

· 综述 ·

## 环形 RNA 在癌症中的研究进展

汪 赛<sup>1,2</sup>, 陈 晨<sup>1,2</sup>, 熊莹喆<sup>1,2</sup>, 肖玲慧<sup>1,2</sup>, 李招发<sup>1,2\*</sup>

(华侨大学 1. 分子药物研究院, 2. 生物医学学院, 福建 泉州 362021)

**摘要:** 环形 RNA (circRNA) 是一种缺乏 5' 末端帽和 3' 末端 poly (A) 尾的非编码闭环单链 RNA 分子。环状 RNA 比线性 mRNA 更丰富和稳定, 其表达更具保守性和特异性。circRNA 通过多种机制调节癌症发展, 包括 miRNA 海绵, 调节基因转录, 调节 RNA 结合蛋白质和蛋白质翻译。本文综述探讨 circRNA 在癌症中的作用, 有助于开发新的临床诊断技术和治疗方法。

**关键词:** 环形 RNA; miRNA 海绵; 转录; 癌症

中图分类号: R966

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2018) 06-0903-07

## Research progress of circRNA in cancer

WANG Sai<sup>1,2</sup>, CHEN Chen<sup>1,2</sup>, XIONG Ying-zhe<sup>1,2</sup>, XIAO Ling-hui<sup>1,2</sup>, LI Zhao-fa<sup>1,2\*</sup>

(1. Institute of Molecular Medicine, 2. School of Biomedical Sciences, Huaqiao University, Quanzhou 362021, China)

**Abstract:** Circular RNA (circRNA) is a non-coding closed-loop single-stranded RNA molecule lacking the 5' end cap and the 3' poly (A) tail. Circular RNA is more abundant and stable than linear mRNA, and its expression is more conservative and specific. circRNA regulates cancer development through a variety of mechanisms, including miRNA sponges, regulating gene transcription, regulating RNA-binding proteins, and protein translation. This review summarizes the role of circRNA in cancer and helps to develop new clinical diagnostic techniques and treatments.

**Key words:** circRNA; miRNA sponge; transcription; cancer

环形 RNA (circRNA) 是一类新的长非编码 RNA, 它们不具有 5' 或 3' 端, 而是共价连接形成封闭的环状结构。它们的存在首先由 Sanger 等<sup>[1]</sup>在 40 多年前使用电子显微镜观察病毒得到的。之后, 发现人类、小鼠、真菌和其他生物体中也存在 circRNAs<sup>[2-4]</sup>。在之后的几十年中, 它们被认为是一种古老而保守的分子, 是 RNA 的异常剪接产物, 也是生物体中的“暗物质”<sup>[5]</sup>。近年来, 随着高通量 RNA 测序 (RNA-Seq)

技术快速发展和生物信息学方法的大量数据分析, circRNAs 被越来越广泛地研究, 并且发现它们具有作为 miRNA 海绵<sup>[6-8]</sup>、调节基因转录<sup>[8, 9]</sup>、调节 RNA 结合蛋白质<sup>[10-12]</sup>和蛋白质翻译的作用<sup>[13-15]</sup>。此外, 许多研究已经证实了 circRNA 在肿瘤细胞中发挥着重要作用, 这可能潜在地用作癌症治疗所需的新型生物标志物和治疗靶标<sup>[16-18]</sup>。本综述将首先讨论 circRNA 的分类、特征和功能, 然后讨论它们在癌症中的相关作用, 通过 circRNA 为进一步探索癌症生成和生物功能奠定基础。

### 1 circRNA 分类

circRNA 可以根据基因组来源和序列组成分为以下 3 类: 外显子 circRNAs、内含子 circRNAs (ciRNAs) 和外显子-内含子 circRNAs (EIciRNAs)。由外显子

收稿日期: 2018-01-04; 修回日期: 2018-02-14.

