

环状 RNA 与肺癌的研究进展

赵之标, 毕明宏

(蚌埠医学院第一附属医院, 安徽 蚌埠 233004)

摘要:环状 RNA(circular RNA, circRNA)是最近发现的一种非编码 RNA, 它的 3' 和 5' 末端连接在一起形成共价闭合的环状结构, 并在真核转录组中高度表达。最近的研究表明, circRNA 可以充当微小 RNA 海绵, 调节基因转录, 并与 RNA 结合蛋白相互作用在转录和转录后水平上控制基因表达。它在肺癌细胞中表达异常, 并在肺癌的发生发展过程中起着重要作用。该文综述了环状 RNA 的起源、功能和机理, 总结了环状 RNA 可能在肺癌诊断、预后、发生、进展以及耐药中的机制, 以期对肺癌的早期诊断或治疗提供新的思路。

关键词:环状 RNA; 肺肿瘤; 基因调控

中图分类号: R734.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-0242(2020)03-0199-06

doi: 10.11735/j.issn.1004-0242.2020.03.A007

Research Progress of Circular RNA in Lung Cancer

ZHAO Zhi-biao, BI Ming-hong

(The First Affiliated Hospital of Bengbu Medical College, Bengbu 233004, China)

Abstract: Circular RNA (circRNA) is a non-coding RNA with 3' and 5' ends joined together to form a covalently closed loop structure, which is highly expressed in the eukaryotic transcriptome. Recent studies have shown that circRNA can act as a microRNA sponge, regulate gene transcription, and interact with RNA-binding proteins to control gene expression at the transcriptional and post-transcriptional levels. The circRNA is abnormally expressed in lung cancer cells playing an important role in the development of lung cancer. This article reviews the origin, function and mechanism of circRNA, as well as its roles in occurrence, progression and drug resistance of lung cancer, and the potential application of circRNA in the diagnosis, prognosis and treatment of lung cancer.

Key words: circular RNA; lung neoplasms; gene regulation

人类基因组中存在的非编码 RNA(non-coding RNA, ncRNA)在人体生理和病理变化中起着重要作用, 主要包括微小 RNA、小核仁 RNA、PIWI 相互作用 RNA、长链非编码 RNA 和环状 RNA^[1-3]。环状 RNA(circular RNA, circRNA)作为非编码 RNA 内一员, 近年来发现其在人类表观遗传调控和疾病发病机理中起着重要作用。CircRNA 是共价闭合的连续环, 不具有 5' 和 3' 末端, 从而增加了其结构稳定性并限制了外切核糖核酸酶的降解, 在肿瘤诊治及预后评价中具有极高的临床应用价值^[4]。

1 CircRNA 的研究路程

最早在 1976 年 Sanger 利用显微镜技术在类病

收稿日期: 2019-11-13; 修回日期: 2019-12-27

基金项目: 安徽省高校自然科学基金项目(KJ2019A0372)

通信作者: 毕明宏, E-mail: bmh2003@126.com

毒中发现了一种环形 RNA 分子, 命名为 circRNA^[5]。其后, 又有科学家在酵母细胞和人体细胞中也发现了 circRNA^[6-7]的存在。起初由于发现 circRNA 不具有游离的 3' 和 5' 末端^[8], 被认为是保守的分子产生的错误拼接产品而未引起重视。然而随着 RNA-seq 技术和生物信息技术的发展, Salzman 等^[9]在 2012 年使用高通量测序的方法发现众多表达 circRNA 的基因。此后, 研究人员发现 circRNA 在多种疾病如肿瘤、心脏疾病^[10]、神经系统疾病等中发挥重要作用。

2 CircRNA 的特征

CircRNA 不同于线性 RNA, 其不具备 5' 末端帽子和 3' 末端 poly(A)尾巴结构, 而是由共价键连接形成的环状 RNA 分子, 其特殊结构使得其相比线性 RNA 更加稳定和保守^[11]。CircRNA 在真核转录组中

高度表达,甚至 circRNA 的表达有时超过对应的线性 RNA。研究发现 circRNA 还具有组织特异性表达和在神经组织中随衰老而累积的特点,对人和小鼠的不同组织表达谱分析显示,circRNA 主要在脑组织表达^[12],并且随着神经组织的发育,circRNA 表达水平逐渐上调^[13]。CircRNA 存在易出膜的分子生物学结构,因此 circRNA 可作为肿瘤诊断标志物。此外,circRNA 在肿瘤基因表达调控中起着不可或缺的作用^[14]。

