

环状 RNA 的研究进展

张滢月¹ 马月辉² 赵倩君¹

(中国农业科学院北京畜牧兽医研究所, 北京 100193)

摘要: 环状 RNA (Circular RNA, circRNA) 是一类具有闭合环状结构的内源性非编码 RNA (noncoding RNA, ncRNA), 主要由前体 RNA (pre-mRNA) 通过可变剪切加工产生, circRNA 广泛存在于所有真核生物中, 并且非常稳定。目前, circRNA 的研究已经成为了 RNA 研究领域的新热点, 研究发现 circRNA 在转录本中占有相当大的比例, 有的表达丰度甚至显著高于其他转录本。同时, circRNA 对基因的表达有重要调控作用, 在生物的发育进程中发挥了重要的生物学功能, 如充当 miRNA 海绵、作为内源性 RNA 以及生物标记物, 在疾病的诊断与治疗中也发挥重要作用。研究发现 circRNA 在一些疾病的发生中扮演了重要角色, 包括动脉硬化、神经系统紊乱、糖尿病和癌症的发生。综述了 circRNA 的研究进展, 阐述了 circRNA 的研究历史、circRNA 的特点、形成过程、表达情况、circRNA 与疾病间的关系以及 circRNA 的功能, 并讨论了 circRNA 的研究意义及存在的问题。

关键词: 环状 RNA; 非编码 RNA; 可变剪切; RNA 测序; 生物功能; 表达机制

DOI: 10.13560/j.cnki.biotech.bull.1985.2017-0009

Study Progress on Circular RNA

ZHANG Ying-yue¹ MA Yue-hui² ZHAO Qian-jun¹

(Institute of Animal Science, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193)

Abstract: Circular RNA (circRNA) is a novel class of endogenous non-coding RNAs (ncRNA) with closed loop structure and is formed by alternative splicing from a precursor RNA (pre-mRNA). Prior studies have discovered that circRNA widely and very stably exists in all eukaryotes. At present, the research of circRNA has become a new hotspot in the field of RNA research. It is found that circRNA accounts for a large proportion in transcripts, and some of the expressions are even higher than other transcripts. CircRNA plays a regulating role in gene expression, and an essential role in the process of biological development, such as miRNA sponges, endogenous RNAs and biomarkers, as well as critical role in the diagnosis and treatment of diseases. Some studies have revealed that circRNAs play key roles in the development of some diseases, including atherosclerosis, nerve system disorders, diabetes and cancers. In this paper, we review the research progress of circular RNA, including the characteristics of circRNA, the formation process, the expression, the relationship between circRNA and disease, as well as the function of circRNA. Moreover, we discuss the significance and existing problems in studying circRNA.

Key words: circRNA; non-coding RNA; alternative splicing; RNA sequencing; biological function; expression mechanism

环状 RNA (circular RNA, circRNA) 呈闭合环状, 是一类不具有 5' 末端帽子和 3' 末端尾巴的特殊内源性非编码 RNA, 主要由外显子转录产物组成, 是目前 RNA 研究领域的新热点。circRNA 普遍存在于人、鼠、线虫、猕猴、果蝇、枪棘鱼等各类动物体内。研究发现 circRNA 在转录本中实际上所占比例相当

大, 一些基因的 circRNA 表达量至少是其线性转录本的 10 倍^[1]。近年来的研究显示, circRNA 在生物的发育进程中发挥了重要的生物学功能, 同时对于基因表达也具有重要调控作用, 包括对其亲本基因及与之结合 miRNA 的靶基因调控。环状 RNA 在生物体内非常稳定, 在疾病的发生与发展过程中也扮

收稿日期: 2017-01-16

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31201765), 中国农业科学院科技创新工程 (ASTIP-IAS01)

