

环状 RNA 在肿瘤中的研究进展

刘雨函¹,何安邦^{1,2},廖新惠¹,吕兆洁¹,阳建庚^{1,3},梅红兵^{1,2,3}

(1.深圳市第二人民医院,深圳大学第一附属医院,深圳市泌尿生殖系统肿瘤研究重点实验室,广东 深圳 518000;2.安徽医科大学深圳市第二人民医院临床医学院,广东 深圳 518000;3.广州医科大学深圳市第二人民医院临床医学院,广东 深圳 518000)

摘要:环状 RNA(circular RNA, circRNA) 是一类由 mRNA 3' 及 5' 末端首尾相连形成的无蛋白编码功能的 RNA 分子, 研究发现其可通过调节肿瘤相关基因转录水平及转录后水平来促进肿瘤的发病, 并与肿瘤的转移、预后等显著相关。该文通过总结环状 RNA 在肿瘤中的研究进展, 发现其可通过与 miRNA 的海绵作用以及调控肿瘤信号通路因子的方式在肿瘤的发生发展中发挥相应作用。环状 RNA 在肿瘤发病中作用的具体分子机制研究, 可为肿瘤的预防、早期诊断及精准治疗提供一种全新的理论支持。

关键词:环状 RNA; 肿瘤; 非蛋白编码 RNA; miRNA 海绵作用

中图分类号:R730 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-0242(2017)11-0886-07

doi:10.11735/j.issn.1004-0242.2017.11.A009

Research Progress on Tumor-related Circular RNA

LIU Yu-han¹, HE An-bang^{1,2}, LIAO Xin-hui¹, et al.

(1. Shenzhen Second People's Hospital, The First Affiliated Hospital of Shenzhen University, Key Laboratory of Medical Reprogramming Technology, Shenzhen 518000, China; 2. Clinical Medicine College, Shenzhen Second People's Hospital, Anhui Medical University, Shenzhen 518000, China)

Abstract: Circular RNA (circRNA) is a class of RNA molecules with interlinked 3' and 5' ends, which has no protein-coding function. Studies have indicated that circRNA regulates tumor related gene transcription and post-translational processing to initiate tumorigenesis and progression, it is also associated with tumor metastasis and prognosis. In tumorigenesis and progression circRNA acts as "microRNA sponge" to regulate tumor signal pathways. The study of molecular mechanisms of circRNA in tumorigenesis and progression may provide a novel theoretical basis for prevention, diagnosis and precise therapy of tumor.

Key words: circular RNA; tumor; non-protein-coding RNA; microRNA sponge

20 世纪 70 年代, 环状 RNA(circular RNA, circRNA) 在基因转录中初次被发现, 且被认为是转录本错误剪接的产物^[1]。近年来越来越多的研究发现, 环状 RNA 在真核细胞 RNA 剪接过程中大量生成, 并可作为一种竞争性内源 RNA 在基因表达调控中发挥着重要作用^[2,3]。环状 RNA 上存在大量的 miRNA(miRNA) 结合位点, 能与 miRNA 相互结合, 通过海绵吸附作用对 miRNA 进行抑制, 从而拮抗 miRNA 对致癌基因的抑制作用, 竞争性地与肿瘤相

关的 miRNA 结合以调控肿瘤的发生发展^[4]。目前环状 RNA 已成为 RNA 研究领域的新热点, 尽管证实其在肿瘤的发病中发挥着重要作用, 但具体的分子机制尚不明确。本文就环状 RNA 在肿瘤中的最新研究进展进行综述, 浅析环状 RNA 在肿瘤发生发展中的潜在机制。

1 环状 RNA 简介

1.1 环状 RNA 的形成机制

环状 RNA 是一种新发现的内源性非编码 RNA, 由 3' 和 5' 末端连接起来形成一个特殊的环状

收稿日期: 2017-03-22; 修回日期: 2017-05-02

基金项目: 深圳基础研究项目(JCYJ20150330102720182);

深圳市卫生计生系统科研项目(201506026, 201601025)