3 CircRNA 功能与表达

CircRNA 发现之初被认为不具有功能,是一种错误剪接的副产物。随着深入研究,发现 circRNA 来源广泛、具有高度的稳定性和保守性,在人类生长发展过程中发挥重要功能。目前,circRNA 分类和命名尚未完全统一。根据来源,circRNA 可大致分为 4 类:全外显子型的 circRNA(exonic circRNA,ecircRNA),内含子和外显子组合的 circRNA(exon-intron circRNA,EIciRNA),内含子组成的套索型 ciRNA(circular intronic RNA,ciRNA),由病毒 RNA 基因组、tRNA、rRNA、snRNA 等环化产生的 circRNA^[15]。其主要功能有作为 miRNA 的海绵,调节靶基因表达,与相关蛋白结合发挥作用,最新研究发现部分 RNA 还可翻译蛋白等。

3.1 作为 miRNA 的海绵

微小 RNA(microRNA,miRNA)是重要的基因表达转录后调节因子,可与 mRNA 竞争性结合,从而影响靶 mRNA 的稳定性,并通过结合到启动子调节在细胞核中表达互补配对抑制靶 mRNA 的翻译。CircRNA 上具有 miRNA 的结合位点,可通过吸附 miRNA,充当 miRNA 的海绵,阻断 miRNA 对基因表达的抑制,间接调控靶 mRNA 的翻译^[16]。Hansen 等^[17]发现人和小鼠大脑中存在的 CDR1as 包含 miR-7 的结合位点,通过 AGO2(Argonaute 2)蛋白实现竞争性吸附 miR-7,抑制 miR-7 活性,间接调控 mRNA 的表达。也有研究发现 circRNA Sry 可以海绵化 miR-138,并影响 miR-138 的活性,这表明 circRNA 可以作为 miRNA 的海绵并调控其表达。此外,有研究发现人类膀胱癌相关的 circBCRC-3 可以直接与 miR-182-5p 结合,充当 miRNA 海绵,抑制 miR-182-5p 活

性,使靶向基因 p27 的表达上调,进而抑制膀胱癌的增殖^[18]。越来越多的研究也表明 circRNA-cTFR^[19]、circPSMC3^[20]和 circSETD3^[21]等同样是通过影响 miRNA 来参与基因表达调控。

3.2 调节基因转录

有研究表明 circRNA 可在转录水平上调节基因表达。如 EIciRNA 可以与 U1 小核糖核蛋白结合,在 EIciRNA 对应亲本基因启动子处与 RNA 聚合酶 II 结合,正向调节基因转录^[22]。Zhang 等^[23]发现 ci-ankrd52 的亲本基因为 ANKRD52,利用 RNAi 技术敲低 ci-ankrd52 的表达后,ANKRD52 基因转录亦降低,这表明 circRNA 能顺式影响亲本基因的表达。

3.3 CircRNA 可以与 RNA 结合蛋白相互作用发挥功能

CircRNA 可与 RNA 结合蛋白或其他非编码 RNA 相互作用,在转录和转录后水平上控制基因表达^[12]。有学者^[24]通过甘油密度梯度离心实验发现 circRNA 与蛋白结合的线索证据。随后确定 12 种能够同 RNA 结合蛋白 IMP3 结合的 circRNA 分子,证实 RNA 蛋白复合物的存在。

3.4 CircRNA 可翻译蛋白

作为 ncRNA 的成员,circRNA 不参与转录后的翻译。但最新研究表明 circRNA 具有核糖进入位点(IRES)可翻译表达蛋白质,天然的 circRNA 具有翻译的起始密码子但没有翻译功能,人工合成的含有 IRES 的 circRNA 在体外实验中可以翻译蛋白质^[25]。Legnini 等^[26]发现人和小鼠肌分化期间产生 circ-ZNF609,circ-ZNF609 具有一个开放性的阅读框,并含有终止密码子和起始密码子,能翻译合成蛋白质。