基金项目: 福建省引导性项目 (2016Y0063); 政府间国际科技创新合作重点专项 (2016YFE0101700); 中央高校基本科研业务费资助项目 (JB-ZR1142); 华侨大学研究生科研创新能力培育计划资助项目。

\*通讯作者 Tel: 86-595-22690131, E-mail: lizhaofa@hqu.edu.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2018-0014

circRNAs 组成的 circRNAs 主要存在于细胞质中, 是体内最丰富的 circRNA。大多数外显子 circRNAs 是由编码基因产生的, 但却不编码蛋白质<sup>[8, 19, 20]</sup>。外显子 circRNA 是通过反向剪接形成的。目前存在几种不同的潜在反向剪接模型<sup>[8, 21, 22]</sup>: 一是套索驱动的环化, 其认为在典型的线性选择性剪接过程中, 由于 RNA 发生了部分折叠, 外显子跳跃产生了一种套索结构并通过核酸外切酶介导降解, 形成了由外显子构成的环状 RNA 分子。二是内含子配对驱动的环化, 位于内含子区域的反向互补重复序列导致了内含子区域配对介导反向剪接, 使外显子靠近, 从而形成环状 RNA 分子。三是 RNA 结合蛋白 (RBPs) 驱动的环化, 由 RBPs 触发环化过程, 它与内含子侧翼中的特定靶点结合从而诱导 circRNA 的形成。ciRNAs 主要位于真核生物细胞核中。内含子占人类基因组的 20% 以上, 其中大多数内含子在剪接后形成套索结构然后被降解<sup>[23]</sup>。然而, 含有某些关键核酸序列的一些内含子在剪接后不能去除, 而是形成内含子来源的 ciRNA。ciRNA 的产生依赖于内含子两端的保守序列, 即位于 5' 端连接位点上 7 个富含 GU 的序列和 3' 末端 11 个富含 C 的核苷酸序列, 这些核苷酸能够防止 circRNA 脱支并使 RNA 保留环化结构<sup>[10]</sup>。在反向剪接过程中作为剪接过程中的中间体, 也可以形成一种不同的 circRNA 叫作 EIciRNAs, 这种类型的 circRNA 含有外显子和内含子, 并且完全位于细胞核中。

## 2 circRNA 特征

大量研究表明, circRNAs 普遍存在几个突出的特征: ① 丰度: Salzman 等<sup>[19]</sup>提出, circRNAs 种类丰富并且超过了相关线性 mRNA。如基因 *PTK2*, 可以产生多达 47 种不同的 circRNAs。同时一个基因位点产生的 circRNA 会产生多种亚型。② 稳定性: circRNAs 的共价闭环结构使得它们对 RNA 酶 R 的抗性比 mRNA 高, 所以 circRNAs 比线性 mRNA 具有更稳定的性质<sup>[19]</sup>。据报道, 大多数物种的 circRNAs 的平均半衰期超过 48 h, 而 mRNA 的半衰期约为 10 h<sup>[24]</sup>。目前主要运用核酸酶处理 RNA 样品来鉴定和识别 circRNAs。③ 保守性: circRNAs 在不同物种中是高度保守的。许多 circRNAs 可以同时人和小鼠中检测, 包括果蝇<sup>[8, 25]</sup>。④ circRNA 通常在组织发育阶段中特异性表达。如 circRNA 在哺乳动物脑中表达较高, 特别是在突触神经元分化过程中, circRNAs 被动态上调<sup>[26]</sup>。通过 circRNA 在不同组织中表达的

特异性可以判断 circRNA 在组织生长发育过程中是否起到调控作用及作为特定组织疾病的诊断标志。

## 3 circRNA 生物学功能

通过影响转录或转录后水平的基因表达, circRNA 的生物功能可以分为 miRNA 海绵、调控选择性拼接和基因转录、与 RNA 结合蛋白质相互作用和蛋白质翻译。

**3.1 作为 ceRNA 或 miRNA 海绵** miRNA 是一类重要的基因表达转录后调控因子, 可与靶基因 mRNA 的 3' UTR 区域结合, 降解靶基因 mRNA 或抑制 mRNA 的翻译<sup>[27]</sup>。生物体内竞争性内源 RNA (ceRNA) 含有 miRNA 应答元件 (MRE), 其竞争性结合 miRNA<sup>[28, 29]</sup>。因此, ceRNA 可以影响 miRNA 在基因表达中的调控功能, 降低 miRNA 对靶分子的抑制作用。最近的研究表明, 外显子 circRNAs 可以作为 ceRNA 或 miRNA 海绵分子, 通过吸附 miRNA 调节基因的表达<sup>[7]</sup>。其中具有代表性的是 ciRS-7 (环状 RNA)。ciRS-7 在基因组上是由脊椎动物小脑失调相关基因 (CDR1) 反义链转录而来, 检测发现 ciRS-7 在人和小鼠大脑中表达水平较高。该 circRNA 的长度约为 1.5 kb, 含有 74 个 miR-7 的结合位点, 超过 60 个位点是保守的, 并且能够结合由 miR-7 和 Ago2 蛋白形成的 RNA 诱导的沉默复合物 (RISC)<sup>[30]</sup>。ciRS-7 可以与 miR-7 下游靶基因 mRNA 竞争性结合 miR-7, 也就是说 ciRS-7 可以通过 miR-7 途径上调下游靶蛋白基因行使生物学功能。研究表明, miR-7 调控多种蛋白基因参与肿瘤等发生发展过程。同样的, 在胃癌组织中存在的 circPVT1 可与 miRNA-125 家族部分 miRNA 结合, 促进其靶基因 *E2F2* 的表达, 进而促进癌细胞的增殖<sup>[31]</sup>。生物信息学分析表明, 成千上万的环状 RNA 具有 miRNA 吸附功能<sup>[32]</sup>, 但很少有经过验证。大多数 circRNA 都没有这么多 miRNA 结合位点, 因此, 通用的 circRNA 海绵功能和作为 ceRNA 调控 miRNAs 功能需要进一步阐明。