通讯作者: 梅红兵, E-mail: hbmei68@163.com

结构^[5-7]。Jeck 等^[3]发现环状 RNA 主要通过两种方式形成:外显子的套索环化方式;内含子的配对环化方式。

1.1.1 外显子套索环化

环状 RNA 由外显子套索环化形成的机制主要有两种^[8]:直接反向剪接(direct back splicing)和外显子跳读(exon skipping)。直接反向剪接是通过外显子上游的 5'头部与外显子下游的 3'尾端配供体的相互配对,最终外显子环化形成环状 RNA;外显子跳读是指内含子跳读形成的套索,随着包含相应的外显子套索内部的拼接,多余的内含子被切除形成环状 RNA。最新研究表明,侧翼内含子与外显子的环化密切相关,即在外显子环化过程中,侧翼内含子与自体内含子相互配对竞争,提高外显子环化过程的效率,这说明环化剪接与线性剪接之间存在竞争,使环状 RNA 在基因调控中发挥重要作用^[9]。

1.1.2 内含子配对环化

内含子有 3 种不同的剪接方式:自我剪接、酶促剪接以及核 mRNA 前体。自我剪接参与内含子配对环化的主要方式有两种。一种是通过外源性鸟苷(exogenous guanosine, exoG)亲核攻击 5'剪接位点与内含子紧密连接,随后 5'外显子被相应切除,5'外显子末端中的 3'羟基基团与 3'剪接位点相互结合,最后以亲核攻击的方式与内含子末端的 2'羟基基团结合形成环状 RNA^[10,11]。另一种则在 3'外显子释放后,内含子末端中的 2'羟基基团与 5'剪接位点构成 2',5'-磷酸二酯键,从而形成环状 RNA^[12,13]。

1.2 环状 RNA 的特征

环状 RNA 具有以下重要特征:①环状 RNA 自身成环,与传统线性 RNA 不同,具有稳定结构,没有游离的 ploy(A)末端,难以被核酸外切酶分解^[14];②具有高度保守性,内含子形成的环状 RNA 是通过 2',5'-磷酸二酯键连接首尾两端,而外显子形成的环状 RNA 则通过 3',5'-磷酸二酯键首尾相连接,这表明特殊的反向剪接具有高度的保守性^[14];③环状 RNA 大多数由外显子形成,少数由内含子环化构成;④具有一定的组织、时空特异性^[6,15,16];⑤环状 RNA 属于竞争性内源 RNA,含有大量 miRNA 结合位点,能与 miRNA 结合,起拮抗作用^[17]。⑥环状 RNA 大多数位于细胞质内,含量丰富,大部分属于非蛋白编码 RNA^[15]。

1.3 环状 RNA 的生物学功能

研究发现,环状 RNA 具有参与转录后调控、与 RNA 结合蛋白结合的功能^[18]。Zhang 等^[8]通过抑制内含子环化的环状 RNA ankrd52 表达,发现 ankrd52mRNA 表达明显减少,表明环状 RNA 可以正向调控其自身基因的表达;还发现这类环状 RNA 主要位于细胞核内,能够正向调控 RNA 聚合酶 II 的转录活性。此外,环状 RNA 还能通过与阿格蛋白(argonaute, AGO)紧密结合,从而调控 mRNA 的转录翻译^[16]。

2 环状 RNA 与肿瘤

既往众多研究表明^[14],环状 RNA 与食管癌、结直肠癌、肝癌、喉癌等肿瘤的发生发展密切相关,已成为当前肿瘤中的研究热点。环状 RNA 在肿瘤中的差异性表达,发挥着癌基因或抑癌基因的作用,且与肿瘤的原发灶、侵袭性、远处转移、分期等密切相关^[19]。总结发现,环状 RNA 可通过以下方式作用于肿瘤:①与 miRNA 分子结合,环状 RNA 通过与 miRNA 相互作用,以“RNA 海绵”的方式去调控 miRNA 的活性,从而影响癌基因的表达。②调节肿瘤的信号传导通路的相关因子来抑制癌基因的表达。

