

引用本文:朱琳. 脑神经胶质瘤替莫唑胺耐药 circRNA-miRNA-mRNA 调控网络的构建[J]. 安徽医药, 2021, 25(7): 1414-1418. DOI: 10.3969/j.issn.1009-6469.2021.07.035.



◇临床医学◇

脑神经胶质瘤替莫唑胺耐药 circRNA-miRNA-mRNA 调控网络的构建

朱琳

作者单位:长沙市第四医院神经内科,湖南 长沙 421001

摘要: **目的** 筛选脑神经胶质瘤替莫唑胺耐药细胞株 U87/TR 与亲本细胞株 U87 的环状 RNA (circRNA) 差异表达谱以及构建关键环状 RNA (circRNA)-微小 RNA (miRNA)-信使 RNA (mRNA) 调控网络。**方法** 2020 年 1—6 月,应用 circRNAs 芯片检测神经胶质瘤替莫唑胺耐药细胞 circRNAs 差异表达谱,并进行 RT-PCR 验证。用 miRanda 数据库预测 circRNA-miRNA 靶向结合关系,通过 miRanda v5、TargetScan、miBase 数据库预测靶基因, Cytoscape 软件构建 circRNA-miRNA-mRNA 调控网络。**结果** circRNA 芯片结果显示,与 U87 细胞比较, U87/TR 细胞有 313 个差异有统计学意义表达的 circRNAs ($P < 0.05$), 其中 145 个显著上调, 168 个明显下调; RT-qPCR 验证结果与芯片结果相符。miRNA 靶位点预测结果显示, 关键上调人环状 RNA hsa_circRNA_009054, hsa_circRNA_104338 ($n=3, t=12.09, 9.52, P=0.007, 0.011$) 以及下调 hsa_circRNA_016459, hsa_circRNA_101975 ($n=3, t=13.86, 7.75, P=0.005, 0.016$) 可与 hsa-miR-33a-5p, hsa-miR-15b-3p 以及 hsa-miR-193b-5p, hsa-miR-23a-5p 等多个 miRNAs 靶向结合, 关键 circRNA-miRNA-mRNA 调控网络包括 4 个关键 circRNAs, 20 个关键 miRNAs, 以及 278 个关键 mRNAs。**结论** circRNA 在脑神经胶质瘤替莫唑胺耐药细胞中异常表达, hsa_circRNA_009054, hsa_circRNA_104338 以及 hsa_circRNA_016459, hsa_circRNA_101975 等关键 circRNA 可能通过 circRNA-miRNA-mRNA 调控网络参与脑神经胶质瘤替莫唑胺的耐药过程。**关键词:** 神经胶质瘤; 替莫唑胺; 抗药性, 肿瘤; circRNA 差异表达谱; circRNA-miRNA-mRNA 调控网络

Construction of circRNA-miRNA-mRNA regulatory network in glioma with temozolomide resistance

ZHU Lin

Author Affiliation: Department of Neurology (Electrophysiology) EMG Room, The Fourth Hospital of Changsha, Changsha, Hunan 421001, China.