**3.2 调控选择性拼接和基因转录** Ashwal-Fluss 等<sup>[33]</sup>发现, circMBL 是由剪接因子 MBL 的第 2 个外显子通过与 pre-mRNA 竞争形成的。在 circMBL 中, 已经证实了存在 MBL 蛋白的特异性结合区域, 且该区域在物种之间是高度保守的。MBL 通过桥接两个侧翼内含子来诱导环化, MBL 表达水平的调节也可能会直接影响依赖于 MBL 结合位点的 circMBL 生物合成。此外, 许多其他 circRNAs 也含有翻译起始位点, 并可能与其宿主基因的前 mRNA 的剪接发生潜在的竞争

来调节相关基因的表达。同时 circRNA 显示出转录因子的功能, 如 circEIF3J 和 circPAIP2 等 ElciRNAs 主要定位于核内, 与 U1 小核糖核蛋白颗粒 (U1 snRNP) 和 RNA 聚合酶 II (Pol II) 相互作用, 增强其亲本基因的转录, circEIF3J 和 circPAIP2 的敲减分别降低了 EIF3J 和 PAIP2 转录水平<sup>[11, 34]</sup>。此外 ciRNAs 如 ci-ankrd52 是 ankrd52 基因转录过程中形成的一种特异性结合 Pol II 的环 RNA, 敲除 ci-ankrd52 后, 可以发现 ankrd52 转录效率明显降低, 然而, 高水平 ci-ankrd52 的存在却未明显提高 ankrd52 的转录效率, 这可能是外源性 ci-ankrd52 异常定位引起的<sup>[24]</sup>。另一项研究发现, ci-ankrd52 不仅在其转录位点富集, 而且还积累在细胞核的其他区域, 这表明它们可能发挥跨调控作用。ci-sirt7 也通过类似的机制起作用。另外, cANRIL (外显子 circRNA) 也可能具有转录调控的活性。ANRIL 通过结合 Polycomb 基因 (PcG) 复合物来抑制其编码基因 INK4/ARF 的转录。在转录过程中反向剪接会形成 cANRIL, 减少 ANRIL, 从而调节 INK4/ARF 的转录<sup>[35]</sup>。

**3.3 与 RNA 结合蛋白相互作用** circRNA 具有酶及其底物的结合位点, 因此可以和蛋白质直接作用或者作为促进两种或更多种蛋白质之间接触的支架起作用。如 circMBL 侧翼内含子包含 MBL 蛋白结合位点, 能与 MBL 蛋白直接相互作用, MBL 蛋白拥有多种亚型, 其水平的改变会直接影响 circMBL 的产生。特别是当 MBL 蛋白过量时, 它可以通过促进 circMBL 的产生来降低自身 mRNA 含量<sup>[33]</sup>。如 circFoxo3, 它具有小鼠双微体-2 (MDM2) 和 p53 的结合位点。这些结合位点的突变或 circRNA 敲低导致 p53 与 MDM2 抗体的结合减少, 反之亦然, 这支持了 circFoxo3 可以作为蛋白质支架的作用。同时发现, circFoxo3 能够促进 MDM2 介导的 p53 的泛素化, 使其随后被蛋白酶体降解<sup>[36]</sup>。circRNA 的长半衰期可能增强了其作为支架的功能, 并且在以后可能会发现更多这样起作用的 circRNAs。