作者简介: 张滢月, 女, 硕士研究生, 主要从事动物遗传资源分子评价; E-mail: 305856679@qq.com

通讯作者: 赵倩君, 副研究员, 研究方向: 动物种质资源; E-mail: zhaoqianjun@caas.cn

演着重要角色, 这使 circRNA 的研究具有重大意义。虽然对 circRNA 的研究起步较晚, 但该研究方向发展非常迅速。

1 环状 RNA 的特征

目前已鉴定的 circRNA 主要有以下特征: (1) circRNA 存在于多种真核生物中, 在同种生物的不同组织中也广泛存在^[2-9]。它们在人体细胞中广泛表达, 有些 circRNA 的表达水平甚至超过其线性异构体 10 倍之多^[1, 10]; (2) 多数具有高度保守序列^[1, 10], 仅少数在进化上不保守^[11]; (3) 大多数定位于细胞质中, 少数定位于细胞核内^[11]; (4) 多由一个或多个外显子形成, 少数来源于内含子或内含子片段; (5) 大部分是非编码 RNA (noncoding RNA, ncRNA); (6) circRNA 呈闭合环状结构, 不具有像线性 RNA 的 5' 和 3' 游离末端, 不易被 RNA 核糖核酸酶 R (Ribonuclease R, RNase R) 分解, 与线性 RNA 相比更稳定^[11]。环状 RNA 的半衰期一般超过 48 h, 可利用 RNase R 消化其他 RNA, 提纯 circRNA^[12]。因此 RNase R 的处理对 circRNA 起富集作用, 并成为判定 RNA 是否成环的一个重要条件。有研究怀疑有少部分 circRNA 对 RNase R 敏感^[13], 还有待证实; (7) 部分 circRNA 拥有 miRNA 应答元件 (miRNA response element, MRE), 具有 miRNA sponge 功能, 与 miRNA 相互作用, 调控靶基因的表达^[14]; (8) 大多数 circRNA 能在转录或转录后水平发挥调控作用, 少数能在转录水平发挥作用。

2 环状 RNA 的发现

1976 年, Sanger 等^[2]利用电镜首先在植物感染的类病毒 (Viroids) 中发现了这些以共价键形成的闭合环状单链 RNA 分子, 它们具有高度的热稳定性。1990 年, 首次在真菌细胞中发现其踪迹, Matsumoto 等^[3]在酿酒酵母中发现 20S RNA 没有自由的 5' 端和 3' 端, 通过电镜观察发现, 这也是呈环形的 RNA 分子。随后发现从肿瘤抑制基因 *DCC*、人 *Ets-1* 基因以及小鼠 *Sry* 基因中转录而来的环状 RNA^[4-7]。尽管在真核细胞中早已发现了 circRNA 的存在, 但却被视为一种由外显子转录本发生剪接错误而未能引起科学家的关注^[15]。

随着 RNA 测序 (RNA sequencing, RNA-seq)

技术的发展及生物信息技术的更新和完善, 为研究 circRNA 提供了有力手段, 使生物学家们累积了大量的 RNA 序列数据, 其中一些来自无尾巴的 RNA, 于是 circRNA 的研究被带回到了前沿, 成为研究的新热点^[1]。近年来, 科学家们陆续在哺乳动物中发现了大量内源性、保守且稳定的 circRNA, 在动物 (人、小鼠、果蝇、线虫、斑马鱼等)、植物 (拟南芥)、真菌 (酿酒酵母等)、原生生物 (疟原虫等) 中的 circRNA 存在明显的差异^[9]。2012 年, Danan 等^[8]在古细菌中发现 circRNA 大量存在并具有一定的生物学功能, 且具有很高的保守性。

3 环状 RNA 的形成

circRNA 通常由一个以上外显子构成, 简单来说就是以“头对尾”的方式, 由前体 RNA (pre-mRNA) 通过特殊的选择性剪切产生^[16], 并大量存在于真核细胞的细胞质中。与一般线性 RNA 的经典剪切方式不同, circRNA 环状结构的形成方式是多样的^[14]。基于大量的 RNA 序列数据累积及后期生物信息分析、试验分析验证, 学者发现 circRNA 形成包括套索驱动环化、内含子驱动环化、内含子自身环化以及由 RBP 引起的类似内含子自身环化 4 种方式。

