

# 环状 RNA 在肿瘤中的研究进展

孙丹, 辛彦

(中国医科大学附属第一医院肿瘤研究所胃肠肿瘤病理研究室, 普通外科研究所  
肿瘤病理研究室, 辽宁 沈阳 110001)

**摘要:** 环状 RNA (circRNA) 是一类不同于线性 RNAs, 可形成共价闭锁环结构, 在哺乳动物体内具有巨大基因调控功能的非编码 RNAs, 其主要来源于外显子或内含子, 经索尾插接或套索内含子方式产生, 具有数量巨大, 进化保守、在细胞质中稳定性高等特点, 具有 microRNA 分子海绵、结合 RNA 相关蛋白形成 RNA-蛋白质复合物和基因转录调控等作用。CircRNA 可与肿瘤相关的 miRNA 形成 circRNA-miRNA 轴参与肿瘤相关信号通路的调控。全文从 circRNA 的种类、成环机制、功能及其在肿瘤中的作用及最新进展等方面作一综述。

**关键词:** 环状 RNA; 非编码 RNA; 微小 RNA 海绵; 肿瘤

**中图分类号:** R73 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2018)04-0370-05

**doi:** 10.11735/j.issn.1671-170X.2018.04.B016

## Research Progress of Circular RNAs in Carcinomas

SUN Dan, XIN Yan

(Laboratory of Gastrointestinal Onco-Pathology, Cancer Institute and General Surgery Institute, The First Affiliated Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, China)

**Abstract:** Circular RNAs (circRNAs) are a large class of RNAs which can form covalently closed continuous loops and act as gene regulators in mammals. The circRNAs are mainly generated from exons and introns by back splicing or lariat introns. They are enormously abundant, evolutionally conserved and relatively stable in cytoplasm. CircRNAs can function as microRNA sponges, binding to RNA-associated proteins to form RNA-proteins complexes and modifiers of genetic transcription. Importantly, circRNAs interact with cancer-related miRNAs and the circRNA-miRNA axes play a vital role in cancer-related pathways. This article aims to review the latest research progress on the classification, mechanism of cyclization, functions of circRNAs and its roles in cancer.

**Subject words:** circular RNA; non-coding RNA; micro RNA sponge; tumor

环状 RNA (circular RNA, circRNA) 是一类最近发现的内源性的非编码 RNA, circRNA 与线性 RNA 不同, 不包含 5' 帽状结构与 3' 腺苷酸尾, 形成特殊的共价闭合环状结构。Hsu 和 Coca-Prados 于 1979 年利用电子显微镜第一次观察到 RNA 可以环状的形式存在于真核细胞的细胞质中<sup>[1]</sup>。1980 年, Arnberg 等<sup>[2]</sup>在酵母线粒体中发现了 circRNA。1993 年, Cocquerelle 等<sup>[3]</sup>又在人体细胞中发现了 circRNA。CircRNA 表达水平低, 最初被认为是剪接体介导的拼接错误产生的副产品或是逃逸内含子套索的中间产物, 因此, 并未收到广泛的重视。近来随着高通量

测序技术的发展、CIRI 和多分裂映射算法的应用, 对 circRNA 的研究更加系统和全面, circRNA 在肿瘤的发生、发展过程中发挥着促癌或抑癌作用, 参与细胞增殖与凋亡调控、肿瘤侵袭与转移等过程, circRNA 有望成为新型肿瘤标志物和肿瘤治疗的靶点, 深入研究 circRNA 对肿瘤的诊断、治疗及预后具有重要意义。

## 1 CircRNA 概述

目前已知的 circRNA 分子根据其在基因组中的来源及其构成序列的不同分为三类: 外显子来源的环状 RNA (exonic circRNAs, 简称 ecircRNAs)、内含子来源的环状 RNA 分子 (intronic circRNAs, 简称 icRNAs) 以及由外显子和内含子共同组成的环状 RNA 分子 (exon-intron circRNA, 简称 EIcRNAs)<sup>[4]</sup>。