**3.4 蛋白质翻译** 由于 circRNA 缺乏 5'帽结构和 poly (A) 尾巴被认为不能通过帽依赖机制进行翻译, 因此, circRNA 通常被认为是非编码 RNA<sup>[37-39]</sup>。然而, 考虑到大多数的 circRNA 是由编码基因产生的, 并且含有完整的外显子, 所以 circRNAs 具有被翻译的可能性。事实上, 早在 1995 年, Chen 和 Sarnow 等<sup>[38]</sup>就发现包含内部核糖体进入位点 (IRES) 和起始密码子 ATG 的特定 circRNA 将允许 circRNA 翻译模板

作为 mRNA 起作用。2015 年, Wang 等<sup>[39]</sup>在体外构建了含有巨细胞病毒 (CMV) 启动子、IRES 和编码绿色荧光蛋白 (GFP) 的外显子的小基因, 其允许相应转录物的环化。转染细胞后, 该小基因转录本能够形成能翻译 GFP 蛋白质的环状 RNA。但是向后剪切形成的 circRNAs 基本上并无 IRES。直到最近 circRNA 的世界发生了巨大的变化, 现有 3 个研究小组<sup>[13-15]</sup>提供了有力的证据表明特定的内源性 circRNA 可以直接作为蛋白质合成的模板, 包括 m<sup>6</sup>A 修饰可以调控 circRNAs 翻译, circ-ZNF609 可直接翻译蛋白, 该蛋白参与肌肉发生过程等, 这些发现都进一步证实了 circRNAs 编码多肽和蛋白的功能, 大大推进了 circRNAs 功能的研究。

#### 4 circRNA 与肿瘤

研究已经显示了 circRNA 和多种肿瘤之间的密切关系, 包括结肠癌、卵巢癌、胃癌、食管癌和神经胶质瘤等, circRNAs 的广泛存在、高稳定性和多种调节功能无疑是癌症早期诊断和治疗中新兴的领域。

**4.1 致癌性 circRNA 与抑癌性 circRNA** 新的研究表明, circRNAs 在不同的癌症中发挥着不同的作用, 一些 circRNAs 可能具有致癌作用, 而另一些则发挥着抑癌作用, 此外, 同一种 circRNAs 也可能具有多效性。在致癌性方面, 如 circPVT1 通常在胃癌中上调, 并通过海绵状 miR-125 等 miRNA 促进细胞增殖<sup>[31]</sup>。在口腔癌中, circRNA\_100290 被上调, 并且 circRNA\_100290 的敲低在体外和体内都能抑制口腔癌细胞增殖<sup>[40]</sup>。在抑癌性方面, Cao 小组<sup>[41]</sup>研究发现 circMTO1 在 HCC (肝细胞癌) 中显著下调, 并且通过作为 miR-9 海绵抑制 HCC 进展。Li 等<sup>[42]</sup>发现 circHIPK3 在膀胱癌组织和细胞系中显著下调, circHIPK3 的过度表达可有效抑制膀胱癌细胞的迁移、侵袭和血管生成。以 ciRS-7 为例, ciRS-7 一方面强烈抑制 miR-7 的活性, 通过增加癌相关信号通路中的致癌因子, 如 EGFR<sup>[43]</sup>等 miR-7 靶点的水平, 起到肿瘤促进作用; 另一方面, miR-7 似乎是宫颈癌和肺癌细胞系中的致癌 miRNA, 其中 ciRS-7 作为 miR-7 海绵可抑制肿瘤形成, 表明 ciRS-7 的肿瘤抑制特性。肿瘤抑制性 circRNA 和致癌性 circRNA 之间的微妙平衡对于细胞稳态是至关重要的。当不平衡时, 肿瘤抑制性 circRNA 可能起到抑制癌症的作用, 而致癌性 circRNA 可能促进癌症进展。这些不同作用的 circRNAs 为癌症治疗提供了新的见解。