2013 年, Jeck 等^[1]提出了 circRNA 发生的两种模型: 套索驱动的环化 (Lariat-driven circularization) 和内含子配对驱动的环化 (Intron-pairing-driven circularization)。套索驱动的环化与线性 pre-mRNA 的正向剪接相反, 是指在可变剪切过程中, 外显子跳跃 (Exon skipping), 前体 RNA (Pre-mRNA) 的下游外显子 SD 的 3' 剪接供体 (Splice donor) 连接到上游外显子 SA 的 5' 剪接受体 (Splice acceptor), 形成套索结构, 套索结构拉近了剪切位点, 随后切除内含子, 促进了序列成环。环化外显子 RNA (Circular exonic RNA) 主要存在于细胞质中, 由前体 RNA (pre-mRNA) 索尾插接产生^[17]。第二个模型是内含子配对驱动的环化, 即依赖 pre-mRNA 中临近的两个内含子反向互补配对序列碱基配对形成环状套索, 拉近剪切位点, 进而切除内含子, 促进序列成环。它们生成的第一步是不同的: 套索驱动的环化由外显子组成的剪接供体和剪接受体共价结合, 而内含子配对驱动的环化则由两个内含子互补配对结合,

从而形成环化结构。在接下来的步骤中,这两种模型的过程基本一致,即剪接体(Spliceosome)切除剩余内含子形成 circRNA。随后陆续发现,反向重复序列 Alu (IRAlu) 对外显子剪接和环状 RNA 的形成起重要作用^[17-25]。

有研究在人源胚胎干细胞 H9 中发现了近万条环形 RNA^[17],并首次证明了内含子 RNA 互补序列介导的外显子环化,证实外显子环化依赖于两侧的内含子互补序列,为内含子配对驱动中环化模型提供了有利证据;还发现不同区域间内含子互补序列的竞争性配对,可以选择性的产生线性 RNA 或是环形 RNA。同时,在人类基因组内含子蕴含着大量的互补序列,这些互补序列的选择配对及其动态调控使得同一个基因可产生多个环形 RNA,这种现象可被称为可变环化(Alternative circularization);有研究通过对大量 circRNA 的两端序列进行研究,发现 circRNA 的生成依赖 5' 端剪切位点的 7 bp 和 3' 端剪切位点的 11 bp 核心保守序列,揭示了内含子也是 circRNA 来源之一^[11]。

内含子环化是指内含子独立环化形成环状内含子 RNA (Circular intronic RNA, ciRNA),其主要存在于某些组织的细胞核中,含有临近 5' 剪接位点的 7 个核苷酸 C 富集元件,具有少量的 miRNA 靶点^[11]。Li 等^[26]发现外显子-内含子环状 RNA (Exon-intron circRNA or EiciRNA),即在环化外显子中间保留有内含子,但其发生机制尚未明确。

另外, RNA 结合蛋白(RBPs)也调节了环状 RNA 的形成,研究发现,在人类上皮间质转化过程中存在数以百计的 circRNA,并且这些 circRNA 中超过 1/3 受到选择性剪切因子 QKI 的动态调节。其对 circRNA 丰度的影响是基于内含子区 QKI 的结合位点。而且,增加 QKI 的结合位点能够有效促进转录物中 circRNA 的形成,说明 circRNA 的合成受到一些细胞特异性机制的调节,揭示了在上皮间质转化过程中 circRNA 具有特异性的生物功能^[23, 27]。