**基金项目:** 国家自然科学基金项目 (81071650); 辽宁省科技厅科学技术计划项目 (2013225585); 辽宁省高等学校攀登学者计划 (2009)

**通讯作者:** 辛彦, 教授, 博士生导师, 博士; 中国医科大学附属第一医院肿瘤研究所胃肠肿瘤病理研究室, 普通外科研究所肿瘤病理研究室, 辽宁省沈阳市和平区南京北街 155 号 (110001); E-mail: yxin@mail.cmu.edu.cn

**收稿日期:** 2017-02-07

### 1.1 外显子来源的环状 RNA(ecircRNAs)

研究发现,绝大多数植物和哺乳动物中发现的 circRNAs 均为外显子 circRNA。全基因组分析表明,83%的 circRNAs 与蛋白编码区重叠。大多数 ecircRNAs 跨度少于 5 个外显子,由上百至上千个核苷酸组成,长度平均在 547nt。部分研究发现细胞质内的 ecircRNAs 在细胞中具体很高的稳定性。ecircRNAs 大多数通过 RNA 索尾插接形成,即剪接供体间接到上游的剪接受体位点,此时 circRNA 首尾相连,缺乏游离的 3' 和 5' 末端<sup>[5]</sup>。

### 1.2 内含子来源的环状 RNA 分子(ciRNAs)

ciRNAs 仅来源于内含子,人类仅有 19.2%和植物中很少一部分的 circRNA 为 ciRNAs。与 ecircRNAs 不同,ciRNAs 有 3'~5' 头尾连接域,在稳定性、亚细胞定位、丰度、保存和功能方面也有不同的特征。CiRNA 为核定位,比 ecircRNAs 保守序列少,在人类细胞中很多 ciRNAs 都是独有的。此外,ciRNAs 很少被调控,其表达与其亲本信使 RNA(mRNAs)的表达呈正相关性。CiRNAs 与 RNA 聚合酶 II 复合物相关,并能增加其亲本基因的表达,ciRNAs 并非仅是剪接的产物,它们也起着重要的作用<sup>[6,7]</sup>。

### 1.3 外显子和内含子共同组成的环状 RNA 分子(EIciRNAs)

研究发现,约 20%的 ecircRNAs 中保留内含子,在外显子中保留内含子会使这一亚类 circRNA 在保留部分 ecircRNAs 和 ciRNAs 的特征的同时更独特。与 ecircRNAs 相似,在长的侧翼内含子中 EIciRNAs 有反义互补序列。与 ciRNAs 相似,EIciRNAs 主要存在于细胞核,与 U1 snRNA 结合并通过与 RNA 聚合酶 II 作用来促进其亲本基因的转录<sup>[8,9]</sup>。

### 1.4 环状 RNA“反向剪接”的发生模型

目前,环状 RNA“反向剪接”的发生模型有四种:(1)套索剪接驱动的环化:一个外显子的 3' 剪接供体与另一个外显子的 5' 剪接受体共价结合,然后套索中的内含子被切除,形成外显子环状 RNA,它的生成与外显子跳读有关<sup>[10,11]</sup>。(2)内含子配对驱动的环化:pre-mRNA 经反向剪接产生环状 RNA 和外显子-内含子-外显子中间体,后者的内含子被切除,形成线性 RNA 或被降解。但这个模型也可能最终产生外显子-内含子环状 RNA。侧翼内含子的重复或非重复互补序列通过反向互补配对来促进环状 RNA 的生成<sup>[10,12]</sup>。(3)单个内含子直接成环:套索内

含子通过剪接反应生成。5' 剪接位点附近的 GU 富集序列和分支点附近的 C 富集序列使得内含子逃避去分支和降解。分支点 3' 端下游尾巴被切除从而成环<sup>[4]</sup>。(4)RNA 结合蛋白或反式原件驱动的环化:RNA 结合 QKI 依靠内含子的 QKI 结合基序,促进环状 RNA 形成;MBL 蛋白通过与侧翼内含子上的 MBL 结合位点相互作用促进 circMbl 生成;QKI 和 MBL 能够结合外显子两侧的 RNA 结合蛋白(RNA-binding protein,RBP) (位于内含子序列)结合模序,通过 RBP 之间的相互作用拉近外显子的距离,促进反向剪接的形成<sup>[13]</sup>;RNA 编辑酶 ADAR 通过破坏侧翼内含子的反向互补配对结构抑制环状 RNA 形成<sup>[14]</sup>。