Abstract: **Objective** To screen the differential expression profile of Circular RNA (circRNA) in brain glioma temozolomide-resistant cell line U87/TR and parental cell line U87, and to construct a key Circular RNA (circRNA) - microRNA (miRNA) - messenger RNA (mRNA) regulatory network. **Methods** From January to June 2020, circRNAs chip was used to detect the differential expression profile of circRNAs in glioma-resistant temozolomide cells and verified by RT-PCR. miRanda database was used to predict the circRNA-miRNA target binding relationship. miRanda v5, TargetScan, and miBase databases were used to predict the target genes. Cytoscape software was used to construct the circRNA-miRNA-mRNA regulatory network. **Results** The results of circRNA microarray showed that U87/TR cells had 313 significantly differentially expressed circRNAs compared with U87 cells ($P < 0.05$), of which 145 were significantly up-regulated and 168 were significantly down-regulated, RT-PCR verification results were consistent with the results of the chip. The prediction results of miRNA target sites showed that the key up-regulation of hsa_circRNA_009054, hsa_circRNA_104338 ($n=3, t=12.09, 9.52, P=0.007, 0.011$) and down-regulation of hsa_circRNA_016459, hsa_circRNA_101975 ($n=3, t=13.86, 7.75, P=0.005, 0.016$) can target multiple miRNAs such as hsa-miR-33a-5p, hsa-miR-15b-3p, hsa-miR-193b-5p and hsa-miR-23a-5p, the key circRNA-miRNA-mRNA regulatory network included 4 key circRNAs, 20 key miRNAs, and 278 key mRNAs. **Conclusion** circRNA is abnormally expressed in temozolomide-resistant cells of cerebral glioma. Key circRNAs such as hsa_circRNA_009054, hsa_circRNA_104338 and hsa_circRNA_016459, hsa_circRNA_101975 and other key circRNAs may participate in the drug resistance process of temozolomide in brain glioma through the circRNA-miRNA-mRNA regulatory network.

Key words: Glioma; Temozolomide; Drug resistance, neoplasm; circRNA differential expression profile; circRNA-miRNA-mRNA regulatory network

脑神经胶质瘤是中枢神经系统最常见的原发性恶性肿瘤^[1]。目前,最大限度的手术切除,术后辅

以放化疗是神经胶质瘤治疗的主要方法^[2-4]。其中替莫唑胺(Temozolomide, TMZ)在脑胶质瘤,尤其是神经胶质母细胞瘤(WHO IV)治疗上取得了成功,其明显降低了术后复发率,大大提高了脑胶质瘤的生存率^[5]。目前替莫唑胺是临床治疗脑神经胶质瘤的一线化疗药物。但随着用药周期的延长,几乎所有初始治疗有效的病人都会出现病情进展,产生替莫唑胺耐药(Temozolomide Resistance, TR)^[6]。其耐药机制尚未完全明确。

环状RNA(Circular RNA, circRNA)是一类新型的内源性非编码RNA(noncoding RNA, ncRNA),其特征是3'和5'端以闭环结构共价连接,因此circRNA不易受核酸内切酶的影响,在体内表达稳定,是目前较为理想的疾病诊断生物标志物,以及分子生物治疗靶点^[7-8]。circRNA可通过多种途径发挥肿瘤调控作用,但目前研究较为清楚的是其微小RNA(microRNA, miRNA)海绵作用,circRNA通过miRNA海绵竞争性的与靶miRNA结合,使miRNA降解或者失去调控功能,进而调控miRNA下游靶基因的表达水平^[9-10]。目前研究表明^[11-12],circRNA在非小细胞肺癌、结直肠癌、乳腺癌、肝癌、胃癌等多种肿瘤中异常表达,而且环状RNA(circRNA)-微小RNA(miRNA)-信使RNA(mRNA)调控网络也参与了多种肿瘤的发生、发展、放疗抵抗,以及化疗耐药等过程。但目前circRNA以及circRNA-miRNA-mRNA调控网络在脑神经胶质瘤替莫唑胺中研究较少。

因此,本研究以人脑神经胶质瘤替莫唑胺耐药细胞株U87/TR以及其亲本细胞株U87为细胞模型,通过高通量circRNA芯片比较其circRNAs表达谱差异,并初步筛选关键circRNAs,并预测circRNA-miRNA-mRNA调控网络,为进一步深入研究circRNA在脑神经胶质瘤替莫唑胺耐药中的作用及其分子机制提供依据。本研究符合《世界医学协会赫尔辛基宣言》相关要求。

1 材料与方法

1.1 主要材料试剂 人脑神经胶质瘤替莫唑胺耐药U87/TR细胞株以及其亲本U87细胞株购买于上海弘顺生物科技有限公司(规格BW124577)。RPMI-1640培养液、胎牛血清、胰蛋白酶购自美国GIBCO公司。RNeasy Mini Kit购自德国Qiagen公司,RT-PCR试剂盒等购自美国Sigma公司。circRNA芯片的制备与杂交由上海吉凯生物科技有限公司完成。