**4.2 circRNA 作为肿瘤生物标志物** circRNA 具有

丰富、保守,在唾液、血液和外泌体中稳定表达的特征,并且表现出组织发育阶段的特异性,这使得它有望成为癌症生物标志物。此外,与数量相对较少的 miRNA 相比, circRNA 更容易被检测到。此外,通过 RT-PCR 和原位杂交检测 circRNA 的方式比通过抗原-抗体反应检测蛋白质更灵敏有效。因此, circRNA 具有作为潜在癌症生物标志物的优势。研究<sup>[44]</sup>表明基于肿瘤的血小板 RNA 包含有肿瘤相关的生物分子,可以以此鉴别出健康人群和癌症患者,准确率达到 96%。此外,这个检测不仅可以帮助诊断癌症和指导治疗,还可以区分 6 种不同的原发性肿瘤类型,准确率达到 71%;还可以鉴别出特定的乳腺癌和肺癌的生物标志物。而 circRNA 可以耐受核酸外切酶的降解,相比线性 RNA 更稳定,所以在无核细胞中 circRNA 表达丰度应该可以作为整体 mRNA 稳定性的一个很好指标,相比于有核细胞,血小板中 circRNA/linear RNA 表达比值高出 17~188 倍之多。同时 circRNA/linear RNA 表达比值的升高可作为血小板降解的一个信号指标。已有各种 circRNA 被认为是潜在的生物标志物。如在喉鳞状细胞癌 (LSCC) 组织中, circ\_100855 显著上调, circ\_104912 显著下调,其表达与肿瘤分期和颈淋巴结转移显著相关,表明其潜在标志 LSCC 肿瘤发生<sup>[45]</sup>。通过使用 qRT-PCR,检测到 hsa\_circ\_100855 作为最上调的 circRNA, hsa\_circ\_104912 作为最下调的 circRNA,意味着 T3-4 期,颈淋巴结转移或晚期临床分期患者 hsa\_circ\_100855 表达较高, hsa\_circ\_104912 表达较低。类似地,在胃癌

中 hsa\_circ\_002059 的下调是与远端转移、TNM 分期、性别和年龄有关,可以作为胃癌诊断的关键作用<sup>[18]</sup>。此外, circPVT1<sup>[31]</sup>、 hsa\_circ\_0000190<sup>[46]</sup>和 hsa\_circ\_0000096<sup>[47]</sup>被新发现是有希望的胃癌生物标志物。与此同时,皮肤鳞状细胞癌和非损伤皮肤活组织检测中发现共有 322 个 circRNA 异常表达。同样的,在基底细胞癌中有 71 个差异表达的 circRNA<sup>[48]</sup>。总之,人类癌症中异常表达的 circRNA 可以作为一类新的诊断、预后和治疗性生物标志物 (表 1)<sup>[31,41,42,49–55]</sup>。

**4.3 circRNA 作为治疗靶点或治疗载体** 虽然到目前为止,还没有临床报告表明将 circRNA 单独作为靶标或用作癌症治疗的治疗载体,但是这种情况在将来可能会发生变化。一方面,设计 circRNA 用作治疗靶点时,有一些重要的问题需要考虑。如靶向致癌性 circRNA 时应优先选择以不干扰线性 mRNA 表达的方式进行。可行的治疗途径可以是通过与该位点完全互补的外源 siRNA 来靶向致癌性 circRNA,或者通过引入与前 mRNA 中的后剪接信号互补的反义寡核苷酸来干扰反向剪接。而为了诱导肿瘤抑制性 circRNA 的表达,可以通过基因治疗手段设计用于 circRNA 表达的 DNA 盒来实现外源性表达。circRNA 表达通常通过将相应的外显子和伴随的剪接位点克隆到由人工合成的长反向或含有 Alu 重复的同源侧翼区域中来实现<sup>[56]</sup>。然而,应注意不要通过引入外来 circRNA 引起干扰素反应<sup>[57]</sup>,对于上述任何一种策略,主要的作用是靶向大多数恶性肿瘤细胞以避免癌症复发。另一方面, circRNA 对 miRNA 的海绵作用及独

**Table 1** Partial circRNA function and clinical significance

circRNA	Cancer	Function	Clinical significance	Ref.
circMTO1	Hepatocellular carcinoma	Suppresses cell proliferation and invasion	Low circMTO1 had a poor prognosis	[41]
circZKSCAN1	Hepatocellular carcinoma	Inhibits cell proliferation, migration, and invasion	Serves as a potential diagnostic marker	[49]
circHIAT1	Clear cell renal cell carcinoma	Inhibits cell migration and invasion	Low circHIAT1 predicted a poor prognosis	[50]
circHIPK3	Bladder cancer	Inhibits cell migration, invasion, and angiogenesis	circHIPK3 negatively correlated with bladder cancer grade, invasion and lymph node metastasis	[42]
circFBXW7	Glioblastoma	Inhibits cell proliferation and cell cycle acceleration	Low circFBXW7 predicted a poor prognosis	[51]
circCCDC66	Colorectal cancer	Promotes cancer cell proliferation, migration, and metastasis	High circCCDC66 predicted a poor prognosis	[52]
ciRS-7	Colorectal cancer	Promotes cell proliferation, migration, and invasion	High ciRS-7 correlated with poor prognosis	[53]
circPVT1	Gastric cancer	Promotes cell proliferation	Low circPVT1 correlated with poor prognosis	[31]
circTTBK2	Glioma	Promotes cell proliferation, migration, and invasion	circTTBK2 positively correlated with the pathological grades of glioma	[54]
circMYLK	Bladder cancer	Accelerates cell proliferation, invasion and angiogenesis	High circMYLK correlated with low survival rates	[55]