3.5 CircRNA 的形成与降解机制

CircRNA 的生物合成机制主要包括:①外显子跳跃环化(exon-skipping circularization):在 mRNA 前体上,通过连续的组装小核糖体蛋白从而催化外显子跳跃产生一个包含外显子和内含子的套索中间体,接着切除剩余内含子形成外显子来源的 circRNA;②内含子配对驱动环化(intron-pairing-driven circularization):部分 circRNA 外显子两侧的内含子中含有反向互补序列,内含子反向剪接使其头尾连接,切除剩余内含子形成 ecircRNA,不切除剩余内含子形成 EIciRNA^[4];③内含子套索驱动环化(intron-lariat-driven circularization):内含子通过含有邻近 5'

剪接位点处的 7nt GU 富集元件以及 3'分支点的 11 ntC 富集元件完成独立环化形成 ciRNA^[23];④RNA 结合蛋白驱动环化[RNA binding proteins (RBPs)-driven circularization]:与内含子配对驱动的环化相似,通过 RBP 和外显子侧翼内含子相互作用,使两个侧翼内含子相互靠近,进而促进环化,并通过反向剪接使其头尾连接,形成 ecircRNA 或 ElciRNA^[27]。而目前 circRNA 的降解机制尚不明确。小 RNA 介导的 circRNA 降解是目前研究最清楚的 circRNA 降解机制模型。研究发现 miR-671 通过介导 AGO2 降解 CDR1as^[28],进一步研究发现 CDR1as 水平很可能是通过剪接被 miR-7 调节的,并且依赖于 miR-671。另外 circRNA 也可以被外泌体分泌到胞外。

4 CircRNA 在肺癌中的表达及意义

CircRNA 广泛参与了细胞结构,功能和生理发育的调控,它们可能有助于癌症的发病和发展,在肺癌方面亦如此。某些 circRNA 在肿瘤组织过表达或低表达,并与肿瘤预后显著相关,这为肿瘤的诊治提供了新的思考。一些 circRNA 在肿瘤细胞中常常作为 miRNA 海绵,参与基因表达,对肿瘤发挥抑制或促进的作用^[29]。其中 ciRS-7、circ-HIPK3 等 circRNA 在多种类型的肿瘤组织中表达丰富,这为肿瘤机制研究提供新的思路。越来越多研究表明 circRNA 可能在转录和转录后发挥重要作用,并有可能成为诊断肿瘤(尤其是肺癌)的理想生物标记。

4.1 CircRNA 在肺癌进展中的作用及机制

4.1.1 CircRNA 促进肺癌细胞增殖

CircRNA 主要通过发挥 miRNA 海绵功能调节 miRNA 生物活性,进而发挥对肺癌的促进或抑制的作用。有研究发现非小细胞肺癌(NSCLC)组织和细胞中 circPVT1 过表达^[30]。可能的机制为转录因子 c-Fos 与 circPVT1 的启动子区域结合。敲除 circPVT1 可抑制 NSCLC 细胞增殖、迁移和侵袭,并促进肿瘤细胞凋亡。原因可能是 circPVT1 通过调节 E2F2 信号传导途径介导 NSCLC 进程。CircPVT1 可以竞争性结合 miR-125b 从而增强 E2F2 的表达,促进肿瘤发生。

4.1.2 CircRNA 促进肺癌细胞凋亡

Chen 等^[31]对比 NSCLC 相邻组织发现 NSCLC

组织中的 circ_0078767 和 RASSF1A 被下调,而 miR-330-3p 被上调。MiR-330-3p 与 Circ_0078767 和 RASSF1A 具有绑定关系。Circ_0078767 和 RASSF1A 的过表达或 miR-330-3p 的低表达显著抑制了 NSCLC 细胞的活力、细胞周期进程和侵袭功能。CircCRIM1 (hsa_circ_0002346) 是一种来自 CRIM1 基因外显子 2、3 和 4 的 circRNA,在肺腺癌中表达明显降低。Wang^[32]在体内和体外实验均表明 circ-CRIM1 可以通过海绵化作用下调 miR-93 和 miR-182 表达来促进白血病抑制因子受体(一种肿瘤抑制因子)的表达,促进肺腺癌细胞凋亡。在临床和病理分析中,肺腺癌中 circCRIM1 的下调与淋巴结转移和 TNM 分期显著相关,提示 circCRIM1 是影响肺腺癌患者总体生存期的独立危险因素。这表明 circ-CRIM1 可以抑制肺腺癌细胞的侵袭和转移,是肺腺癌潜在的治疗靶点。