1.2 方法

1.2.1 circRNA芯片检测及数据分析 用RNeasy Mini Kit(Qiagen, Hilden, 德国)提取人脑神经胶质瘤替莫唑胺耐药U87/TR细胞株以及其亲本U87细胞

株总RNA(n=3)。使用NanoDrop ND-1000量化每个样品的总RNA。样品制备和微阵列杂交是根据美国Arraystar公司的标准方案进行的。总RNA用Rnase R消化以除去线性RNA并富集环状RNA。然后,将富集的环状RNA扩增并转录为荧光cRNA(Arraystar超级RNA标记试剂盒; Arraystar)。标记的cDNA(complementary DNA)探针与美国Arraystar人源性环形RNA芯片2.0版Arraystar Human circRNA Array V2(8x15K, Arraystar)杂交。使用安捷伦功能提取软件(版本11.0.1.1)来分析获取的阵列图像。使用R软件Limma软件包执行分位数归一化和后续数据处理。通过火山图(Volcano Plot)过滤鉴定了两组之间表达circRNA差异有统计学意义。通过倍数变化过滤鉴定了两个样品之间差异表达的circRNA。进行了层次聚类,以显示样品之间可区别的circRNA表达模式。

1.2.2 RT-PCR芯片结果验证 将circRNA芯片分析结果中差异表达倍数及信号值较高的4个circRNAs行RT-PCR分析,分布为上调的circRNAs:人环状RNAhsa_circRNA_009054, hsa_circRNA_104338;和下调的circRNAs: hsa_circRNA_016459, hsa_circRNA_101975,进一步验证芯片检测结果的可靠性。利用软件Primer Premier 5.0设计引物(表1)。以U87和U87/TR细胞总RNA 2 μg为模板,进行逆转录,以GAPDH作为内参照。按照试剂盒操作进行PCR反应,条件为:95 ℃ 30 s; 95 ℃ 5 s, 60 ℃ 31 s, 扩增40个循环。以 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 表示circRNA的表达水平,实验重复3次。

表1 引物设计

引物	序列(5'-3')
hsa_circRNA_009054	正向 5'-GGGAGAGCCTTCTCCTCAACA-3' 反向 5'-CAGGTCAGAGAGCTCAAACCTCG-3'
hsa_circRNA_016459	正向 5'-CACTCAGGCACCTTCCACCAACC-3' 反向 5'-GGATTATATGAGGAATCCAAGATGA-3'
hsa_circRNA_104338	正向 5'-GATTTGGGAAGTTCCTTCTTCTTT-3' 反向 5'-ACTGTTATTACAACCATAGTGGCG-3'
hsa_circRNA_101975	正向 5'-CATTCTTTCCAGCCCTGGAG-3' 反向 5'-CCTCACTTCATCCACAGGCTCCTC-3'
GAPDH	正向 5'-ATCTTGGCATCGAAATGGAACCA-3' 反向 5'-TTGATGAAGTAGGTGGACTTCT-3'

1.2.3 生物信息学分析 运用Miranda v5数据库(<http://www.ebi.ac.uk/enright-srv/microcosiTi/htdocs/targets/v5>)预测circRNA-miRNA结合关系以及结合位点。miRNA靶基因预测软件:miRanda v5 (<http://www.ebi.ac.uk/enright-srv/microcosiTi/htdo/targets/v5>), TargetScan (<http://www.targetscan.org>)和mi-

Base (<http://pictar.bio.nyu.edu>)。circRNA- miRNA-mRNA 调控网络通过 Cytoscape 软件进行可视化 (Version 3.6.1; <http://cytoscape.org/>)。