## 2 CircRNA 的功能

### 2.1 miRNA 分子海绵或竞争性内源 RNA(ceRNA)

CDR1as/ciRS-7 是已经发现能结合 miR-7 发挥其分子海绵作用的环状 RNA,是 miR-7 微小 RNA 抑制剂,可以大量结合 miR-7,从而降低发挥功能的 miR-7 的数量,间接促进 miR-7 靶基因的稳定性。Memczak 等<sup>[15]</sup>通过 circRNA 测序在人和线虫中发现了有大量 circRNA 表达,CDR1as 在人和小鼠中是保守的;通过生物信息学分析,在 CDR1as 序列上找到 63 个 miR-7 结合位点,在斑马鱼中 CDR1as 表达与敲除 miR-7 的作用相似都会使中脑发育障碍,这提示 CDR1as 通过 miRNA 海绵吸附作用发挥着 miRNA 拮抗剂的作用<sup>[16-18]</sup>。

性别决定域 Y 起源于 Sry 环状转录本,最早发现其在成熟鼠睾丸中高表达,Sry 环状 RNA 包含 16 个 miR-138 结合位点,荧光素酶报告基因检测确定了 Sry 发挥其对 miR-138 的海绵调控作用<sup>[16]</sup>。

生物信息学研究发现 circRNA-CER(Has\_circ\_0023404)也是一个 miRNA 海绵,此外还可以调控 MMP13 等基因。在骨关节炎样本中检测到 circRNA-CER 表达显著升高 2.5 倍,网络分析 circRNA-miRNA-mRNA 交互作用,发现 circRNA-CER 有 5 个 miRNAs 结合位点(miR-636,miR-665,miR-217,miR-646 和 miR-136),且在结合 miR-136 的 3'UTR 区存在 circRNA-CER 和 MMP13 基因表达的共同调控<sup>[19]</sup>。

### 2.2 调控来源基因的表达

CircRNA 可与 RNA 结合蛋白相互结合,特别是转录相关因子,包括 RNA 聚合酶 II,转录因子等,将

其募集到亲本基因,进而影响亲本基因的表达。Zhang 等研究发现在细胞核内有大量 circRNAs 富集,但是很少有 miRNA 的靶位点,ciRNA 的敲减会使其亲本基因表达降低<sup>[20]</sup>。环状 RNA 也可吸附蛋白因子,如 CDR1as 和 Sry 可与 miRNA 效应因子 Argonaute(AGO)的结合<sup>[21]</sup>。研究表明,环状 RNA 和线性 RNA 的转录后加工之间存在竞争关系,从而影响 mRNA 的表达。Jeck 等<sup>[22]</sup>研究发现在 *HIPK3* 基因产生的转录本中,环状 RNA 的丰度远高于相应的线性 RNA,环状 RNA 可被视作 *HIPK3* 基因的一种可变剪切形式,环状 RNA 的大量产生会减少相应线性 RNA 的形成,从而影响 *HIPK3* 蛋白的表达。

### 2.3 蛋白质/肽翻译

一些 circRNA 有开放阅读架能够翻译成肽类。Perriman 等<sup>[23]</sup>于 1998 年在大肠杆菌中发现一个环状的 mRNA 包含一个绿色荧光蛋白可直接表达 GFP。AbouHaidar 等<sup>[24]</sup>研究发现一个类病毒相关的 circRNA,长度 220nt,编码一个 16kD 的蛋白。当 RNAs 包含内部核糖体进入位点或者原核核蛋白体结合位点时,circRNAs 可在体内和体外翻译成肽类<sup>[20]</sup>。