4.1.3 CircRNA 与肺癌转移

肺癌细胞常常发生转移,多提示预后不良,而近年来研究发现在肺癌转移过程中,circRNA 表达常表现出过表达或低表达,这为以后转移性肺癌的治疗提供新的方向。Feng^[33]发现 hsa-circ-0000211 在人肺腺癌组织和肺腺癌细胞系中的表达分别高于正常组织和人肺正常上皮细胞。Hsa-circ-0000211 的敲低可以抑制肺腺癌的迁移和侵袭特性。此外,hsa-circ-0000211 通过使 miR-622 变海绵促进了肺腺癌的迁移和侵袭。此外,hsa-circ-0000211 通过靶向 miR-622 来上调 HIF1- α 表达。Hsa-circ-0000211 通过调节 miR-622/HIF1- α 网络促进了肺腺癌细胞的迁移和侵袭。有学者发现 circMAN2B2 的敲低可显著抑制 H1299 和 A549 肺癌细胞的增殖和侵袭^[34]。研究发现 circMAN2B2 可以抑制 miR-1275 的水平。MiR-1275 通过调节 FOXK1 表达在肺癌中发挥作用。此外,研究也证实回补 FOXK1 可以恢复 circMAN2B2 敲低诱导的细胞增殖和侵袭抑制。

4.2 CircRNA 与肺癌耐药

目前化疗、靶向治疗、免疫治疗在肺癌治疗中效果良好,但耐药问题日益严峻,因此耐药机制的研究尤为重要。Dong^[35]发现在 NSCLC 中 Circ_0076305 上调,在耐顺铂的 NSCLC 组织和细胞中升高更显著。进一步的实验发现,circ_0076305 可以通过与 miR-296-5p 结合来调节 NSCLC 细胞的顺铂抗性。STAT3 直

接被 miR-296-5p 靶向, 阻碍了 miR-296-5p 诱导的顺铂抗性抑制。进一步研究表明 circ_0076305 的表达与 STAT3 正相关, 并且 circ_0076305 可以通过靶向 miR-296-5p 来调节 STAT3。近期有学者发现 hsa_circ_0004015 在 NSCLC 组织中上调, 并且与 NSCLC 患者的总体生存率差有关^[36]。敲低 hsa_circ_0004015 显著降低细胞活力, 增殖和侵袭, 而过表达在体内和体外表现出相反的作用。此外, hsa_circ_0004015 可以增强 HCC827 对吉非替尼的耐药性。在机制上, hsa_circ_0004015 充当 miR-1183 的海绵, 并且揭示 *PDPK1* 是 miR-1183 的靶基因。功能测定表明, hsa_circ_0004015 的致癌作用归因于 miR-1183/PDPK1 轴的调控。总之, circ_0016760/miR-1183/PDPK1 信号通路可能在 NSCLC 的肿瘤发生中起重要作用。