1.3 统计学方法 应用 SPSS 18.0 进行统计学分析,两组细胞间各 circRNAs 水平差异分析采用配对样本 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 circRNA 差异表达谱 circRNA 芯片数据经过标准化处理和统计学分析,结果显示,与亲本 U87 细胞株相比,在 U87/TR 细胞株中,共鉴定出 313 个差异有统计学意义表达的 circRNAs,其中包括 145 个明显上调的 circRNA 和 168 个明显下调的 circRNA,成功建立神经胶质瘤替莫唑胺耐药相关 circRNA 差异表达谱。层次聚类分析筛选显示了显著上调的下调的前 10 位 circRNAs。表 2, 3 列出了显著上调和下调的前 10 位 circRNAs 详细信息。

2.2 RT-PCR 验证芯片结果 为了进一步证实 circRNA 芯片的准确性,我们将 circRNA 芯片分析结果中差异表达倍数及信号值较高的 4 个关键 circRNAs 行 RT-PCR 分析验证(上下调 circRNAs 各 2 个), RT-PCR 结果显示,相比较于 U87 细胞, hsa_circRNA_009054 和 hsa_circRNA_104338 在 U87/TR 细胞中显著高表达 ($n=3, t=12.09, 9.52, P=0.007, 0.011$), hsa_

circRNA_016459 和 hsa_circRNA_101975 在 U87/TR 细胞中明显低表达 ($n=3, t=13.86, 7.75, P=0.005, 0.016$), 而且 RT-qPCR 结果与 circRNA 芯片结果相符(表 4),证实了 circRNA 芯片的准确性。从而鉴定了 hsa_circRNA_009054, hsa_circRNA_104338 (上调) 以及 hsa_circRNA_016459, hsa_circRNA_101975 (下调) 4 个神经胶质瘤替莫唑胺耐药相关的关键 circRNAs。

2.3 circRNA-miRNA 调控网络的构建 同时,我们通过 miRanda v5 数据库对鉴定的关键 circRNAs 进行 miRNA 靶位点预测。miRNA 靶位点预测结果显示, hsa_circRNA_009054, hsa_circRNA_104338 以及 hsa_circRNA_016459, hsa_circRNA_101975 均可与多个 miRNAs 靶向结合, hsa_circRNA_009054 排名前五位的 miRNA 分别为: hsa-miR-33a-5p, hsa-miR-4685-5p, hsa-miR-6855-5p, hsa-miR-2467-5p, hsa-miR-4446-3p; hsa_circRNA_009054 排名前五位的 miRNA 分别为: hsa-miR-15b-3p, hsa-miR-550a-5p, hsa-miR-509-5p, hsa-miR-1224-3p, hsa-miR-758-5p; hsa_circRNA_009054 排名前五位的 miRNA 分别为: hsa-miR-193b-5p, hsa-miR-134-5p, hsa-miR-4439, hsa-miR-6820-5p, hsa-miR-5190; hsa_circRNA_009054 排名前五位的 miRNA 分别为: hsa-

表 2 在 U87/TR 细胞株中鉴定出较亲本 U87 细胞株上调的前 10 位 circRNAs

探针	环状 RNA 名称	P-值	调节倍数	调节	来源	染色体	类型	基因命名
ASCRP3009681	hsa_circRNA_009054	0.039487895	5.1966654	up	circBase	chr5	exonic	MCC
ASCRP3003995	hsa_circRNA_104338	0.041765932	4.8959357	up	circBase	chr7	exonic	CREB5
ASCRP3003768	hsa_circRNA_102591	0.029692166	4.751842	up	circBase	chr19	exonic	CPT1C
ASCRP3009130	hsa_circRNA_100623	0.040588555	4.6514512	up	circBase	chr10	exonic	USP54
ASCRP3008463	hsa_circRNA_014754	0.001357811	4.2492768	up	circBase	chr1	exonic	IQGAP3
ASCRP3007323	hsa_circRNA_406087	0.048353647	4.0480231	up	25070500	chr20	exonic	DZANK1
ASCRP3013550	hsa_circRNA_086684	0.022030608	3.8465087	up	circBase	chr9	exonic	UBAP2
ASCRP3000538	hsa_circRNA_030431	0.0231521	3.746358	up	circBase	chr13	exonic	TBC1D4
ASCRP3012888	hsa_circRNA_405653	0.041688897	3.543198	up	25070500	chr18	exonic	TWSG1
ASCRP3007037	hsa_circRNA_043598	0.005301978	3.2279019	up	circBase	chr17	exonic	KRT19