4 环状 RNA 的表达

研究发现,传统上认为只表达 mRNA 和 lncRNA 的基因同时也广泛表达环状 RNA。这种基因表达的特点最初是在人和小鼠中发现的,但分子生物学家

很快发现其在所有真核生物中普遍存在。circRNA 的表达丰度及其剪接异构体的表达都具有细胞特异性,其表达量可能高于传统的线性 mRNA 或 lncRNA。circRNA 在大脑中表达丰富且丰度随着胎儿发育增加。总之,这些特性形成了 circRNA 顺式和反式作用及其功能调控的基本问题^[28]。2012 年,Salzman 等^[10]首次证实在人体细胞的基因表达程序中,环形 RNA 分子而非线性 RNA 分子是一个更普遍的特征。他们应用一种新生物信息分析方法对 15 种不同类型细胞的转录组数据进行了分析发现, circRNA 在果蝇中广泛存在, circRNA 表达、circRNA 基因线性转录本、剪切模式均呈细胞类型特异性。研究证实 circRNA 不仅仅普遍存在于各类生物,在同一生物体内不同部位也广泛分布;它们通常还具有组织或发育阶段的表达特异性^[29, 30]。Abdelmohsen 等^[31]通过不同年龄段的猕猴骨骼肌的转录组测序发现了 12 000 个 circRNA,其中部分为高表达 circRNA;并分析了特定 circRNA 在不同年龄组别呈特异分布,推测 circRNA 与肌肉生长发育及衰老有关。针对猪不同发育阶段(胚胎 21 d、42 d、60 d、80 d 和 100 d)脑不同部位(前脑、皮质层、脑干、海马区、脑干、基底神经节)的 circRNA 测序研究发现脑部 circRNA 表达呈动态模式,胚胎 60 d 时 4 634 个特异性 circRNA 高表达,与人、小鼠脑 circRNA 具有一定的保守性^[32]。2013 年,Memczak 等^[16]通过对人、小鼠和线虫进行测序发现存在上万种稳定表达的 circRNA,这些 circRNA 具有组织特异性及发育阶段特异性;通过比对发现一个新的人的 circRNA,为小脑变性相关蛋白 2 反义转录本 CDR1as,具有 63 个与 miR-7 保守结合位点;在神经组织中 CDR1as 可与 miR-7 结合。在斑马鱼中,人 CDR1as 表达可破坏中脑发育,且 CDR1as 与 miR-7 的结合能力比其他转录本高达 10 倍。《Cell》子刊报道了哺乳动物大脑 circRNA 详尽的表达谱,德国学者对人、小鼠和果蝇在对脑部不同区域、原代神经元、神经突触的 circRNA 测序数据分析发现上千种 circRNA,其广泛分布且表达丰度高; circRNA 神经元分化时表达上调,且与 RNA 编辑酶 ADAR1 表达呈负相关;敲低 ADAR1 可导致 circRNA 表达升

高^[33]。Rajewsky^[34]实验室建立 circRNA 专用数据库 (<http://circrna.org/>), 该数据收录了人类、小鼠、线虫及果蝇等 circRNA 信息及最新的 circRNA 研究成果。2016 年, Dong 等^[35]在人类睾丸来源的精液

血浆中发现大量全新的环状 RNA, 共鉴定到 15 996 种 circRNA, 其中 10 792 种为首次发现和报道的, 这些 circRNA 对应的基因主要参与精子发生, 精子运动和受精作用 (表 1)。

表 1 近年来 circRNAs 鉴定研究部分代表性研究成果

研究对象	研究方法	circRNA 个数	发表时间	参考文献
人, Hs68	除 rRNA, RNaseR 消化	25166	2013	[1]
人干细胞 H9	除 rRNA, RnaseR 消化	103	2013	[11]
人、鼠、线虫等	除 rRNA	1950 人 /903 小鼠 /724 线虫	2013	[16]
人干细胞 H9	除 rRNA, RnaseR 消化	9639	2014	[26]
猕猴 骨骼肌	除 rRNA, RNase R 消化	12000	2015	[31]
猪胚胎 脑组织	除 rRNA	13854	2015	[32]
人 精液	RNase R 消化	15996	2016	[35]
人 15 种细胞	除 rRNA	46866	2013	[36]

5 环状 RNA 的功能及其与疾病间关系

circRNA 的生成过程决定了它对基因表达的巨大影响, 进而影响了机体的发育和功能。随着研究的深入, 人们发现 circRNA 在转录后水平具有很多重要的调控功能, 包括 circRNA 调控可变剪切、作为 ceRNA 发挥 miRNA 海绵功能、可以与 RNA 结合蛋白 (RBPs) 及核糖核蛋白复合体 (Ribonucleoprotein complex) 结合, 以避免这些因子发挥作用。Hansen 等^[30, 37]发现 miR-671 能够负调控小脑变性相关蛋白 1 (Cerebellar degeneration-related protein, CDR1), miR-671 具有介导 CDR1 环化反义转录本的作用。研究人员利用全基因组分析方法和 circRNA 重演方法发现外显子环化与侧翼内含子互补序列有着密切关系, 外显子环化受到侧翼内含子之间及内含子内部的 RNA 配对的竞争影响。RNA 选择性配对能够导致一个基因选择性的环化, 从而可以产生多种 circRNA 转录本。该研究聚焦了内含子的互补序列可以介导外显子环化, 生成的不同 circRNA 进一步增加了哺乳动物转录后调控的复杂性^[17]。还有研究表明, 大脑中 circRNA 分子以高水平生成, 并且许多来自具有重要功能的基因, 说明环状 RNA 在脑功能中发挥了重要作用。同时最近的研究发现, circRNA 在老龄化的小鼠大脑中富集, 而线性 RNA 分子变化不明显, 说明 circRNA 的富集行为不依赖所对应的线性 RNA。另外, 脑 circRNA 能影响和调节突触功