特的细胞稳定性和容量也可以将 circRNA 作为递送治疗剂的载体。利用具有致癌 miRNA 或蛋白质的多个结合位点的 circRNA 可以控制癌细胞的增殖或诱导凋亡。由于环状 RNA 由 Pol II 启动子表达, 所以通过利用细胞特异性启动子可以使恶性肿瘤细胞的表达限制于某些特定细胞类型。并且目前已经发现了能够提供正确翻译信号的 circRNA 作为蛋白质表达的模板。这一切都说明, 未来 circRNAs 可能会用作治疗靶点或治疗载体的巨大潜力。

## 5 总结和展望

目前的研究表明, circRNAs 是一类广泛表达的, 丰富的、稳定的, 具有一系列活性的 RNA 分子。circRNAs 通过多种作用机制在癌症中发挥着重要的作用。对于这些环状 RNA 分子的鉴定和功能研究不仅丰富了研究者对非编码 RNA 家族复杂性的理解, 而且为人类疾病的诊断和治疗提供了新的思路和方法。circRNAs 与其他的因子如 miRNA、蛋白质等的结合是特异性的, 所以可以研究考虑使用这些复合体作为标志物的可能性。另外, 通过 circRNAs 稳定性及特异性等特征, 应该努力去发现可被 circRNA 靶向的肿瘤相关 miRNAs 以起到治疗的作用。某些潜在的 RNA 病毒的 circRNA 可以作为肿瘤疫苗的新的抗原物质, 在体内激活或者诱导体内抗肿瘤免疫作用, 而基于细胞分泌的外泌体中的 circRNA 则可以被阻断来抑制肿瘤细胞的生长。研究者可以适当修改环状 RNA 分子, 使与癌症相关的重要结合位点沉默。还可以针对特定的分子药物来改变下游基因表达以治疗癌症。外泌体也是一个重要的研究方向, 它是由细胞内涵体分泌的小囊泡, 可通过受体介导的交互作用直接刺激靶细胞, 或通过向靶细胞转移各种生物活性分子等方式发挥其生物学功能。研究人员在人血液中检测外泌体, 发现其中的 circRNAs 在室温下能够在血清样品中保持至少 24 h 的稳定。由于外泌体易检测又稳定存在, 因此外泌体 circRNAs 可认为是一类具有潜在价值的肿瘤诊断生物标志物。总之, circRNA 还处于起步阶段, 它们在癌症中的作用才刚刚开始被阐明。在未来的研究中, 随着科学家的努力和新方法的应用, 更多的 circRNAs 将会被很好地识别, 潜在的机制将被发现, 以改善对 circRNAs 相关疾病的诊断和治疗。了解 circRNAs 功能、机制及用途将成为 circRNA 和癌症相关研究的重要领域, 这一领域的不断探索和研究将为癌症方面的治疗提供重要的分子基础。