表 3 在 U87/TR 细胞株中鉴定出较亲本 U87 细胞株下调的前 10 位 circRNAs

探针	环状 RNA 名称	P-值	调节倍数	调节	来源	染色体	类型	基因命名
ASCRP3008818	hsa_circRNA_016459	0.03868517	6.0878824	down	circBase	chr1	exonic	KCNK2
ASCRP3004852	hsa_circRNA_101975	0.04720491	5.3786841	down	circBase	chr17	exonic	CNTROB
ASCRP3009247	hsa_circRNA_104878	0.042063512	5.0305424	down	circBase	chr9	exonic	PTBP3
ASCRP3004034	hsa_circRNA_006920	0.049990105	4.8249757	down	circBase	chr5	antisense	BC028670
ASCRP3010063	hsa_circRNA_016519	0.009744714	4.7227411	down	circBase	chr1	exonic	MARK1
ASCRP3012326	hsa_circRNA_072303	0.046095048	4.5209778	down	circBase	chr5	exonic	LIFR
ASCRP3002582	hsa_circRNA_020959	0.009435365	4.3207788	down	circBase	chr11	exonic	HBG1
ASCRP3012948	hsa_circRNA_102233	0.042738184	4.0205147	down	circBase	chr17	exonic	ASPSR1
ASCRP3008663	hsa_circRNA_014239	0.005541416	3.9173733	down	circBase	chr1	exonic	S100A16
ASCRP3010734	hsa_circRNA_103480	0.042003583	3.7089403	down	circBase	chr3	exonic	ARMC8

表4 RT-PCR验证结果与circRNA芯片检测结果对比

环状RNA名称	circRNA芯片结果	RT-qPCR结果
hsa_circRNA_009054	5.1966654	12.75±2.11
hsa_circRNA_104338	4.884856	10.5±3.02
hsa_circRNA_016459	-6.0878824	-15.45±2.08
hsa_circRNA_101975	-5.378684	-16.8±1.21

miR-23a-5p, hsa-miR-423-5p, hsa-miR-875-3p, hsa-miR-877-3p, hsa-miR- 30b-3p。通过生物信息学分析,我们进一步预测了 hsa_circRNA_ 009054, hsa_circRNA_104338 以及 hsa_circRNA_016459, hsa_circRNA_101975 与其排名第一位的靶向 miRNA 的具体结合位点(分别为:hsa-miR-33a-5p, hsa-miR-15b-3p 以及 hsa-miR- 193b-5p, hsa-miR-23a-5p),见图1。从而鉴定了 hsa-miR-33a-5p, hsa-miR-15b-3p 以及 hsa-miR-193b-5p, hsa-miR-23a-5p 4个神经胶质瘤替莫唑胺耐药相关的关键 miRNAs, 构建了神经胶质瘤替莫唑胺耐药相关的 circRNA-miRNA 调控网络。

2.4 circRNA-miRNA-mRNAs 调控网络的构建
进一步我们通过 miRanda v5、TargetScan、miBase 数据库对关键 miRNAs 进行靶基因预测,并通过 Cytoscape 软件对 circRNA-miRNA-mRNA 调控网络进行可视化分析。从而构建了神经胶质瘤替莫唑胺耐药相关的 circRNA-miRNA-mRNAs 调控网络,我们预测的 circRNA-miRNA-mRNAs 调控网络,包括4个关键 circRNAs, 20个关键 miRNAs, 以及 278 个关键

