进一步研究证实了 circ-Vav3/gga-miR-375/YAP1 轴可以影响上皮间质转化(EMT),而促进禽类肝脏肿瘤形成。高危人乳头瘤病毒 E7 癌基因的表达

是维持恶性表型和转化的必要条件,ZHENG 等^[51]首次全面描述了 HPV-16 E7 调控的 circRNA 在宫颈癌细胞中的表达谱,直接证明了病毒致癌基因有可能影响多个 circRNA 的丰度,促进 HPV 阳性癌细胞的生长。这些研究增加了笔者对 circRNA 与病毒相关的肿瘤机制的认识。

3.2 circRNA 在肿瘤诊断中的研究进展 临床上对恶性肿瘤的早期诊断对于患者的治疗,预后十分重要。肿瘤诊断领域一直是全球科学家研究的热点,新的肿瘤诊断方法不断涌现,而非侵入性生物标志物或液体活组织检查有可能很大程度上促进肿瘤患者的生存率,因为可以重复采样以便实时,动态监测疾病进展,这两者都是个性化医疗的基石。现有的诊断肿瘤的技术包括核磁共振成像、CT、病理组织切片等费用昂贵,并且需要注射造影剂,对人体有一定创伤性。而 circRNA 的稳定性,特异度,含量丰富,在肿瘤组织与正常组织中表达异常等特征,是未来作为恶性肿瘤早期诊断的理想的标志物^[52]。现有的研究表明,hsa_circ_0000190 可能是一种新的无创胃癌诊断生物标志物,其灵敏度和特异度均优于常用的 CEA、CA19-9 等生物标志物^[53]。hsa_circRNA_100395 等关键的 circRNA 有望作为 乳头状甲状腺癌的 诊断生物标志物^[54]。ZHU 等^[45]的研究结果表明,hsa_circ_0013958 可以作为一种潜在的无创生物标志物,用于肺腺癌的早期诊断和筛选。

3.3 circRNA 在肿瘤预后中的研究进展 有研究发现,circRNA 在判断肿瘤预后情况和预测复发中起着重要作用。在 YUAN 等^[40]的研究中,通过异种移植实验,表明 circ_0026344 过表达能促进细胞凋亡,提示 circ_0026344 是一种抑制基因,低表达预测 CRC 患者预后不良,可作为未来临床判断 CRC 预后情况指标。在另外一个研究中,运用逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)对 102 个肝癌患者(HCC)的样本进行了微阵列分析发现,circZKSCAN1 表达明显低于相邻非肿瘤组织中,差异有统计学意义($P < 0.05$),并且将会以此建立该肿瘤的相关预后标志物^[41]。在一个类似的肝癌研究中^[55],circMTO1 被证明作为 miR-9 致癌的海绵能促进 p21 的表达,抑制 HCC 的进展,提示 circMTO1 是 HCC 治疗有利的结合位点,而 HCC 组织中 circMTO1 的表达降低可能是患者生存期较差的预后指标。SHUAI 等^[56]的研究成果表明,circRNA_0000285 可能是鼻咽癌患者预后的一个独立预后因素,提示 circRNA_0000285 可能是鼻咽癌的一种新的生物标志物并与鼻咽癌的放射敏感性有很大关系。类似的。有研究^[39]表明 circHIPK3 表达水平也可以作为鼻咽癌患者预后的一个指标。cir-

cPRMT5 作为一种新型的致癌 circRNA,也是膀胱尿路上皮癌的预后标志物^[44]。circ-FBXW7I 编码功能蛋白 FBXW7-185aa,可能对胶质瘤的预后潜在的有潜在的影响^[57]。

4 该领域存在的问题

该领域的研究仍存在一些不足。首先,对 circRNA 的识别、量化、验证以及过表达和沉默方法都依赖于特定的反剪接,由于单个 circRNA 的序列与其同源的线性 RNA 亚型完全重叠,因此分析 circRNA 的功能意义一直是一个挑战^[58]。第二,关于其转录后调控机制仍有待探索。例如,还不了解它们最终如何被降解,以及它们的结构如何与相对应线性 RNA 产生功能差异的。第三,专门用于确定 circRNA 的生物信息学预测仍处于初级阶段,circRNA 的命名大多数是根据其功能命名的,而没有明确,正式的规则^[35],命名标准化将有助于生物信息学和 circRNA 起源和功能的实验研究。虽然现在已经建立了几个数据库,但基于生物信息学的方法也会出现误差,因此应谨慎处理对 circRNA 的注释,并结合多种算法,及时更新数据库,便于更全面准确地利用这些数据库。第四,除了经典的反剪接和外显子跳跃形成 circRNA 外,还有其他剪接或转录后修饰的模式可能存在,例如通过逆转录酶的模板切换、串联复制等^[58]。此外,现有的检测方法还难以对 circRNA 和其他类型的微小 RNA 进行准确的区分。虽然 Northern blot 方法因其直观准确、不容易出现模板切换等特点,被提议为 circRNA 研究的金标准^[27],但更为准确的研究技术还有待于进一步开发。