2.1 环状 RNA 与食管癌

ITCH 又称 AIP4(atrophin 1 相互作用蛋白 4),属于包含 4WW 结构域的 Nedd4-like E3 泛素家族^[20]。ITCH 参与人体内多种蛋白质的泛素化降解过程,许多转录调控蛋白被 ITCH 降解后在细胞的生长、分化和凋亡过程发挥作用,从而在肿瘤的形成中发挥作用^[21]。Li 等^[22]发现,在食管鳞癌组织中,cir-ITCH 与泛素蛋白连接酶 E3 具有共表达作用,其表达量与 ITCH 呈正相关,相对于正常癌旁组织表达明显下调。另外 cir-ITCH 与 ITCH、UTR (untranslated regions) 有共同的 miRNA 结合位点,通过与 microRNA-7(miR-7)、microRNA-17 以及 microRNA-214 分子海绵的结合来增强 ITCH 的表达,而 ITCH 则通过泛素化降解磷酸化的 DVL2(Dishevelled 2)抑制 Wnt 信号通路进而抑制细胞的增殖和肿瘤的生长。由此说明 cir-ITCH 作为 miRNA 的分子海绵,通过其 miRNA 海绵作用来上调靶基因 ITCH 的表达,进而抑制食管鳞状细胞癌发生。此外,Su 等^[23]在食管癌

细胞 KYSE-150 与诱导放射抗性株 KYSE-150R 细胞中对表达差异的环状 RNA 进行筛选,发现了 57 种高表达的环状 RNA 和 17 种低表达的环状 RNA,其中选取了 9 种环状 RNA 进行 qPCR(quantitative PCR)鉴定,通过 KEGG(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes)和 GO(Geneontology)通路分析以及 miRNA binding 分析,认为 circRNA_001059 对 miRNAs(miR-30c-1, miR-30c-2, miR-122, miR-139-3p, miR-339-5p 以及 miR-1912) 的抑制作用最明显,同时发现在食管癌细胞 KYSE-150 的放射抗性影响下, circRNA_001059 和 circRNA_000167 对 miRNA 的作用网络最多,以上说明大多数环状 RNA 在食管癌细胞中高表达,并可以通过 miRNA 的分子海绵作用调节 Wnt 信号传导通路进而抑制食管癌细胞的增殖。

2.2 环状 RNA 与结直肠癌

在结直肠癌中, Xie 等^[24]发现,与正常癌旁组织相比, hsa_circ_001569 在结直肠癌组织中高表达,通过体外细胞实验证实,结直肠癌细胞的增殖及侵袭能力随着 hsa_circ_001569 表达下调而显著降低,进一步研究发现 hsa_circ_001569 是 microRNA-145(miR-145)的海绵,通过吸附 miR-145,使 miR-145 的靶基因 *E2F5*、*BAG4*、*FMNL2* 高表达,从而促进肿瘤细胞的增殖及侵袭能力^[25]。结果证明 circ_001569 对 miR-145 的表达无明显影响,只是通过影响其靶基因功能来发挥作用。研究还发现在肿瘤组织中某些环状 RNA 与线性 RNA(circ6229/METTL3; circ0817/CUL5; circ3204/USP3; circ7374/TNS4) 的比值相较于正常组织明显降低,而在结直肠癌细胞株中则更低^[26]。此外,邵婧娴等^[27]通过基因芯片筛选出结直肠肿瘤环状 RNA 表达谱变化。结果表明,有超过 892 条环状 RNA 有差异表达,其中 412 条高表达,480 条低表达。通过数据预测分析,20 条环状 RNA 与 miR-34 存在结合位点,15 条环状 RNA 与 miR-145 存在结合位点,其中, hsa_circ_0000072 在癌组织与癌旁组织的表达差异最为显著,可能通过吸附 miR-145,调控 miR-145 靶基因表达来发挥作用。Huang 等^[28]还发现 circ-ITCH 可通过抑制 Wnt/ β -catenin 信号传导通路抑制结直肠癌细胞的增殖,他们构建了 β -catenin/TCF 应答萤火虫荧光素酶报告系统,在过表达 circ-ITCH 情况下,检测 Wnt 信号通路中 β -

catenin 的活性,结果表明 Wnt 信号通路在过表达 circ-ITCH 后明显被抑制, β -catenin 在 circ-ITCH 过表达后随之下调, Wnt3a 无明显影响, Wnt 通路下游的关键基因 *cyclinD1* 和 *c-myc* 表达水平也相应下调。以上这些表明,结直肠癌细胞的增殖能力与环状 RNA 的丰富度以及信号传导通路中关键基因的表达密切相关。