能^[23, 38]。近期, 有研究发现 circPVT1 具有抑制细胞衰老的作用, circPVT1 可以竞争性结合 let-7, 抑制 let-7 调控的下游基因, 包括 IGF2BP1, KRAS 和 HMGA2 最终抑制衰老进程^[39], 另外 circPVT1 竞争性结合 miR-125 家族而影响细胞增殖指标, 最终促进了胃癌细胞增殖。circPVT1Genes 杂志上发表的一项研究发现 AD 病人 ciRS-7 缺失导致 miR-7 活性不受调控, 并最终导致泛素连接酶 UBE2A 的缺失^[40]。

在研究 circRNA 结构和功能的同时, 研究人员还发现它们在动脉粥样硬化、神经系统紊乱、阮病毒疾病、糖尿病、肿瘤和癌症等疾病发生过程中发挥着重要的作用^[23, 41-48]。circRNA 在结肠直肠癌 (CRC) 和胰腺导管腺癌 (PDAC) 中表现出异常表达, 并被用作一些疾病的诊断或预测性生物标志物。通过研究 circRNA 的表达谱, 发现 circRNA 可能与皮肤基底细胞癌的分子发病机制有关^[49]。circRNA 在皮肤鳞状细胞癌 (cSCC) 中有差异表达且在肿瘤形成过程中发挥重要作用, 主要通过 miRNA 结合元件 (MRES) 互补序列干扰 cSCC 相关 miRNA 作用, 进行表观遗传学调控^[50]。circRNA 表达谱综合分析显示 hsa_circ_0005075 是一个新的环状 RNA 生物标记物, 是一个潜在的肝癌标志物, 参与肝癌的发展^[51]。还有报道显示, 外泌体中 circRNA 可能作为肿瘤标志物, circ-KLDHC10 在结肠癌中作为标志物^[52]。因此对 circRNA 进行研究具有重要的临床意

义：circRNA 独具的竞争性内源（ceRNA）特征可为药物开发提供新的思路；circRNA 的组织特异性和稳定性有可能使 circRNA 成为一种良好的生物标志物；circRNA 的研究为生命的进化提供新的研究方向^[46]。可以预见，在不久的将来它能够在各种疾病的预防、诊断、治疗中发挥非常重要的作用^[53]。

6 结语

circRNA 的研究还刚刚兴起，但其重要性引起了国际上学者的高度重视，并逐渐揭开 circRNA 的面纱。circRNA 的广泛性，保守性及组织特异性等特质，都预示着它可能成为一种新型的生物标志物。circRNA 参与了生物的生长发育、衰老、疾病等多种生命活动过程，在转录后水平具有调控基因表达的重要功能。对 circRNA 进行研究具有重要意义：circRNA 独具的竞争性内源（ceRNA）特征可为药物开发提供新的思路；circRNA 的组织特异性和稳定性有可能使 circRNA 成为一种良好的生物标志物；circRNA 的研究为生命的进化提供新的研究方向。目前在畜禽上关于 circRNA 鉴定及功能研究报道寥寥无几。circRNA 的世界仍有许多未知等待我们去探索。随着分子生物学技术的不断进步，相信在未来几年，会有大量的 circRNA 及其功能在疾病、动植物中的表达与生物学作用被研究者发现。