5 总 结

目前,对 circRNA 特征及功能方面的研究已比较成熟。circRNA 在肿瘤发生发展、侵袭转移方面的调控机制研究也取得了很大进展。但 circRNA 在临床应用方面还存在一些不足。如 circRNA 应用于疾病分子标志物还缺乏大批量临床验证,还停留于基础研究阶段,难以做到向临床转化。根据以往研究,circRNA 主要功能之一是充当 miRNA 海绵。因此,通过研究内源性环状海绵结构,结合位点等,设计和开发有效的人工海绵,或者根据其特殊的反剪接形成机制研究出能增强有利 circRNA 表达和沉默有弊 circRNA 的新药物,在不产生副作用的情况下调控人体中 circRNA 丰度,最大限度的将 circRNA 运用于临床。

参考文献

[1] SANGER H L,KLOTZ G,RIESNER D,et al. Viroids are single-stranded covalently closed circular RNA molecules

- existing as highly base-paired rod-like structures[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1976, 73(11):3852-3856.
- [2] 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.
 - [3] 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.
 - [4] WU N, JIN L, CAI J. Profiling and bioinformatics analyses reveal differential circular RNA expression in hypertensive patients[J]. *Clin Exp Hypertens*, 2017, 39(5):454-459.
 - [5] ZHANG S J, CHEN X, LI C P, et al. Identification and characterization of circular RNAs as a new class of putative biomarkers in diabetes retinopathy[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2017, 58(14):6500-6509.
 - [6] QIAN L, YU S, CHEN Z, et al. The emerging role of circRNAs and their clinical significance in human cancers[J]. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*, 2018, 1870(2):247-260.
 - [7] JECK W R, SORRENTINO J A, WANG K, et al. Circular RNAs are abundant, conserved, and associated with ALU repeats[J]. *RNA*, 2013, 19(2):141-157.
 - [8] JI P, WU W, CHEN S, et al. Expanded expression landscape and prioritization of circular rnas in mammals[J]. *Cell Rep*, 2019, 26(12):3444-3460.
 - [9] ZHANG Z, YANG T, XIAO J. Circular RNAs: promising biomarkers for human diseases[J]. *Bio Med*, 2018, 34(1):267-274.
 - [10] NICOLET B P, ENGELS S, AGLIALORO F, et al. Circular RNA expression in human hematopoietic cells is widespread and cell-type specific[J]. *Nucleic Acids Res*, 2018, 46(16):8168-8180.
 - [11] RYBAK-WOLF A, STOTTMEISTER C, GLAZAR P, et al. Circular RNAs in the mammalian brain are highly abundant, conserved, and dynamically expressed[J]. *Mol Cell*, 2015, 58(5):870-885.
 - [12] YOU X, VLATKOVIC I, BABIC A, et al. Neural circular RNAs are derived from synaptic genes and regulated by development and plasticity[J]. *Nat Neurosci*, 2015, 18(4):603-610.
 - [13] HANAN M, SOREQ H, KADENER S. CircRNAs in the brain[J]. *RNA Biol*, 2017, 14(8):1028-1034.
 - [14] PATOP I L, KADENER S. CircRNAs in Cancer[J]. *Curr Opin Genet Dev*, 2018, 48(1):121-127.
 - [15] SHEN Y, GUO X, WANG W. Identification and characterization of circular RNAs in zebrafish[J]. *FEBS Lett*, 2017, 591(1):213-220.