2.3 环状 RNA 与肝癌

CDR1as(cerebellar degeneration-related protein 1 transcript)是生物体细胞中最早被证实存在有生物学功能的环状 RNA,同时作为 miRNA“海绵分子”在转录后基因调控中发挥重大作用^[29]。miR-7 通过多种方式参与肝癌的发生发展,逐渐成为肝癌发生机制的研究热点。研究证实, miR-7 能够抑制 EGFR(epidermal growth factor receptor) mRNA 与蛋白的表达以及下游分子 Akt(又称 PKB, protein kinase B)和 ERK1/2(extracellular regulated protein kinases complex)的活性,阻滞肝癌细胞的生长周期和减弱细胞迁移能力,参与肝癌的发生发展^[30,31]。Fang 等^[32]在肿瘤移植动物模型中发现 miR-7 在肝癌细胞中持续稳定高表达,通过靶定 *mTOR*(mechanistic target of rapamycin)、*PIK3CD*(Phosphoinositide 3-kinase catalytic subunit delta)、*p70S6K* 基因来有效地调控 PI3K(phosphatidylinositol 3 kinase, PI3K)/Akt/mTOR 信号通路,在肝癌形成和癌肿转移方面发挥关键作用。Zhang 等^[33]发现 miR-7 通过靶定并降解 *CCNE-1* 基因来拮抗 *CCNE-1* 基因的功能,从而抑制肝癌细胞的增殖。Yu 等^[30]研究发现 CDR1as 可作为一种竞争性内源 RNA,通过与 miR-7 相互结合,可促进肿瘤的侵袭、迁移以及间质转化等能力。Shang 等^[34]发现,相比于正常癌旁组织,3 种环状 RNA(hsa_circ_0000520, hsa_circ_0005075 和 hsa_circ_0066444) 在肝癌组织表达显著上调。进一步分析 hsa_circ_0005075 可作为 miRNA 海绵,通过吸附 miR-23b-5p, miR-93-3p, miR-581 和 miR-23a-5p 等来发挥其作用。Qin 等^[35]通过实时定量逆转录—聚合酶链式反应(quantitative real-time PCR, qRT-PCR)发现了 hsa_circ_0001649 在肝细胞癌中的低表达情况。以上说明,多数环状 RNA 在肝癌中是高表达的,可以通过与 miR-7 结合的方式在肝癌中发挥重要的调控作用。

2.4 环状 RNA 与喉癌

在喉鳞状细胞癌中,Xuan 等^[36]利用微阵列分析发现,698 条环状 RNA 在肿瘤组织中具有差异性表达,其中 hsa_circRNA_100855 和 hsa_circRNA_104912 的变化最为显著。hsa_circRNA_100855 在喉癌组织中高表达,hsa_circRNA_104912 在喉癌组织中低表达。且 hsa_circRNA_100855 表达与肿瘤的分期、淋巴结转移、原发灶的部位、临床分期密切相关。在 T_{3,4} 期、伴有淋巴转移、声门上癌以及晚期临床阶段的喉癌中,hsa_circRNA_100855 表达显著上调。而 hsa_circRNA_104912 表达除了与肿瘤的分期、淋巴结转移、临床分期相关之外,还与肿瘤分化程度密切相关。在 T_{3,4} 期、伴有淋巴转移、低分化癌以及晚期临床阶段的喉癌中,hsa_circRNA_104912 表达水平显著降低。这些表明环状 RNA 在喉鳞状细胞癌的发生机制中发挥着一定的作用,但仍需进一步探究。

2.5 环状 RNA 与膀胱癌

Zhong 等^[37]在膀胱癌组织和癌旁组织中选取了 4 例样本,基于高通量筛选技术,筛选出大量具有差异表达的环状 RNA,通过 miRanda 和 TargetScan 数据库进行分析,发现共 643 种 miRNAs 可能与这些环状 RNA 有关联,选取了其中变化最显著的 6 种环状 RNA 在 40 例样本中进行验证,结果证实这些环状 RNA 在癌组织中表达的趋势变化非常明显,与正常癌旁组织相比,circ-TRIM24 (hsa_circ_0082582)和 circFAM169A(hsa_circ_0007158)在膀胱癌组织中显著下调,circBC048201 (hsa_circ_0061265)、circPTK2 (hsa_circ_0005273)、circZFR (hsa_circ_0072088)以及 circTCF25(hsa_circ_0041103)则显著上调。研究人员针对这些具有显著差异表达的环状 RNA 及其对应的 miRNAs 进行 DIANA-miRPath 通路分析,发现 circTCF25 与肿瘤信号通路相关的可能性最大,它包含 miR-107 和 miR-103a-3p 的结合位点,这两种 miRNAs 与肿瘤信号通路密切相关^[38]。通过 DIANA-miRPath 通路分析表明,circTCF25-miR-103a-3p/miR-107 与 13 种基因关系密切,在细胞周期调控因子 CCNE1 和 CDK6 的作用下,它们在膀胱癌细胞的增殖和迁移中发挥了重要作用。根据这些通路分析,研究者认为 circTCF25 对 miR-103a-3p 或 miR-107 具有明显抑制作用,能够促进 CDK6 的正向调控功