## References

- [1] Sanger HL, 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: 3852–3856.
- [2] Kolakofsky D. Isolation and characterization of Sendai virus DI-RNAs [J]. *Cell*, 1976, 8: 547–555.
- [3] Matsumoto Y, Fishel R, Wickner RB. Circular single-stranded RNA replicon in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1990, 87: 7628–7632.
- [4] Nigro JM, Cho KR, Fearon ER, et al. Scrambled exons [J]. *Cell*, 1991, 64: 607–613.
- [5] Cocquerelle C, Mascrez B, Hetuin D, et al. Mis-splicing yields circular RNA molecules [J]. *FASEB J*, 1993, 7: 155–160.
- [6] Memczak S, Jens M, Elefsinioti A, et al. Circular RNAs are a large class of animal RNAs with regulatory potency [J]. *Nature*, 2013, 495: 333–338.
- [7] Hansen TB, Jensen TI, Clausen BH, et al. Natural RNA circles function as efficient microRNA sponges [J]. *Nature*, 2013, 495: 384–388.
- [8] Jeck WR, Sorrentino JA, Wang K, et al. Circular RNAs are abundant, conserved, and associated with ALU repeats [J]. *RNA*, 2013, 19: 141–157.
- [9] Salzman J, Chen RE, Olsen MN, et al. Cell-type specific features of circular RNA expression [J]. *PLoS Genet*, 2013, 9: e1003777.
- [10] Zhang Y, Zhang XO, Chen T, et al. Circular intronic long noncoding RNAs [J]. *Mol Cell*, 2013, 51: 792–806.
- [11] Li Z, Huang C, Bao C, et al. Exon-intron circular RNAs regulate transcription in the nucleus [J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2015, 22: 256–264.
- [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: 603–610.
- [13] Legnini I, Di Timoteo G, Rossi F, et al. Circ-ZNF609 is a circular RNA that can be translated and functions in myogenesis [J]. *Mol Cell*, 2017, 66: 22–37.e29.
- [14] Pamudurti NR, Bartok O, Jens M, et al. Translation of circRNAs [J]. *Mol Cell*, 2017, 66: 9–21.e7.
- [15] Yang Y, Fan X, Mao M, et al. Extensive translation of circular RNAs driven by N6-methyladenosine [J]. *Cell Res*, 2017, 27: 626–641.
- [16] Li F, Zhang L, Li W, et al. Circular RNA ITCH has inhibitory effect on ESCC by suppressing the Wnt/beta-catenin pathway [J]. *Oncotarget*, 2015, 6: 6001–6013.

- [17] Xie H, Ren X, Xin S, et al. Emerging roles of circRNA\_001569 targeting miR-145 in the proliferation and invasion of colorectal cancer [J]. *Oncotarget*, 2016, 7: 26680–26691.
- [18] Li P, Chen S, Chen H, et al. Using circular RNA as a novel type of biomarker in the screening of gastric cancer [J]. *Clin Chim Acta*, 2015, 444: 132–136.
- [19] Salzman J, Gawad C, Wang PL, et al. Circular RNAs are the predominant transcript isoform from hundreds of human genes in diverse cell types [J]. *PLoS One*, 2012, 7: e30733.
- [20] Guo JU, Agarwal V, Guo H, et al. Expanded identification and characterization of mammalian circular RNAs [J]. *Genome Biol*, 2014, 15: 409.
- [21] Qu S, Yang X, Li X, et al. Circular RNA: a new star of noncoding RNAs [J]. *Cancer Lett*, 2015, 365: 141–148.
- [22] Souii A, M'hadheb-Gharbi MB, Gharbi J. Cellular proteins act as bridge between 5' and 3' ends of the coxsackievirus B3 mediating genome circularization during RNA translation [J]. *Curr Microbiol*, 2015, 71: 387–395.
- [23] Rodriguez-Trelles F, Tarrío R, Ayala FJ. Origins and evolution of spliceosomal introns [J]. *Annu Rev Genet*, 2006, 40: 47–76.
- [24] Jeck WR, Sharpless NE. Detecting and characterizing circular RNAs [J]. *Nat Biotechnol*, 2014, 32: 453–461.
- [25] Wang PL, Bao Y, Yee MC, et al. Circular RNA is expressed across the eukaryotic tree of life [J]. *PLoS One*, 2014, 9: e90859.
- [26] 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: 870–885.
- [27] Dong DL, Yang BF. Role of microRNAs in cardiac hypertrophy, myocardial fibrosis and heart failure [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2011, 1: 1–7.
- [28] Poliseno L, Salmena L, Zhang J, et al. A coding-independent function of gene and pseudogene mRNAs regulates tumour biology [J]. *Nature*, 2010, 465: 1033–1038.
- [29] Cesana M, Cacchiarelli D, Legnini I, et al. A long noncoding RNA controls muscle differentiation by functioning as a competing endogenous RNA [J]. *Cell*, 2011, 147: 358–369.
- [30] Hansen TB, Wiklund ED, Bramsen JB, et al. miRNA-dependent gene silencing involving Ago2-mediated cleavage of a circular antisense RNA [J]. *EMBO J*, 2011, 30: 4414–4422.
- [31] Chen J, Li Y, Zheng Q, et al. Circular RNA profile identifies circPVT1 as a proliferative factor and prognostic marker in gastric cancer [J]. *Cancer Lett*, 2017, 388: 208–219.
- [32] Thomas LF, Saetrom P. Circular RNAs are depleted of polymorphisms at microRNA binding sites [J]. *Bioinformatics*, 2014, 30: 2243–2246.
- [33] Ashwal-Fluss R, Meyer M, Pamudurti NR, et al. circRNA biogenesis competes with pre-mRNA splicing [J]. *Mol Cell*, 2014, 56: 55–66.
- [34] Perriman R, Ares M Jr. Circular mRNA can direct translation of extremely long repeating-sequence proteins *in vivo* [J]. *RNA*, 1998, 4: 1047–1054.
- [35] Burd CE, Jeck WR, Liu Y, et al. Expression of linear and novel circular forms of an INK4/ARF-associated non-coding RNA correlates with atherosclerosis risk [J]. *PLoS Genet*, 2010, 6: e1001233.
- [36] Du WW, Fang L, Yang W, et al. Induction of tumor apoptosis through a circular RNA enhancing Foxo3 activity [J]. *Cell Death Differ*, 2017, 24: 357–370.
- [37] Panda AC, Grammatikakis I, Munk R, et al. Emerging roles and context of circular RNAs [J]. *Wiley Interdiscip Rev RNA*, 2017. DOI: 10.1002/wrna.1386.
- [38] Chen CY, Sarnow P. Initiation of protein synthesis by the eukaryotic translational apparatus on circular RNAs [J]. *Science*, 1995, 268: 415–417.
- [39] Wang Y, Wang Z. Efficient backsplicing produces translatable circular mRNAs [J]. *RNA*, 2015, 21: 172–179.
- [40] 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: 4551–4561.
- [41] 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: 1151–1164.
- [42] Li Y, Zheng F, Xiao X, et al. circHIPK3 sponges miR-558 to suppress heparanase expression in bladder cancer cells [J]. *EMBO Rep*, 2017, 18: 1646–1659.
- [43] Chen YJ, Chien PH, Chen WS, et al. Hepatitis B virus-encoded X protein downregulates EGFR expression *via* inducing microRNA-7 in hepatocellular carcinoma cells [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2013, 2013: 682380.
- [44] Alhasan AA, Izuogu OG, Albalool HH, et al. Circular RNA enrichment in platelets is a signature of transcriptome degradation [J]. *Blood*, 2016, 127: e1–e11.
- [45] Xuan L, Qu L, Zhou H, et al. Circular RNA: a novel biomarker for progressive laryngeal cancer [J]. *Am J Transl Res*, 2016, 8: 932–939.
- [46] 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: 167–171.