 - [16] TALHOUARNE G J S, GALL J G. Lariat intronic RNAs in the cytoplasm of vertebrate cells[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2018, 115(34):7970-7977.
 - [17] MENG X, LI X, ZHANG P, et al. Circular RNA: an emerging key player in RNA world[J]. *Brief Bioinform*, 2017, 18(4):547-557.
 - [18] LU Z, FILONOV G S, NOTO J J, et al. Metazoan tRNA introns generate stable circular RNAs in vivo[J]. *RNA*, 2015, 21(9):1554-1565.
 - [19] ARNAIZ E, SOLE C, MANTEROLA L, et al. CircRNAs and cancer: Biomarkers and master regulators[J]. *Semin Cancer Biol*, 2018, 12(11):1016-1018.
 - [20] ZAPHIROPOULOS P G. Circular RNAs from transcripts of the rat cytochrome P450 2C24 gene: correlation with exon skipping[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1996, 93(13):6536-6541.
 - [21] ZHONG Z, LV M, CHEN J. Screening differential circular RNA expression profiles reveals the regulatory role of circTCF25-miR-103a-3p/miR-107-CDK6 pathway in bladder carcinoma[J]. *Sci Rep*, 2016, 6(1):30919.
 - [22] CHEN L, ZHANG S, WU J, et al. circRNA_100290 plays a role in oral cancer by functioning as a sponge of the miR-29 family[J]. *Oncogene*, 2017, 36(32):4551-4561.
 - [23] LUAN W, SHI Y, ZHOU Z, et al. circRNA_0084043 promote malignant melanoma progression via miR-153-3p/Snail axis[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 502(1):22-29.
 - [24] 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]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 112(1):108611.
 - [25] ZHANG M, JIA L, ZHENG Y. circRNA expression profiles in human bone marrow stem cells undergoing osteoblast differentiation[J]. *Stem Cell Rev*, 2019, 15(1):126-138.
 - [26] LI S, SUN X, MIAO S, et al. hsa_circ_0000729, a potential prognostic biomarker in lung adenocarcinoma[J]. *Thorac Cancer*, 2018, 9(8):924-930.
 - [27] CHEN X, YANG T, WANG W, et al. Circular RNAs in immune responses and immune diseases[J]. *Theranostics*, 2019, 9(2):588-607.
 - [28] LI Z, HUANG C, BAO C, et al. Exon-intron circular RNAs regulate transcription in the nucleus[J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2015, 22(3):256-64.
 - [29] ZHANG Y, ZHANG X O, CHEN T, et al. Circular intronic long noncoding RNAs[J]. *Mol Cell*, 2013, 51(6):792-806.
 - [30] KELLY S, GREENMAN C, COOK P R, et al. Exon skipping is correlated with exon circularization[J]. *J Mol Biol*, 2015, 427(15):2414-2417.
 - [31] ZHONG Y, DU Y, YANG X, et al. Circular RNAs function as ceRNAs to regulate and control human cancer progression[J]. *Mol Cancer*, 2018, 17(1):79.
 - [32] PAMUDURTI N R, BARTOK O, JENS M, et al. Trans-