能,从而提高癌细胞的增殖能力。为了验证 miR-107、miR-103a-3p 以及 CDK6 蛋白的表达情况,研究者在膀胱癌 T24 和 EJ 细胞中过表达 circTCF25,结果证实过表达 circTCF25 可显著降低 miR-107 和 miR-103a-3p 的表达含量,明显提高 CDK6 的蛋白含量。通过对环状 RNA 在膀胱癌中的表达情况的探讨,发现了 circTCF25-miR-103a-3p/miR-107-CDK6 通路在膀胱癌中发挥的重要作用。

2.6 环状 RNA 与白血病

Guamerio 等^[39]研究发现肿瘤的起源与基因组发生染色体易位和重排现象密切相关,染色体这种易位和重排的非正常现象导致无关基因发生基因重组,融合 mRNA 最终被转录翻译成融合蛋白,此外,在基因重组过程中较远端的内含子序列与其相近的反向重复互补序列会发生反向剪接,形成融合的环状 RNA^[40]。在急性早幼粒白血病患者中 RAR α 基因和 PML 基因发生重排融合的现象非常常见^[41,42],将急性白血病患者中的骨髓源性细胞与正常人对照提取 RNA 进行 PCR 测序,结果证实了融合环状 RNA (f-circRNA)的存在。为了验证 f-circRNA 在白血病的功能特点,研究者在小鼠胚胎成纤维细胞(mouse embryonic fibroblasts,MEFs)上构建 f-circRNA 逆转录病毒载体进行转染,让细胞增殖和克隆,结果显示 f-circRNA 可以提高 MEFs 细胞增殖和克隆的能力,同时降低了细胞间的接触抑制能力。与此同时,研究者利用体外甲基纤维素技术在非致死剂量小鼠中植入过表达 f-circM9 的造血干细胞(hematopoietic stem cells,HSCs),结果显示没有 1 例小鼠诱发形成白血病。据此推测融合环状 RNA f-circM9 单因素不足以导致白血病发生。此外,实验表明在 f-circRNA 形成过程中还伴有融合蛋白的生成,两者可能起协同作用。为了验证这一作用,研究者通过转染含有 MLL/AF9 的 cDNA 序列逆转录病毒载体,在非致死剂量小鼠体内移植过表达 MLL/AF9 融合蛋白的造血干细胞,2 个月后,结果表明 MLL/AF9 融合蛋白可以促使小鼠白血病的发生^[43]。综上所述,融合环状 RNA (f-circRNA)可协同融合蛋白导致白血病的发生。

2.7 环状 RNA 与其他肿瘤

在基底细胞癌中,Sand 等^[44]发现了具有差异表达的环状 RNA,以及相应的 MREs(miRNA response

elements), 研究者利用基因芯片和 qRT-PCR 的方法对基底细胞癌中环状 RNA 表达水平进行验证, 找到了 23 种高表达和 48 种低表达的环状 RNA, 以及环状 RNA 上 354 个可结合 miRNA 序列的结合位点。表明环状 RNA 在基底细胞癌发病机制中发挥重要作用。另外 Li 等^[45]发现, 相较于正常癌旁组织, hsa_circ_002059 在胃癌组织中表达显著降低, 且其表达量与肿瘤淋巴结转移及远处转移密切相关。