mRNAs。这些关键 circRNAs, miRNAs, 以及 mRNAs 通过网络互相作用,影响神经胶质瘤替莫唑胺耐药过程。

3 讨论

脑神经胶质瘤替莫唑胺耐药仍是临床亟待解决的关键问题^[3]。目前研究认为, DNA 损伤修复机制,如 O⁶-甲基鸟嘌呤-DNA-甲基转移酶(MGMT), DNA 错配修复(mismatch repair, MMR), 碱基切除修复(base excision repair, BER); 肿瘤微环境; 肿瘤细胞自噬; p53、EGFR、PI3K/AKT、JAK2/STAT3 等信号通路等异常激活与失活、非编码 RNA 调控均可能与脑神经胶质瘤替莫唑胺耐药相关,但其具体机制尚未完全阐述^[5-6]。其中非编码 RNA 调控与脑神经胶质瘤替莫唑胺耐药的相关性越来越受到重视。

circRNAs 表达较线性 RNA 稳定,而且在体内的表达量是线性 RNA 的 10 倍以上^[13-14]。研究表明, circRNA 的异常表达与调控作用与肿瘤的发生发展密切相关,而 circRNA-miRNA-mRNA 调控网络成为肿瘤研究的重要方向^[15]。在非小细胞肺癌中,有研究表明^[16-17], hsa_circ_0087862 可通过靶向 miR-1253/ RAB3D 轴在非小细胞肺癌中发挥癌基因作用, circ_FGFR1 可通过 miR-381-3p 促进在非小细胞肺癌细胞的进展以及 PD-1 耐药。在乳腺癌中,有研究发现^[18-19], Hsa_circ_0091074 可通过 microRNA-1297 促进三阴性乳腺癌细胞的进展, circ-ABC10 可通过 Let-7a-5p/DUSP7 轴促进乳腺癌的紫杉