参考文献

- [1] 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.
- [2] Sanger HL. Viroids are single-stranded covalently closed circular RNA molecules existing as highly base-paired rod-like structures [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1976, 11: 3852-3856.
- [3] Matsumoto Y, Fishel R, Wickner R. Circular single-stranded RNA replicon in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1990, 87 (19): 7628-7632.
- [4] Nigro JM, et al. Scrambled exons [J]. Cell, 1991, 64 (3): 607-613.
- [5] Cocquerelle C, et al. Splicing with inverted order of exons occurs proximal to large introns [J]. Embo J, 1992, 11 (3): 1095-1098.
- [6] Capel B, Swain A, et al. Circular transcripts of the testis-determining gene Sry in adult mouse testis [J]. Cell, 1993, 5: 1019-1030.
- [7] Cocquerelle C, Mascrez B, Hétiuin D, et al. Mis-splicing yields circular RNA molecules [J]. FASEB J, 1993, 7 (1): 155-60.
- [8] Danan M, et al. Transcriptome-wide discovery of circular RNAs in Archaea [J]. Nucleic Acids Res, 2011, 7: 3131-3142.
- [9] Wang PL, Bao Y, Yee MC, et al. Circular RNA is expressed across the eukaryotic tree of life [J]. PLoS One, 2014, 9 (6): e90859.
- [10] 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.
- [11] Zhang Y, Zhang XO, Chen T, et al. Circular intronic long Noncoding RNAs [J]. Molecular Cell, 2013, 51 (6): 792-806.
- [12] Suzuki H, et al. Characterization of RNase R-digested cellular RNA source that consists of lariat and circular RNAs from pre-mRNA splicing [J]. Nucleic Acids Res, 2006, 34 (8): e63.
- [13] 刘骏武, 陈玲玲. 浅虫环状 RNA 分析 [J]. 计算机生物学, 2015, 5: 17-28.
- [14] Jeck WR, Sharpless NE. Detecting and characterizing circular RNAs [J]. Nature Biotechnology, 2014, 32 (5): 453-461.
- [15] Cocquerelle C, Mascrez B, Hétiuin D, et al. Mis-splicing yields circular RNA molecules [J]. FASEB J, 1993, 7 (1): 155-60.
- [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] Zhang XO, Wang HB, Zhang Y, et al. Complementary sequence-mediated exon circularization [J]. Cell, 2014, 159 (1): 134-147.
- [18] Dubin RA, Kazmi MA, Ostrer H. Inverted repeats are necessary for circularization of the mouse testis Sry transcript [J]. Gene, 1996, 167 (12): 245-248.
- [19] Liang D, Wilusz JE. Short intronic repeat sequences facilitate circular RNA production [J]. Genes Dev, 2014, 20: 2233-2247.
- [20] Ivanov A, Memczak S, Wyler E, et al. Analysis of intron sequences reveals hallmarks of circular RNA biogenesis in animals [J]. Cell Reports, 2015, 10 (2): 170-177.
- [21] Starke, Stefan, Jost, et al. Exon circularization requires canonical splice signals [J]. Cell Reports, 2015, 56 (1): 103-111.
- [22] Kelly S, Greenman C, Cook PR, et al. Exon skipping is correlated with exon circularization [J]. J Mol Biol, 2015, 15: 2414-2417.
- [23] AshwalFluss, Reut, Meyer, et al. circRNA biogenesis competes with pre-mRNA splicing [J]. Molecular cell, 2014, 56 (1): 55-66.