研究表明 CDR1as 是一种含有超过 60 个 miRNA 结合位点的环状 RNA, 可通过扮演 miRNA 海绵角色来调控 miRNA 靶基因的表达^[30]。既往研究证实, miR-7 通过靶定 EGFR 信号通路上的基因参与头颈部肿瘤、肺癌、乳腺癌及卵巢癌的发生发展^[46,47]。研究发现, 在肺癌和颈部肿瘤细胞中, miR-7 具有靶定作用, 通过下调抗凋亡基因 *Bcl-2* 和 *XIAP* 的表达, 导致肿瘤细胞的增殖减少和细胞凋亡增加, 从而抑制体内肺癌和颈部肿瘤的生长^[48,49]。在乳腺癌低侵袭表型与高侵袭表型转化过程中, Pak1 蛋白水平逐渐上移, 而 miR-7 及 HOXD10 (HomeoboxD10) 逐渐下移。在高侵袭乳腺癌细胞中, miR-7 可抑制其增殖潜能、侵袭性及致瘤活性, 表明在乳腺癌发生过程中 miR-7/Pak1 通路具有重要的作用^[47]。在舌鳞状细胞癌中 miR-7 靶定 IGF1R (insulin-like growth factor 1 receptor)、下游分子 IRS-2 (insulin receptor substrate2) 以及 PAK1, 导致细胞增殖抑制、细胞生长停滞以及细胞凋亡的比例增加^[50]。在神经母细胞瘤及星形细胞瘤中也发现 miR-7 广泛表达, 这表明在神经细胞转化中, CDR1as 是低表达的, 然而在表达形式上却有显著的差异, 在 N 型神经母细胞瘤细胞中, CDR1as 是高表达的; 而在基材黏接 S 型的神经母细胞瘤中, 它却是低表达的^[51]。据此, CDR1as 通过 miR-7 在肿瘤的发生中发挥着重要的生物学效应, 在充当肿瘤未来的临床分子诊断物上, 具有重要的研究意义。

3 结 语

截至目前, 肿瘤分子机制研究表明基因遗传学参与了肿瘤的发生发展, 并与肿瘤生物学行为密切相关, 而近年环状 RNA 又是基因遗传学的一重大发现, 且众多研究发现环状 RNA 在肿瘤中具有显著的

差异表达, 可通过多种方式影响肿瘤的发生发展。通过总结发现环状 RNA 在大多数肿瘤中高表达, 并且可以稳定地结合 miRNA, 抑制其特定的活性, 此外, 环状 RNA 高度的组织特异性和稳定性有可能使环状 RNA 成为潜在的肿瘤标志物。随着环状 RNA 在肿瘤中的深入研究, 其作用机制也不断被发现和探究, 可进一步从基因遗传学角度阐明肿瘤发生发展的分子机制, 若能发现环状 RNA 与肿瘤高度关联的证据, 肿瘤的早期诊断及精准治疗将成为可能。

参考文献:

- [1] Enuka Y, Lauriola M, Feldman ME, et al. Circular RNAs are long-lived and display only minimal early alterations in response to a growth factor [J]. *Nucleic Acids Res*, 2016, 44(3): 1370–1383.
- [2] Hansen TB, Kjems J, Damgaard CK. Circular RNA and miR-7 in cancer [J]. *Cancer Res*, 2013, 73(18): 5609–5612.
- [3] 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.
- [4] Zheng Q, Bao C, Guo W, et al. Circular RNA profiling reveals an abundant circHIPK3 that regulates cell growth by sponging multiple miRNAs [J]. *Nat Commun*, 2016, 7: 11215.
- [5] Chen LL, Yang L. Regulation of circRNA biogenesis [J]. *RNA Biol*, 2015, 12(4): 381–388.
- [6] 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.
- [7] Hsu MT, Coca-Prados M. Electron microscopic evidence for the circular form of RNA in the cytoplasm of eukaryotic cells [J]. *Nature*, 1979, 280(5720): 339–340.
- [8] Zhang XO, Wang HB, Zhang Y, et al. Complementary sequence-mediated exon circularization [J]. *Cell*, 2014, 159(1): 134–147.
- [9] Wang Y, Wang Z. Efficient backsplicing produces translatable circular mRNAs [J]. *RNA*, 2015, 21(2): 172–179.
- [10] Cech TR. Self-splicing of group I introns [J]. *Annu Rev Biochem*, 1990, 59: 543–568.
- [11] Brehm SL, Cech TR. Fate of an intervening sequence ribonucleic acid: excision and cyclization of the tetrahymena ribosomal ribonucleic acid intervening sequence in vivo [J]. *Biochemistry*, 1983, 22(10): 2390–2397.
- [12] Li-Pook-Than J, Bonen L. Multiple physical forms of ex-