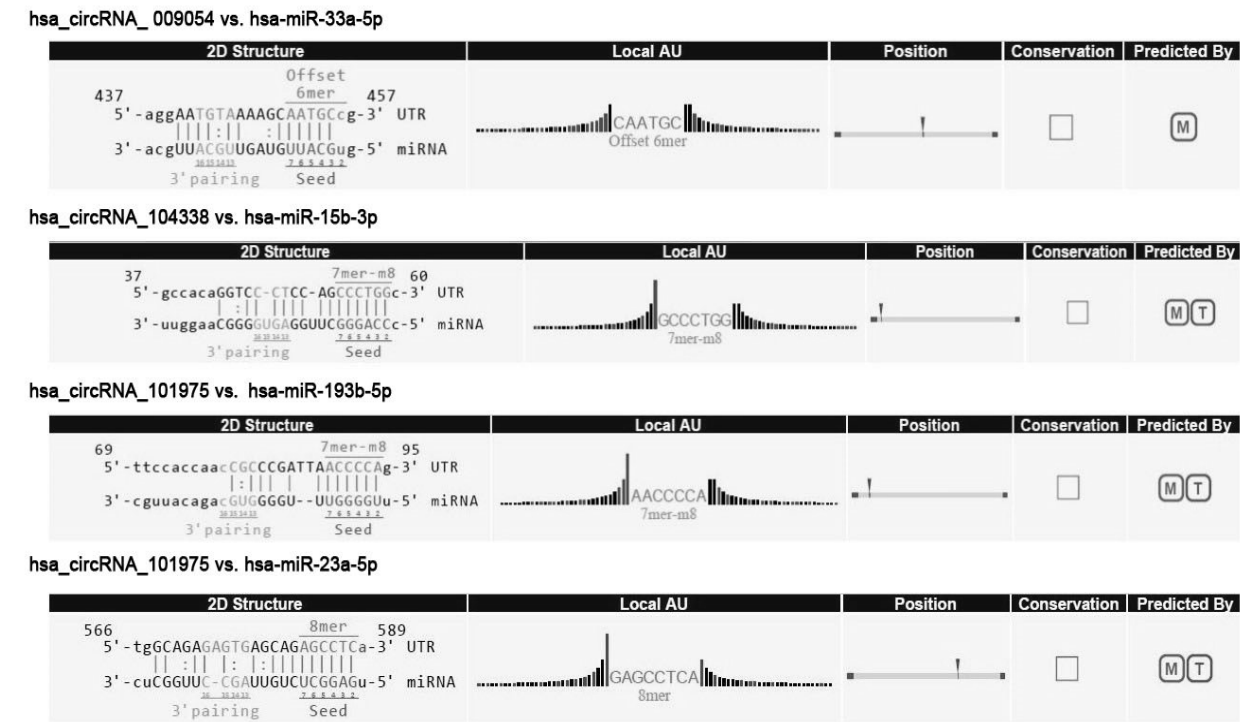


图1 关键circRNAs与关键miRNAs靶向结合位点的详细注释图

醇耐药。在胃癌中,有报道称^[20-21],circRNA_100876可通过抑制miR-136上调MIEN1的表达增强胃癌的增殖和转移能力,circ_CCDC66可通过miR-618/BCL2轴促进胃癌的顺铂耐药。这些研究表明circRNA以及circRNA-miRNA-mRNA调控网络参与了多种肿瘤的发生发展,以及耐药等演进过程。但目前circRNA以及circRNA-miRNA-mRNA调控网络在脑神经胶质瘤替莫唑胺中未见相关研究。

在我们研究中,我们选取了人脑神经胶质瘤替莫唑胺耐药U87/TR细胞株以及其亲本U87细胞株为细胞模型,通过高通量circRNA芯片筛选其circRNAs表达谱,结果发现俩细胞株之间存在313个差异有统计学意义表达的circRNAs,其中包括145个明显上调的circRNA和168个明显下调的circRNA,说明脑神经胶质瘤替莫唑胺耐药伴随着circRNA的改变,为筛选关键circRNAs,我们选取上下调差异倍数最高的两个circRNA进行PR-PCR验证,其结果与芯片相符,我们通过miRNA预测,以及靶基因预测,构建了circRNA-miRNA-mRNA调控网络,这个包括hsa_circRNA_009054, hsa_circRNA_104338和 hsa_circRNA_016459, hsa_circRNA_101975 4个关键circRNAs, hsa-miR-33a-5p, hsa-miR-15b-3p以及 hsa-miR-193b-5p, hsa-miR-23a-5p等20个关键miRNAs,以及THOC2, TP53, STAT5B, RORC等与肿瘤发生发展密切相关278个关键mRNAs。这些关键circRNAs, miRNAs,以及mRNAs可能通过网络互相作用,影响神经胶质瘤替莫唑胺耐药过程。但目前的研究仍无法直接证明circRNAs对脑神经胶质瘤替莫唑胺耐药的调控作用,接下来,我们课题组将向U87/TR细胞株转染关键circRNA过表达和干扰质粒,建立过表达或干扰circRNA细胞模型,鉴定circRNA对U87/TR细胞株生物学行为的影响,明确circRNA下游的具体的miRNA-mRNA调控网络及其机制。

综上所述,我们的研究构建了替莫唑胺耐药相关的关键circRNA-miRNA-mRNA调控网络,为深入研究circRNA在脑神经胶质瘤替莫唑胺耐药中的作用及其分子机制提供了实验依据和前期基础。

参考文献

- [1] PENG Z, LIU C, WU M. New insights into long noncoding RNAs and their roles in glioma [J]. *Molecular Cancer*, 2018, 17(1): 61-67.
- [2] 张洋洋,高劲,陶振超,等. 高级别胶质瘤病人放化疗前后淋巴细胞亚群变化及意义[J]. *安徽医药*, 2019, 23(10): 2032-2035.
- [3] 何桂录,陈保东,曾小君,等. 多模态神经导航辅助下手术切除

脑运动区胶质瘤1例[J]. *中国临床神经外科杂志*, 2019, 24(7): 446-447.