4.3 CircRNA 作为肺癌的生物分子标志物

4.3.1 CircRNA 作为肺癌的诊断分子标志物

目前肺癌分子水平检测主要检测肿瘤循环细胞、循环 DNA、循环 miRNA、血清肿瘤标志物、肺癌自身抗体等, 但在早期肺癌诊断临床应用中表现均不理想^[37], 临床上仍以病理作为诊断金标准, 而 circRNA 的出现则为肺癌的早期诊断带来了新的方向。Li 等^[38]分析了 92 例 NSCLC 患者组织样本, 发现 hsa_circ_0079530 在肺癌组织中与正常组织相比表达明显上调($P<0.01$), 其高表达在不同肿瘤大小($P=0.001$)和淋巴结转移($P=0.038$)中差异具有统计学意义, 并且 hsa_circ_0079530 在 NSCLC 中的诊断 ROC 曲线下面积为 0.756 (95%CI: 0.649~0.864; $P<0.01$), 说明 hsa_circ_0079530 对肺癌的诊断及预后具有一定的价值。Tan 等^[39]发现 EML4-ALK 融合可表达 F-circEA, 而 F-circEA 仅特异性地表达于 EML4-ALK 阳性患者的血浆内, 提示 F-circEA 有望成为诊断 EML4-ALK 阳性的生物标志物。Li 等^[40]发现 circ_0000735 在 NSCLC 组织和细胞中均升高。并且 circ_0000735 的表达与 TNM 分期和淋巴结浸润有关。进一步研究发现 circ_0000735 显著促进了细胞增殖、迁移和侵袭能力并抑制了细胞凋亡。这可能因为 circ_0000735 结合 miR-1179/1182, 从而在 NSCLC 细胞中发挥其生物学功能。目前已有研究证实在肺癌组织中 hsa_circ_0046264、circRNA-FOXO3、circ_0001649、circRNF13、circITCH 存在表达下调, 而 hsa_circ_0079530、circRNA_100876、hsa_circ_0007385、hsa_circ_0014130、hsa_circ_0012673、circPRKCI、circ_001569、hsa_circ_0007534、circMAN2B2、hsa_circ_0000064、circUBAP2、hsa_circRNA_103809、circBANP、hsa_circ_0013958、circRNA_102231 则被证实在肺癌组织中表达上调, 这些分子具有成为 NSCLC 患者早期检测的潜在生物标志物的能力。

4.3.2 CircRNA 作为评价肺癌预后的分子标志物

预后评价可以作为调整治疗方案的重要参考, 据此能有效改善患者生存时间。Zou 等^[41]发现 circ_0067934 在 NSCLC 肿瘤组织及细胞株内具有高表达。分析表明 circ_0067934 高表达与生存期呈负相关, Cox 比例风险分析表明 circ_0067934 可作为 NSCLC 患者不良预后判断的独立危险因素。Su 等^[42]发现 ciRS-7 和 miR-7 通过 NF- κ B 信号通路调节 NSCLC 的细胞代谢。CiRS-7 的过度表达有助于下调 miR-7 的表达, 进而上调 RELA 的表达。RELA 位于 11 号染色体 q13 上, 是 NSCLC 中 miR-7 和 ciRS-7 的下游靶基因。而 RELA 的表达与肿瘤细胞的增殖、侵袭和迁移有关。CiRS-7 高表达的 NSCLC 患者常伴有淋巴结转移, 生存期较短, 因此 ciRS-7 在肺癌中的预后评价也有一定意义。Wang 等^[43]在 NSCLC 组织和细胞系中鉴定到了高 circ-PRMT5 表达, 并且 circ-PRMT5 高表达与更大的肿瘤大小、临床晚期、淋巴结转移以及预后不良呈正相关。敲除 circ-PRMT5 可以削弱 NSCLC 细胞的体外和体内增殖能力。这可能因此 circ-PRMT5 可以同时有效地海绵化 3 个 miRNA(miR-377、miR-382 和 miR-498)并减轻它们对 EZH2 的抑制, 从而导致 EZH2 表达增加, 促进 NSCLC 的进展。在 NSCLC 组织中观察到 circ-PRMT5 和 EZH2 表达之间的强正相关。表明 circ-PRMT5 是 NSCLC 中的致癌性 circRNA, 可通过调节 miR-377/382/498-EZH2 轴来促进 NSCLC 的生长。

5 展 望

在全球, 肺癌对人类的威胁日益加重。而肺癌治疗中较低缓解率以及继发性耐药等问题迫使我们进一步寻找诊断和治疗肺癌的新靶点。CircRNA 在肺癌中异常表达, 且结构稳定, 在肺癌诊断中具有较好的敏感性与特异性, 并在肺癌进展中发挥着一系列

生物学功能,可以作为诊治肺癌的新靶点。在后续研究中或许可以利用 circRNA 的分子海绵功能,针对特定的肿瘤相关 miRNA 合成 circRNA 调控肿瘤后续基因表达,也可以适当地修改 circRNA 分子,沉默肿瘤相关结合位点以辅助治疗肿瘤。未来利用 circRNA 诊断治疗肺癌从基础走向临床或将成为新的趋势。

参考文献:

- [1] Adelman K, Egan E. Non-coding RNA: more uses for genomic junk[J]. *Nature*, 2017, 543(7644): 183–185.
- [2] Peng Y, Zhang X, Ma Q, et al. MiRNA-194 activates the Wnt/ β -catenin signaling pathway in gastric cancer by targeting the negative Wnt regulator, SUFU [J]. *Cancer Lett*, 2017, 385(1): 117–127.
- [3] Xie W, Yuan S, Sun Z, et al. Long noncoding and circular RNAs in lung cancer: advances and perspectives [J]. *Epigenomics*, 2016, 8(9): 1275–1287.
- [4] Jeck WR, Sorrentino JA, Wang K, et al. Circular RNAs are abundant, conserved, and associated with ALU repeats [J]. *RNA*, 2013, 19(2): 141–157.
- [5] Bachmayr-Heyda A, Auer K, Sukhbaatar N, et al. Small RNAs and the competing endogenous RNA network in high grade serous ovarian cancer tumor spread [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(26): 39640–39653.
- [6] Arnberg AC, Van Ommen GJB, Grivell LA, et al. Some yeast mitochondrial RNAs are circular [J]. *Cell*, 1980, 19(2): 313–319.
- [7] Cocquerelle C, Mascrez B, Hetuin D, et al. Mis-splicing yields circular RNA molecules [J]. *FASEB J*, 1993, 7(1): 155–160.
- [8] Luo J, Wang XL, Sun ZC, et al. Progress in circular RNAs of plants [J]. *Hereditas (Beijing)*, 2018, 40(6): 467–477. [骆甲, 王型力, 孙志超, 等. 植物环状 RNA 研究进展 [J]. *遗传*, 2018, 40(6): 467–477.]
- [9] 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(2): e30733.
- [10] Wang Q, Qu L, Chen X, et al. Progress in understanding the relationship between circular RNAs and neurological disorders [J]. *J Mol Neurosci*, 2018, 65(4): 546–556.
- [11] Qu S, Yang X, Li X, et al. Circular RNA: a new star of noncoding RNAs [J]. *Cancer Lett*, 2015, 365(2): 141–148.
- [12] 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.
- [13] 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.
- [14] Fan X, Weng X, Zhao Y, et al. Circular RNAs in cardiovascular disease: an overview [J]. *Biomed Res Int*, 2017, 2017: 1–9.
- [15] Greene J, Baird AM, Brady L, et al. Circular RNAs: biogenesis, function and role in human diseases [J]. *Front Mol Biosci*, 2017, 4: 38.
- [16] Guo JU, Agarwal V, Guo H, et al. Expanded identification and characterization of mammalian circular RNAs [J]. *Genome Biol*, 2014, 15(7): 409.
- [17] Hansen TB, Jensen TI, Clausen BH, et al. Natural RNA circles function as efficient microRNA sponges [J]. *Nature*, 2013, 495(7441): 384–388.
- [18] Xie F, Li Y, Wang M, et al. Circular RNA BCRC-3 suppresses bladder cancer proliferation through miR-182-5p/p27 axis [J]. *Mol Cancer*, 2018, 17(1): 144.
- [19] Su H, Tao T, Yang Z, et al. Circular RNA cTFRC acts as the sponge of MicroRNA-107 to promote bladder carcinoma progression [J]. *Mol Cancer*, 2019, 18(1): 27.
- [20] Rong D, Lu C, Zhang B, et al. CircPSMC3 suppresses the proliferation and metastasis of gastric cancer by acting as a competitive endogenous RNA through sponging miR-296-5p [J]. *Mol Cancer*, 2019, 18(1): 13–25.
- [21] Xu L, Feng X, Hao X, et al. CircSETD3 (Hsa_circ_0000567) acts as a sponge for microRNA-421 inhibiting hepatocellular carcinoma growth [J]. *J Exp Clin Oncol*, 2019, 38(1): 98.
- [22] 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): 256–264.
- [23] Zhang Y, Zhang XO, Chen T, et al. Circular intronic long noncoding RNAs [J]. *Mol Cell*, 2013, 51(6): 792–806.
- [24] Schneider T, Hung L, Schreiner S, et al. CircRNA-protein complexes: IMP3 protein component defines subfamily of circRNPs [J]. *Sci Rep*, 2016, 6(1): 31313.
- [25] Wang Y, Wang Z. Efficient backsplicing produces translatable circular mRNAs [J]. *RNA*, 2015, 21(2): 172–179.
- [26] 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(1): 22–37.
- [27] Conn SJ, Pillman KA, Toubia J, et al. The RNA binding protein quaking regulates formation of circRNAs [J]. *Cell*,