- cised group II intron RNAs in wheat mitochondria[J]. *Nucleic Acids Res*,2006,34(9):2782–2790.
- [13] Molina-Sanchez MD,Martinez-Abarca F,Toro N. Excision of the Sinorhizobium meliloti group II intron RmInt1 as circles in vivo[J]. *J Biol Chem*,2006,281(39):28737–28744.
- [14] Jeck WR,Sharpless NE. Detecting and characterizing circular RNAs[J]. *Nat Biotechnol*,2014,32(5):453–461.
- [15] 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.
- [16] 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.
- [17] Thomas LF,Saetrom P. Circular RNAs are depleted of polymorphisms at microRNA binding sites[J]. *Bioinformatics*,2014,30(16):2243–2246.
- [18] Dang Y,Yan L,Hu B,et al. Tracing the expression of circular RNAs in human pre-implantation embryos [J]. *Genome Biol*,2016,17(1):130.
- [19] Li Y,Zheng Q,Bao C,et al. Circular RNA is enriched and stable in exosomes:a promising biomarker for cancer diagnosis[J]. *Cell Res*,2015,25(8):981–984.
- [20] Tang B,Bao RN,Wang JK,et al. The ubiquitin protein ligase ITCH biological activity and its immunomodulatory effects [J]. *Current Immunology*,2011,4:344–347.[唐冰,包娜仁,王俊科. 泛素蛋白连接酶 Itch 生物活性及其免疫调节作用[J]. *现代免疫学*,2011,4:344–347.]
- [21] Tao F,Zhou Y,Zhu J,et al. ITCH function and its relationship with disease [J]. *Medical Recapitulate*,2012,24:4110–4113.[陶峰,周颖,朱靖,等. ITCH 的功能及其与疾病的关系[J]. *医学综述*,2012,24:4110–4113.]
- [22] 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.
- [23] 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.
- [24] 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.
- [25] Zhang N,Li X,Wu CW,et al. MicroRNA-7 is a novel inhibitor of YY1 contributing to colorectal tumorigenesis[J]. *Oncogene*,2013,32(42):5078–5088.
- [26] Bachmayr-Heyda A,Reiner AT,Auer K,et al. Correlation of circular RNA abundance with proliferation—exemplified with colorectal and ovarian cancer,idiopathic lung fibrosis,and normal human tissues[J]. *Sci Rep*,2015,5:8057.
- [27] Shao JX,Zhu LQ,Ma JJ,et al. Expression profile of circular RNA in colorectal cancer[J]. *Acta Universitatis Medicinalis Nanjing*,2015,11:1542–1546.[邵婧娴,朱利芹,马晶晶,等. 结直肠癌特征性环状 RNA 筛选[J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*,2015,11:1542–1546.]
- [28] Huang G,Zhu H,Shi Y,et al. cir-ITCH plays an inhibitory role in colorectal cancer by regulating the Wnt/beta-catenin pathway[J]. *PLoS One*,2015,10(6):e0131225.
- [29] Geng HH,Li R,Su YM,et al. The circular RNA Cdr1as promotes myocardial infarction by mediating the regulation of mir-7a on its target genes expression [J]. *PLoS One*,2016,11(3):e0151753.
- [30] Yu L,Gong X,Sun L,et al. The circular RNA Cdr1as act as an oncogene in hepatocellular carcinoma through targeting miR-7 expression [J]. *PLoS One*,2016,11(7): e0158347.
- [31] Peng L,Yuan XQ,Li GC. The emerging landscape of circular RNA ciRS-7 in cancer [J]. *Oncol Rep*,2015,33(6):2669–2674.
- [32] Fang Y,Xue JL,Shen Q,et al. MicroRNA-7 inhibits tumor growth and metastasis by targeting the phosphoinositide 3-kinase/Akt pathway in hepatocellular carcinoma[J]. *Hepatology*,2012,55(6):1852–1862.
- [33] Zhang X,Hu S,Zhang X,et al. MicroRNA-7 arrests cell cycle in G₁ phase by directly targeting CCNE1 in human hepatocellular carcinoma cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*,2014,443(3):1078–1084.
- [34] 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.
- [35] Qin M,Liu G,Huo X,et al. Hsa_circ_0001649:a circular RNA and potential novel biomarker for hepatocellular carcinoma[J]. *Cancer Biomark*,2016,16(1):161–169.
- [36] Xuan L,Qu L,Zhou H,et al. Circular RNA;a novel biomarker for progressive laryngeal cancer[J]. *Am J Transl Res*,2016,8(2):932–939.
- [37] 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*,2016,6:30919.
- [38] Hansen TB,Wiklund ED,Bramsens JB,et al. MiRNA-de-