### 2.4 疾病生物标志物

环状 RNA 稳定性高,容易进入体液(全血,血清,血浆,脑脊液,尿液等),并且其表达模式具有组织、时空和疾病特异性,使得环状 RNA 成为有潜力的疾病生物标志物。cANRIL 作为 *INK4A0ARF* 的反义转录本,其表达与 *INK4/ARF* 的转录和心血管疾病风险相关<sup>[25]</sup>。Gao 等<sup>[26]</sup>通过 circRNA 测序和生物信息学分析,在 15 种人类细胞系中鉴定出了近 10 万种 circRNA,其中绝大部分是新发现的并表现出很强的细胞特异性,在不同类型的肿瘤中表达差异很大,此外,相对于线性 RNA,circRNA 更加稳定,circRNA 具有作为新型肿瘤标志物的潜力。

## 3 CircRNAs 与肿瘤

### 3.1 CircRNAs 与肝癌

Hsa\_circ\_0001649 是第一个被发现可能成为肝细胞癌标志物的 circRNA,利用 qRT-PCR 检测 89 例配对肝细胞癌及其邻近正常组织中 Hsa\_circ\_0001649 的表达,结果显示 Hsa\_circ\_0001649 在肝癌组织中表达显著下调。在肝癌 HCC-LM3 和 MHCC-97L 细胞系中敲减 Hsa\_circ\_0001649,

MMP9、MMP10 和 MMP13 的 mRNA 表达显著升高,提示 Hsa\_circ\_0001649 与肝细胞癌的侵袭与转移密切相关<sup>[27]</sup>。Shang 等<sup>[28]</sup>对 3 例肝细胞癌与其邻近的正常肝组织进行全球 circRNA 表达芯片检测,发现 circRNA 表达有差异,其中 Hsa\_circ\_0000520, Hsa\_circ\_0005075 和 Hsa\_circ\_0066444 表达差异显著,对 60 例配对肝癌及其正常肝组织进行 qRT-PCR 检测验证,发现只有 Hsa\_circ\_0005075 在肝癌及其配对正常组织中表达明显升高( $P < 0.001$ ),且与肝癌组织大小相关,有望成为肝癌诊断的标志物。Hsa\_circ\_0005075 可能与 miR-23b-5p, miR-93-3p, miR-581, miR-23a-5p 及其对应的 mRNAs 构成一个 Hsa\_circ\_0005075-靶 miRNA-基因相互作用网。此外,ciRS-7 在肝癌及其配对正常肝组织中表达无差异,但是 ciRS-7 与肝癌患者年龄  $< 40$  岁、AFP  $\geq 400$  ng/ $\mu$ l 和肝细胞癌微血管侵犯密切相关。同时发生微血管侵犯的肝细胞癌组织中 ciRS-7 的表达与 miR-7 呈负相关,与 miR-7 靶基因 *PI3KCD* 和 *p70S6K* 表达呈正相关<sup>[29]</sup>。

### 3.2 CircRNAs 与结直肠癌

目前研究发现有 Hsa\_circ\_0000069、hsa\_circ\_001569、Hsa\_circ\_001988 三种 circRNA 在结直肠癌(colorectal cancer, CRC)中差异表达,且与结直肠癌的发生发展密切相关,其中 Hsa\_circ\_0000069 和 Hsa\_circ\_001569 在结直肠癌组织中的表达显著高于配对正常组织,Hsa\_circ\_0000069 的表达与 CRC 患者年龄、肿瘤大小、淋巴结转移和 TNM 分期相关,在 CRC 细胞中敲除 Hsa\_circ\_0000069 明显抑制肿瘤细胞的增殖、迁移和侵袭,并将细胞周期阻滞在 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期<sup>[30]</sup>。Hsa\_circ\_001569 作为 CRC 细胞增殖和侵袭转移的正向调控者,与 miR-145 发生海绵吸附进而上调 miR-145 功能性靶基因 *E2F5*、*BAG4* 和 *FMNL2*, Hsa\_circ\_001569 与 miR-145 呈负相关,miR-145 与 *E2F5*、*BAG4* 和 *FMNL2* 的表达呈负相关<sup>[31]</sup>。Wang 等<sup>[32]</sup>发现在 31 对配对结直肠癌组织中 Hsa\_circ\_001988 的表达下调,且与肿瘤组织分化、神经浸润显著相关,提示 Hsa\_circ\_001988 可能成为结直肠癌诊断的标志物和治疗的新靶点。