- [4] 保莎莎,刘一帆,罗玥媛,等. 脑胶质瘤治疗后假性进展与复发的影像学鉴别研究进展[J]. *磁共振成像*, 2021, 12(3): 85-88.
- [5] 杨娜,翟蒙蒙,张敏,等. 影响术后接受替莫唑胺联合放疗治疗的脑胶质瘤患者的预后风险因素分析[J]. *中国医学工程*, 2021, 29(2): 48-51.
- [6] 何婧怡,胡春宏. 替莫唑胺治疗胶质母细胞瘤耐药机制的研究进展[J]. *中国现代应用药学*, 2019, 36(23): 3001-3007.
- [7] ZHANG HD, JIANG LH, SUN DW, et al. CircRNA: a novel type of biomarker for cancer [J]. *Breast Cancer*, 2018, 25(1): 1-7.
- [8] 刘欢妹,靖长友,张曙光,等. 环状RNA在肿瘤领域中的研究进展[J]. *癌症进展*, 2019, 17(22): 2612-2616.
- [9] LI X, YANG L, CHEN LL. The biogenesis, functions, and challenges of circular RNAs [J]. *Mol Cell*, 2018, 71(3): 428-442.
- [10] AUFIERO S, RECKMAN YJ, TIJSEN AJ, et al. circRNA profiler: an R-based computational framework for the downstream analysis of circular RNAs [J]. *BMC Bioinformatics*, 2020, 21(1): 164-173.
- [11] KRISTENSEN LS, ANDERSEN MS, STAGSTED LVW, et al. The biogenesis, biology and characterization of circular RNAs [J]. *Nat Rev Genet*, 2019, 20(11): 675-691.
- [12] PATOP IL, KADENER S. circRNAs in Cancer [J]. *Curr Opin Genet Dev*, 2018, 48(2): 121-127.
- [13] 赵羲和,刘磊,邹华伟. 环状RNA在胶质瘤中的研究进展[J]. *现代肿瘤医学*, 2021, 29(8): 1446-1449.
- [14] LEI B, TIAN Z, FAN W, et al. Circular RNA: a novel biomarker and therapeutic target for human cancers [J]. *Int J Med Sci*, 2019, 16(2): 292-301.
- [15] 姚立帅,王慧芳,郑燕芳,等. 环状RNA在实体肿瘤中的研究进展[J]. *广东医学*, 2019, 40(17): 2543-2546, 2553.
- [16] LI L, WAN K, XIONG L, et al. CircRNA hsa_circ_0087862 acts as an oncogene in non-small cell lung cancer by targeting miR-1253/RAB3D axis [J]. *Onco Targets Ther*, 2020, 13: 2873-2886.
- [17] ZHANG PF, PEI X, LI KS, et al. Circular RNA circFGFR1 promotes progression and anti-PD-1 resistance by sponging miR-381-3p in non-small cell lung cancer cells [J]. *Mol Cancer*, 2019, 18(1): 179-192.
- [18] HU J, JI C, HUA K, et al. Hsa_circ_0091074 regulates TAZ expression via microRNA 1297 in triple negative breast cancer cells [J]. *Int J Oncol*, 2020, 56(5): 1314-1326.
- [19] YANG W, GONG P, YANG Y, et al. Circ-ABCB10 contributes to paclitaxel resistance in breast cancer through let-7a-5p/DUSP7 axis [J]. *Cancer Manag Res*, 2020, 12(27): 2327-2337.
- [20] YU X, XIAO W, SONG H, et al. CircRNA_100876 sponges miR-136 to promote proliferation and metastasis of gastric cancer by upregulating MIEN1 expression [J]. *Gene*, 2020, 748: 144678.
- [21] ZHANG Q, MIAO Y, FU Q, et al. CircRNACCDC66 regulates cisplatin resistance in gastric cancer via the miR-618/BCL2 axis [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, 526(3): 713-720.

(收稿日期:2020-07-04,修回日期:2020-08-06)