- [47] 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: 626–633.
- [48] Sand M, Bechara FG, Sand D, et al. Circular RNA expression in basal cell carcinoma [J]. *Epigenomics*, 2016, 8: 619–632.
- [49] 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: 422–437.
- [50] 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: 1–12.
- [51] Yang Y, Gao X, Zhang M, et al. Novel role of FBXW7 circular RNA in repressing glioma tumorigenesis [J]. *J Natl Cancer Inst*, 2018. DOI: 10.1093/jnci/djx166.
- [52] Hsiao KY, Lin YC, Gupta SK, et al. Noncoding effects of circular RNA CCDC66 promote colon cancer growth and metastasis [J]. *Cancer Res*, 2017, 77: 2339–2350.
- [53] Weng W, Wei Q, Toden S, et al. Circular RNA circs-7-a promising prognostic biomarker and a potential therapeutic target in colorectal cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2017, 23: 3918–3928.
- [54] Zheng J, Liu X, Xue Y, et al. TTBK2 circular RNA promotes glioma malignancy by regulating miR-217/HNF1beta/Derlin-1 pathway [J]. *J Hematol Oncol*, 2017, 10: 52.
- [55] Zhong Z, Huang M, Lv M, et al. Circular RNA MYLK as a competing endogenous RNA promotes bladder cancer progression through modulating VEGFA/VEGFR2 signaling pathway [J]. *Cancer Lett*, 2017, 403: 305–317.
- [56] Kramer MC, Liang D, Tatomer DC, et al. Combinatorial control of *Drosophila* circular RNA expression by intronic repeats, hnRNPs, and SR proteins [J]. *Genes Dev*, 2015, 29: 2168–2182.
- [57] Chen YG, Kim MV, Chen X, et al. Sensing self and foreign circular RNAs by intron identity [J]. *Mol Cell*, 2017, 67: 228–238.e5.