### 3.3 CircRNAs 与胃癌

Li 等<sup>[33]</sup>利用 CircBase 和 circ2Trait 数据库筛选出目标环状 RNA Hsa\_circ\_002059,采用实时定量 PCR 法在 101 例胃癌组织及其配对正常胃黏膜,36

例配对的手术前后血浆样本中检测 Hsa\_circ\_002059 的表达,结果显示 Hsa\_circ\_002059 在胃癌组织中表达降低,且与远处转移、TNM 分期、性别和年龄相关。Hsa\_circ\_002059 在术后血浆样本中的表达显著低于其手术前的表达。CircPVT1 是另一个新发现的可作为胃癌预后标志物的环状 RNA,circPVT1 在胃癌组织中显著高表达归因于其染色体基因座的扩增,circPVT1 通过海绵吸附 miR-125 家族成员促进胃癌细胞增殖和侵袭,circPVT1 是胃癌患者总生存期和无病生存期的独立预后标志物<sup>[34]</sup>。

### 3.4 CircRNAs 与食管癌

Xia 等<sup>[35]</sup>研究发现 Hsa\_circ\_0067934 在食管鳞状细胞癌组织及细胞系中呈高表达,对 51 例食管鳞状细胞癌组织中 Hsa\_circ\_0067934 的表达进行 qRT-PCR 检测发现,Hsa\_circ\_0067934 在癌组织中表达明显高于远癌正常组织,且与肿瘤分化、T 分期、TNM 分期相关。Hsa\_circ\_0067934 能够促进食管鳞癌细胞系的增殖和侵袭能力,荧光原位杂交结果提示 Hsa\_circ\_0067934 定位于细胞质中。对人食管鳞癌细胞系 KYSE-150 和自身建立的抗放射性的食管鳞癌细胞 KYSE-150 进行 circRNA 微阵列表达谱检测,发现了 3752 个 circRNA,在抗放射性的食管鳞癌细胞 KYSE-150 中有 57 个 circRNA 表达显著上调,17 个 circRNA 表达显著下调。CircRNA\_001059 和 circRNA\_000167 是 circRNA/microRNA 共表达作用网的交叉点<sup>[36]</sup>。Li 等<sup>[37]</sup>用 TaqMan-based RT-PCR 法分析了中国东部和南部 684 例食管鳞状细胞癌及其非癌组织中 cir-ITCH 的表达,结果表明与配对非癌组织相比,circ-ITCH 在食管鳞状细胞癌组织中低表达。进一步分析 cir-ITCH 的功能发现,miR-7、miR-17、miR-214 作为分子海绵会增加 ITCH 的表达水平,ITCH 的高表达会加速磷酸化的 Dvl2 泛素化降解,进一步抑制 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路。

### 3.5 CircRNAs 与乳腺癌

Nair 等<sup>[38]</sup>基于现有的生物信息学方法,创建了一个名为 Circ-Seq 的工作流程用来识别和报道 circRNAs 的表达,第一次采用该方法分析了由 TCGA 提供的 885 例乳腺癌样本包括肿瘤组织和邻近正常组织中 circRNA 的表达情况,结果显示在 TCGA 中雌激素受体阳性(ER+)的正常组织 circRNAs 的数

量较肿瘤组织中多,这一现象也出现在基因组织表达计划的样本中。乳腺癌中雌激素受体阳性(ER+)的正常组织表达的 circRNAs 的数量与增殖基因的复发增殖危险(ROP-P)呈负相关,提示 circRNA 的数量可能是乳腺癌细胞增殖的标志。如前所述,CDR1as 能够通过海绵吸附作用调控 miR-7 靶基因的表达,miR-7 可以直接作用一些与癌症相关信号通路的相关蛋白,FAK 是一个重要的细胞外基质信号通路,细胞流动性,细胞中增殖和生存的调控者,miR-7 可直接调控 FAK,在转移性乳腺癌中 miR-7 表达下调,与肿瘤的上皮分化水平和抑制肿瘤转移的进展密切相关,miR-7 高表达会抑制乳腺癌细胞增殖、克隆形成和侵袭转移能力并抑制其上皮间质转化过程,提示 miR-7/FAK 通路在乳腺癌的发生发展过程中起到重要作用<sup>[39]</sup>。