- lation of CircRNAs[J]. Mol Cell, 2017, 66(1):9-21.
- [33] XIN Z, MA Q, REN S, et al. The understanding of circular RNAs as special triggers in carcinogenesis[J]. Brief Funct Genomics, 2017, 16(2):80-86.
- [34] YANG Y, FAN X, MAO M, et al. Extensive translation of circular RNAs driven by N(6)-methyladenosine[J]. Cell Res, 2017, 27(5):626-641.
- [35] CHEN S, ZHAO Y. Circular RNAs: characteristics, function and role in human cancer[J]. Histol Histopathol, 2018, 33(9):887-893.
- [36] YANG X, XIONG Q, WU Y, et al. Quantitative proteomics reveals the regulatory networks of circular RNA CDR1as in hepatocellular carcinoma cells[J]. J Proteome Res, 2017, 16(10):3891-3902.
- [37] LIANG H F, ZHANG X Z, LIU B G, et al. Circular RNA circ-ABCB10 promotes breast cancer proliferation and progression through sponging miR-1271[J]. Am J Cancer Res, 2017, 7(7):1566-1576.
- [38] ZHANG Y, LIU H, LI W, et al. CircRNA_100269 is downregulated in gastric cancer and suppresses tumor cell growth by targeting miR-630 [J]. Aging (Albany NY), 2017, 9(6):1585-1594.
- [39] KE Z, XIE F, ZHENG C, et al. CircHIPK3 promotes proliferation and invasion in nasopharyngeal carcinoma by abrogating miR-4288-induced ELF3 inhibition[J]. J Cell Physiol, 2019, 234(2):1699-1706.
- [40] YUAN Y, LIU W, ZHANG Y, et al. CircRNA circ_0026344 as a prognostic biomarker suppresses colorectal cancer progression via microRNA-21 and microRNA-31 [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2018, 503(2):870-875.
- [41] YAO Z, LUO J, HU K, et al. ZKSCAN1 gene and its related circular RNA (circZKSCAN1) both inhibit hepatocellular carcinoma cell growth, migration, and invasion but through different signaling pathways[J]. Mol Oncol, 2017, 11(4):422-437.
- [42] WANG K, SUN Y, TAO W, et al. Androgen receptor (AR) promotes clear cell renal cell carcinoma (ccRCC) migration and invasion via altering the circHIAT1/miR-195-5p/29a-3p/29c-3p/CDC42 signals[J]. Cancer Lett, 2017, 394(1):1-12.
- [43] LI P, CHEN H, CHEN S, et al. Circular RNA 0000096 affects cell growth and migration in gastric cancer[J]. Br J Cancer, 2017, 116(5):626-633.
- [44] CHEN X, CHEN R X, WEI W S, et al. PRMT5 circular RNA promotes metastasis of urothelial carcinoma of the Bladder through Sponging miR-30c to induce epithelial-mesenchymal transition [J]. Clin Cancer Res, 2018, 24(24):6319-6330.
- [45] ZHU X, WANG X, WEI S, et al. hsa_circ_0013958: a circular RNA and potential novel biomarker for lung adenocarcinoma[J]. FEBS J, 2017, 284(14):2170-2182.
- [46] ZHANG H D, JIANG L H, HOU J C, et al. Circular RNA hsa_circ_0072995 promotes breast cancer cell migration and invasion through sponge for miR-30c-2-3p [J]. Epigenomics, 2018, 10(9):1229-1242.
- [47] TAGAWA T, GAO S, KOPARDE V N, et al. Discovery of Kaposi's sarcoma herpesvirus-encoded circular RNAs and a human antiviral circular RNA[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2018, 115(50):12805-12810.
- [48] UNGERLEIDER N, CONCHA M, LIN Z, et al. The Epstein Barr virus circRNAome[J]. PLoS Pathog, 2018, 14(8):e1007206.
- [49] TOPTAN T, ABERE B, NALESNIK M A, et al. Circular DNA tumor viruses make circular RNAs[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2018, 115(37):8737-8745.
- [50] ZHANG X, YAN Y, LIN W, et al. Circular RNA Vav3 sponges gga-miR-375 to promote epithelial-mesenchymal transition[J]. RNA Biol, 2019, 16(1):118-132.
- [51] ZHENG S R, ZHANG H R, ZHANG Z F, et al. Human papillomavirus 16 E7 oncoprotein alters the expression profiles of circular RNAs in Caski cells[J]. J Cancer, 2018, 9(20):3755-3764.
- [52] ZHANG M, XIN Y. Circular RNAs: a new frontier for cancer diagnosis and therapy[J]. J Hematol Oncol, 2018, 11(1):21.
- [53] CHEN S, LI T, ZHAO Q, et al. Using circular RNA hsa_circ_0000190 as a new biomarker in the diagnosis of gastric cancer[J]. Clin Chim Acta, 2017, 466(1):167-171.
- [54] PENG N, SHI L, ZHANG Q, et al. Microarray profiling of circular RNAs in human papillary thyroid carcinoma [J]. PLoS One, 2017, 12(3):e0170287.
- [55] HAN D, LI J, WANG H, et al. Circular RNA circMTO1 acts as the sponge of microRNA-9 to suppress hepatocellular carcinoma progression[J]. Hepatology, 2017, 66(4):1151-1164.
- [56] SHUAI M, HONG J, HUANG D, et al. Upregulation of circRNA_0000285 serves as a prognostic biomarker for nasopharyngeal carcinoma and is involved in radiosensitivity[J]. Oncol Lett, 2018, 16(5):6495-6501.
- [57] YANG Y, GAO X, ZHANG M, et al. Novel role of FBXW7 circular RNA in repressing glioma Tumorigenesis[J]. J Natl Cancer Inst, 2018, 110(3):304-315.
- [58] LI X, YANG L, CHEN L L. The Biogenesis, Functions, and Challenges of Circular RNAs[J]. Mol Cell, 2018, 71(3):428-442.