- [24] Vicens Q, Westhof E. Biogenesis of Circular RNAs [J] . Cell, 2014, 159 (1) : 13-14.
- [25] Iverfeldt K, et al. RNA circularization strategies *in vivo* and *in vitro* [J] . Nucleic Acids Res, 2015, 43 (4) : 2454-2465.
- [26] Li ZY, Huang C, et al. Exon-intron circular RNAs regulate transcription in the nucleus [J] . Nat Struct Mol Biol, 2015, 3 : 256.
- [27] Conn, Simon, J, et al. The RNA binding protein quaking regulates formation of circRNAs [J] . Cell, 2015, 160 (6) : 1125-1134.
- [28] Salzman J. Circular RNA expression : its potential regulation and function [J] . Trends in Genetics, 2016, 32 (5) : 309-316.
- [29] Hahn H, Christiansen J, Wicking C, et al. A mammalian patched homolog is expressed in target tissues of sonic hedgehog and maps to a region associated with developmental abnormalities [J] . Journal of Biological Chemistry, 1996, 271 (21) : 12125-12128.
- [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 (21) : 4414-4422.
- [31] Abdelmohsen K, et al. Circular RNAs in monkey muscle : age-dependent changes [J] . Aging, 2015, 7 (11) : 903-910.
- [32] Venø MT, Hansen TB, Venø ST, et al. Spatio-temporal regulation of circular RNA expression during porcine embryonic brain development [J] . Genome Biology, 2015, 16 (1) : 1-17.
- [33] Rybak-Wolf A, et al. circular RNAs in the mammalian brain are highly abundant, conserved, and dynamically expressed [J] . Mol cell, 2015, 58 (5) : 870-885.
- [34] Glazár P, Papavasileiou P, Rajewsky N. circBase : a database for circular RNAs [J] . RNA, 2014, 20 (11) : 1666-1670.
- [35] Dong WW, Li HM, Qing XR, et al. Identification and characterization of human testis derived circular RNAs and their existence in seminal plasma [J] . Sci Rep, 2016, 6 : 39080.
- [36] Salzman J, Chen R, Olsen M, et al. Cell-type specific features of circular RNA expression [J] . PLoS Genet, 2013, 9 : e1003777.
- [37] Hansen TB, Kjems J, Damgaard CK. Circular RNA and miR-7 in cancer [J] . Cancer Research, 2013, 73 (18) : 5609-5612.
- [38] You X, Vlatkovic I, Babic A, et al. Neural circular RNAs are derived from synaptic genes and regulated by development and plasticity [J] . Nature Neuroscience, 2015, 18 (4) : 603-610.
- [39] 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 Letters, 2017 : 208-219.
- [40] Zhao Y, Alexandrov P, Jaber V, et al. Deficiency in the ubiquitin conjugating enzyme UBE2A in alzheimer' s disease (AD) is linked to deficits in a natural circular miRNA-7 sponge (circRNA; ciRS-7) [J] . Genes, 2016, 7 (12) . pii : E116.
- [41] Qu S, Yang X, Li X, et al. Circular RNA : A new star of noncoding RNAs [J] . Cancer Letters, 2015, 365 (2) : 141-148.
- [42] Pan X, Xiong K. PredcircRNA : computational classification of circular RNA from other long non-coding RNA using hybrid features [J] . Molecular Biosystems, 2015, 11 (8) : 2219-2226.
- [43] Huang C, Shan G. What happens at or after transcription : Insights into circRNA biogenesis and function [J] . Transcription, 2015, 6 (4) : 61-64.
- [44] Chen Y, Li C, Tan C, et al. Circular RNAs : a new frontier in the study of human diseases [J] . J Med Genet, 2016, 53 (6) : 359.
- [45] Dong R, Zhang XO, Zhang Y, et al. CircRNA-derived pseudogenes [J] . Cell Research, 2016, 26 (6) : 747-750.
- [46] Li P, Chen S, Chen H, et al. Using circular RNA as a novel type of biomarker in the screening of gastric cancer [J] . Clinica Chimica Acta, 2015, 444 : 132-136.
- [47] Li J, Yang J, Zhou P, et al. Circular RNAs in cancer : novel insights into origins, properties, functions and implications [J] . American Journal of Cancer Research, 2015, 5 (2) : 472-480.
- [48] Peng L, et al. The emerging landscape of circular RNA ciRS-7 in cancer (Review) [J] . Oncol Rep, 2015, 6 : 2669-2674.
- [49] Sand M, Bechara FG, Sand D, et al. Circular RNA expression in basal cell carcinoma [J] . Epigenomics, 2016, 8 (5) : 619-632.
- [50] Sand M, Bechara FG, Gambichler T, et al. Circular RNA expression in cutaneous squamous cell carcinoma [J] . Journal of Dermatological Science, 2016, 83 (3) : 210-218.
- [51] 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, 2016, 95 (22) : e3811.
- [52] Yang H, Fu H, Xu W, et al. Exosomal non-coding RNAs : a promising cancer biomarker [J] . Clin Chem & Lab Med, 2016, 12 : 1871-1879.
- [53] 王茜, 张欣洲. 环状 RNA 与疾病发生的关系 [J] . 继续医学教育, 2016 (2) : 105-106.

(责任编辑 李楠)