### 3.6 CircRNAs 与卵巢癌

对 3 例 III C 期上皮卵巢癌患者的原发癌、腹膜转移和淋巴结转移癌进行 circRNA 表达分析,发现在上皮性卵巢癌中有大量环状 RNA 亚型,这些环状 RNA 能够与一些起作用的 miRNA 匹配。在肿瘤的原发灶和转移灶中 circRNAs 比 mRNAs 差异表达更明显,且在肿瘤相关信号通路中环状 RNA 和线性 RNA 表达存在相反的趋势。此外,circRNAs 的稳定性使其比 mRNA 更适合作为高度多样化肿瘤转录本的标志物<sup>[40]</sup>。

## 4 小结与展望

随着研究的不断深入,对 circRNAs 的认识也逐步增多。circRNA 的高稳定性及其在组织中的表达特异性,使其有望成为一种人类肿瘤诊断的新型生物标志物。基于 circRNA 对基因转录和蛋白质翻译的调控作用以及其对肿瘤相关 microRNA 的海绵吸附作用,circRNA 为肿瘤的治疗提供了新的靶点。深入研究 circRNA、microRNA 与肿瘤之间的相互联系,将会为肿瘤患者的诊断、治疗及预后带来新的希望,这也是环状 RNA 领域面临的巨大挑战。

## 参考文献:

- [1] Hsu MT,Coca-Prados M. Electron microscopic evidence for the circular form of RNA in the cytoplasm of eukaryotic cell[J]. Nature,1979,280(5720):339-340.