- pendent gene silencing involving Ago2-mediated cleavage of a circular antisense RNA [J]. *EMBO J*, 2011, 30(21): 4414–4422.
- [39] Guarnerio J, Bezzi M, Jeong JC, et al. Oncogenic role of fusion-circRNAs derived from cancer-associated chromosomal translocations[J]. *Cell*, 2016, 165(2): 289–302.
- [40] Ashwal-Fluss R, Meyer M, Pamudurti NR, et al. CircRNA biogenesis competes with pre-mRNA splicing[J]. *Mol Cell*, 2014, 56(1): 55–66.
- [41] Dekking EH, van der Velden VH, Varro R, et al. Flow cytometric immunobead assay for fast and easy detection of PML-RARA fusion proteins for the diagnosis of acute promyelocytic leukemia[J]. *Leukemia*, 2012, 26(9): 1976–1985.
- [42] Dos Santos GA, Kats L, Pandolfi PP. Synergy against PML-RARA: targeting transcription, proteolysis, differentiation, and self-renewal in acute promyelocytic leukemia[J]. *J Exp Med*, 2013, 210(13): 2793–2802.
- [43] Krivtsov AV, Armstrong SA. MLL translocations, histone modifications and leukaemia stem-cell development[J]. *Nat Rev Cancer*, 2007, 7(11): 823–833.
- [44] Sand M, Bechara FG, Sand D, et al. Circular RNA expression in basal cell carcinoma [J]. *Epigenomics*, 2016, 8(5): 619–632.
- [45] 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.
- [46] Reddy SD, Ohshiro K, Rayala SK, et al. MicroRNA-7, a homeobox D10 target, inhibits p21-activated kinase 1 and regulates its functions[J]. *Cancer Res*, 2008, 68(20): 8195–8200.
- [47] 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.
- [48] Chou YT, Lin HH, Lien YC, et al. EGFR promotes lung tumorigenesis by activating miR-7 through a Ras/ERK/Myc pathway that targets the Ets2 transcriptional repressor ERF[J]. *Cancer Res*, 2010, 70(21): 8822–8831.
- [49] Xiong S, Zheng Y, Jiang P, et al. MicroRNA-7 inhibits the growth of human non-small cell lung cancer A549 cells through targeting BCL-2[J]. *Int J Biol Sci*, 2011, 7(6): 805–814.
- [50] Jiang L, Liu X, Chen Z, et al. MicroRNA-7 targets IGF1R (insulin-like growth factor 1 receptor) in tongue squamous cell carcinoma cells[J]. *Biochem J*, 2010, 432(1): 199–205.
- [51] Dropcho EJ, Chen YT, Posner JB, et al. Cloning of a brain protein identified by autoantibodies from a patient with paraneoplastic cerebellar degeneration [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1987, 84(13): 4552–4556.

作者/通讯作者校对文稿须知

作者/通讯作者自校拟发排校样稿,是期刊出版工作中不可缺少的重要环节,也是确保期刊质量的重要手段。特此重申,请作者/通讯作者务必按以下要求进行校对:

1. 首先全面校对全文,对编辑提出的校样稿中需特别注意校对及需补充的内容,必须予以改正或解释。
2. 所有需修改和补充的内容,均请用红笔将正确的字符书写清楚(避免使用不规范的汉字);必须改动的字符,直接在校样稿的空白处写出,所增删字数最好相符。
3. 文题、作者、单位名称、邮政编码、通讯作者等信息,务必确认无误。
4. 对正文文字(包括外文字母及大小写)、标点符号、数据、图表、计量单位、参考文献等应认真细致逐一校对;请用规范的通用药品名称(不用商品名)和医学名词,认真核查并使用标准计量单位及药物剂量。
5. 参考文献缺项的部分,应按本刊规定的著录格式进行补充。请作者务必认真核实所引用文献是否正确,并核查正文中角码是否与文后所列参考文献序号对应。
6. 校对完毕请作者/通讯作者签名,并在规定的日期内将校样稿寄回编辑部。如有要求补充的资料,也需一并寄回。
7. 由于出版周期的限制,如作者/通讯作者不能在规定时间内校对寄回,请及时联系本刊编辑部说明原因,否则可能造成该文稿延期出版,或者取消刊发。

《中国肿瘤》编辑部