- 2015,160(6):1125–1134.
- [28] 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(21):4414–4422.
 - [29] Han C,Seebacher NA,Hornicek FJ,et al. Regulation of microRNAs function by circular RNAs in human cancer [J]. *Oncotarget*,2017,8(38):64622–64637.
 - [30] Li X,Zhang Z,Jiang H,et al. Circular RNA circPVT1 promotes proliferation and invasion through sponging miR-125b and activating E2F2 signaling in non-small cell lung cancer[J]. *Cell Physiol Biochem*,2018,51(5):2324–2340.
 - [31] Chen T,Yang Z,Liu C,et al. Circ_0078767 suppresses non-small-cell lung cancer by protecting RASSF1A expression via sponging miR-330-3p[J]. *Cell Prolif*,2019,52(2):e12548.
 - [32] Wang L,Liang Y,Mao Q,et al. Circular RNA circCRIM1 inhibits invasion and metastasis in lung adenocarcinoma through the microRNA(miR)-182/miR-93-leukemia inhibitory factor receptor pathway[J]. *Cancer Sci*,2019,110(9):2960–2972.
 - [33] Feng D,Xu Y,Hu J,et al. A novel circular RNA,hsa-circ-0000211,promotes lung adenocarcinoma migration and invasion through sponging of hsa-miR-622 and modulating HIF1- α expression [J]. *Biochem Biophys Res Commun*,2019.[Epub ahead of print]
 - [34] Ma X,Yang X,Bao W,et al. Circular RNA circMAN2B2 facilitates lung cancer cell proliferation and invasion via miR-1275/FOXK1 axis [J]. *Biochem Biophys Res Commun*,2018,498(4):1009–1015.
 - [35] Dong Y,Xu T,Zhong S,et al. Circ_0076305 regulates cisplatin resistance of non-small cell lung cancer via positively modulating STAT3 by sponging miR-296-5p[J]. *Life Sci*,2019,239:116984.
 - [36] Zhou Y,Zheng X,Xu B,et al. Circular RNA hsa_circ_0004015 regulates the proliferation,invasion,and TKI drug resistance of non-small cell lung cancer by miR-1183/PDPK1 signaling pathway [J]. *Biochem Biophys Res Commun*,2019,508(2):527–535.
 - [37] Blandin Knight S,Crosbie P A,Balata H,et al. Progress and prospects of early detection in lung cancer [J]. *Open Biol*,2017,7(9):170070.
 - [38] Li J,Wang J,Chen Z,et al. Hsa_circ_0079530 promotes cell proliferation and invasion in non-small cell lung cancer[J]. *Gene*,2018,665:1–5.
 - [39] Tan S,Sun D,Pu W,et al. Circular RNA F-circEA-2a derived from EML4-ALK fusion gene promotes cell migration and invasion in non-small cell lung cancer [J]. *Mol Cancer*,2018,17(1):138.
 - [40] Li W,Jiang W,Liu T,et al. Enhanced expression of circ_0000735 forecasts clinical severity in NSCLC and promotes cell progression via sponging miR-1179 and miR-1182 [J]. *Biochem Biophys Res Commun*,2019,510(3):467–471.
 - [41] Zou Q,Wang T,Li B,et al. Overexpression of circ_0067934 is associated with increased cellular proliferation and the prognosis of non-small cell lung cancer[J]. *Oncol Lett*,2018,16(5):5551–5556.
 - [42] Su C,Han Y,Zhang H,et al. CiRS-7 targeting miR-7 modulates the progression of non-small cell lung cancer in a manner dependent on NF- κ B signalling [J]. *J Cell Mol Med*,2018,22(6):3097–3107.
 - [43] Wang Y,Li Y,He H,et al. Circular RNA circ-PRMT5 facilitates non-small cell lung cancer proliferation through up regulating EZH2 via sponging miR-377/382/498 [J]. *Gene*,2019,720:144099.