- [2] Arnberg AC, Van Ommen GJ, Grivell LA, et al. Some yeast mitochondrial RNAs are circular [J]. *Cell*, 1980, 19(2):313-319.
- [3] Cocquerelle C, Mascrez B, Héтуin D, et al. Mis-splicing yields circular RNA molecules [J]. *FASEB J*, 1993, 7(1): 155-160.
- [4] Qu S, Yang X, Li X, et al. Circular RNA: a new star of noncoding RNAs[J]. *Cancer Lett*, 2015, 365(2): 141-148.
- [5] Chen I, Chen CY, Chuang TJ. Biogenesis, identification, and function of exonic circular RNAs[J]. *Wiley Interdiscip Rev RNA*, 2015, 6(5): 563-579.
- [6] Lasda E, Parker R. Circular RNAs: diversity of form and function[J]. *RNA*, 2014, 20(12): 1829-1842.
- [7] Zhang Y, Zhang XO, Chen T, et al. Circular intronic long noncoding RNAs[J]. *Mol Cell*, 2013, 51(6): 792-806.
- [8] 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.
- [9] Huang C, Shan G. What happens at or after transcription: Insights into circRNA biogenesis and function [J]. *Transcription*, 2015, 6(4): 61-64.
- [10] Chen LL, Yang L. Regulation of circRNA biogenesis [J]. *RNA Biol*, 2015, 12(4): 381-388.
- [11] Ashwal-Fluss R, Meyer M, Pamudurti NR, et al. circRNA biogenesis competes with pre-mRNA splicing [J]. *Mol Cell*, 2014, 56(1): 55-66.
- [12] Zhang XO, Wang HB, Zhang Y, et al. Complementary sequence-mediated exon circularization [J]. *Cell*, 2014, 159(1): 134-147.
- [13] Panda AC, Grammatikakis I, Munk R, et al. Emerging roles and context of circular RNAs [J]. *Wiley Interdiscip Rev RNA*, 2016. [Epub ahead of print]
- [14] Daniel C, Lagergren J, Öhman M, et al. RNA editing of non-coding RNA and its role in gene regulation [J]. *Biochimie*, 2015, 117: 22-27.
- [15] 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.
- [16] Hansen TB, Jensen TI, Clausen BH, et al. Natural RNA circles function as efficient microRNA sponges [J]. *Nature*, 2013, 495(7441): 384-388.
- [17] Kumar L, Shamsuzzama, Haque R, et al. Circular RNAs: the emerging class of non-coding RNAs and their potential roles in human neurodegenerative diseases[J]. *Mol Neurobiol*, 2016. [Epub ahead of print]
- [18] Cortés-López M, Miura P. Emerging functions of circular RNAs[J]. *Yale J Biol Med*, 2016, 89(4): 527-537.
- [19] Liu Q, Zhang X, Hu X, et al. Circular RNA Related to the Chondrocyte ECM Regulates MMP13 Expression by Functioning as a MiR-136 'Sponge' in Human Cartilage Degradation[J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 22572.
- [20] Dong Y, He D, Peng Z, et al. Circular RNAs in cancer: an emerging key player[J]. *J Hematol Oncol*, 2017, 10(1): 2.
- [21] Kulcheski FR, Christoff AP, Margis R, et al. Circular RNAs are miRNA sponges and can be used as a new class of biomarker[J]. *J Biotechnol*, 2016, 238: 42-51.
- [22] 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.
- [23] Perriman R, Ares M Jr. Circular mRNA can direct translation of extremely long repeating- sequence proteins in vivo [J]. *RNA*, 1998, 4(9): 1047-1054.
- [24] AbouHaidar MG, Venkataraman S, Golshani A, et al. Novel coding, translation, and gene expression of a replicating covalently closed circular RNA of 220 nt[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111(40): 14542-14547.
- [25] 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(12): e1001233.
- [26] Gao Y, Wang J, Zhao F. CIRI: an efficient and unbiased algorithm for de novo circular RNA identification [J]. *Genome Biol*, 2015, 16: 4.
- [27] Qin M, Liu G, Huo X, et al. Hsa\_circ\_0001649: A circular RNA and potential novel biomarker for hepatocellular carcinoma[J]. *Cancer Biomarker*, 2016, 16(1): 161-169.
- [28] Shang X, Li G, Liu H, et al. Comprehensive Circular RNA Profiling Reveals That hsa\_circ\_0005075, a New Circular RNA Biomarker, Is Involved in Hepatocellular Carcinoma Development[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2016, 95(22): e3811.
- [29] Xu L, Zhang M, Zheng X, et al. The circular RNA ciRS-7 (Cdr1as) acts as a risk factor of hepatic microvascular invasion in hepatocellular carcinoma [J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2016. [Epub ahead of print]
- [30] Guo JN, Li J, Zhu CL, et al. Comprehensive profile of differentially expressed circular RNAs reveals that hsa\_circ\_0000069 is upregulated and promotes cell proliferation, migration, and invasion in colorectal cancer [J]. *Oncotargets Ther*, 2016, 9: 7451-7458.
- [31] 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(18): 26680-26691.
- [32] Wang X, Zhang Y, Huang L, et al. Decreased expression of hsa\_circ\_001988 in colorectal cancer and its clinical significances [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(12): 16020-16025.
- [33] 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.
- [34] 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*, 2016, 388: 208-219.
- [35] Xia W, Qiu M, Chen R, et al. Circular RNA has\_circ\_0067934 is upregulated in esophageal squamous cell carcinoma and promoted proliferation [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 35576.
- [36] Su H, Lin F, Deng X, et al. Profiling and bioinformatics analyses reveal differential circular RNA expression in radioresistant esophageal cancer cells [J]. *J Transl Med*, 2016, 14(1): 225.
- [37] 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(8): 6001-6013.
- [38] Nair AA, Niu N, Tang X, et al. Circular RNAs and their associations with breast cancer subtypes [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(49): 80967-80979.
- [39] Kong X, Li G, Yuan Y, et al. MicroRNA-7 inhibits epithelial-to-mesenchymal transition and metastasis of breast cancer cells via targeting FAK expression [J]. *PLoS One*, 2012, 7(8): e41523.
- [40] Ahmed I, Karedath T, Andrews SS, et al. Altered expression pattern of circular RNAs in primary and metastatic sites of epithelial ovarian carcinoma[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(24): 36366-36381.