



## 环状RNA在胃癌中的研究现状与策略\*

王攀<sup>1)</sup> 徐高生<sup>2)</sup> 马蔚<sup>2)</sup> 叶东梅<sup>1)</sup> 李昱莹<sup>1)</sup> 罗苇如<sup>3)</sup> 肖懿洋<sup>3)</sup> 张志伟<sup>1)\*\*</sup>

<sup>1)</sup> 南华大学衡阳医学院肿瘤研究所, 肿瘤细胞与分子病理学湖南省重点实验室, 衡阳 421001;

<sup>2)</sup> 岳阳市妇幼保健院, 岳阳 414000; <sup>3)</sup> 南华大学衡阳医学院临床医学卓越医师班, 衡阳 421001)

**摘要** 环状RNA (circRNA) 是一种共价闭合的非编码RNA, 可以调节真核生物中的基因表达. 最近应用高通量RNA测序和生物信息学方法揭示人类细胞中存在大量circRNA. 许多circRNA具有一定的组织和时序特异性, 且与生理发育和各种肿瘤等疾病密切相关. circRNA被证明在细胞质中富集和稳定, 表明其具有作为肿瘤生物标志物的潜力. 胃癌 (gastric carcinoma, GC) 是一种常见的恶性肿瘤, 在全球癌症相关死亡原因中排第3位. 尽管该疾病在诊断和治疗方面取得了许多进展, 但GC患者的预后仍然很差, 大多数国家的5年总生存率低于30%. 因此, 寻找能调节GC发生发展和评估预后的新分子机制和治疗靶标至关重要. 近年来circRNA在胃癌中的研究不断增多, 其在胃癌的发生发展、诊断、治疗及预后过程中扮演重要角色. 本文就circRNA产生机制及一般特征、生物学功能、在胃癌中的研究进展及研究中存在的问题作一综述.

**关键词** circRNA, 胃癌, 肿瘤生物标志物, 肿瘤诊断

**中图分类号** R735.2

**DOI:** 10.16476/j.pibb.2018.0216

20世纪70年代, 研究者首次发现RNA病毒中存在单链共价闭合的RNA, 并将其命名为环状RNA (circRNA)<sup>[1-2]</sup>. circRNA起初被认为是由于拼接错误产生的, 没有引起大家的关注<sup>[3-4]</sup>, 但近年来circRNA已成为研究热点. circRNA从被发现到备受学者们的关注时隔30多年, 其被隐藏多年而未被发现的3个主要原因如下<sup>[5]</sup>: 首先, 当使用线性基因组作为引物设计的模板时, 传统的逆转录酶定量PCR (RT-qPCR) 不能区分circRNA和线性RNA; 其次, circRNA未映射到线性参考基因组, 并且在测序数据中, 通常会丢弃通过测序读取的相关序列; 最后, circRNA缺乏polyA尾, 并且制备RNA测序文库的大多数方案都去除了rRNA的polyA.

随着RNA高通量测序技术的发展, circRNA在不同的生物中被发现, 包括古细菌、植物、斑马鱼、小鼠和人等<sup>[6-7]</sup>. 研究者通过生物信息学分析发现circRNA的种类和物种进化程度成正比, 并且已经在人体内发现了大量的circRNA, 是人体内含量最多的RNA之一.

### 1 circRNA的产生机制及特征

多项研究表明, circRNA可以来自基因组上多种基因结构, 同一基因来源的circRNA可能存在多种种类. 根据来源不同, circRNA可分为内含子来源的ciRNA (图1a)、单外显子来源的circRNA、外显子-内含子来源的EIciRNA (图1b) 以及多外显子来源的ecircRNA (图1c). 此外, 最新研究发现, 染色体结构的畸变可以导致融合环状RNA (图1d) 的形成<sup>[8-9]</sup>. 前体tRNA (图1e) 也可形成特殊的环状RNA (tricRNA)<sup>[10]</sup>. 另外, 胞核环型DNA病毒也可形成circRNA<sup>[11]</sup> (图1f). 目前发现

\* 湖南省高校创新平台基金(12K094), 南华大学博士科研启动基金(2016XQD21), 南华大学大学生研究性学习和创新性实验计划项目(2016NH055XJXZ, 2017 XJXZ030), 南华大学基础医学湖南省重点学科基金和岳阳市妇幼保健院横向合作项目(2018KH43) 资助.

\*\* 通讯联系人.

Tel: 0734-8281075, E-mail: nhdxzzw@qq.com

收稿日期: 2018-08-06, 接受日期: 2018-12-11

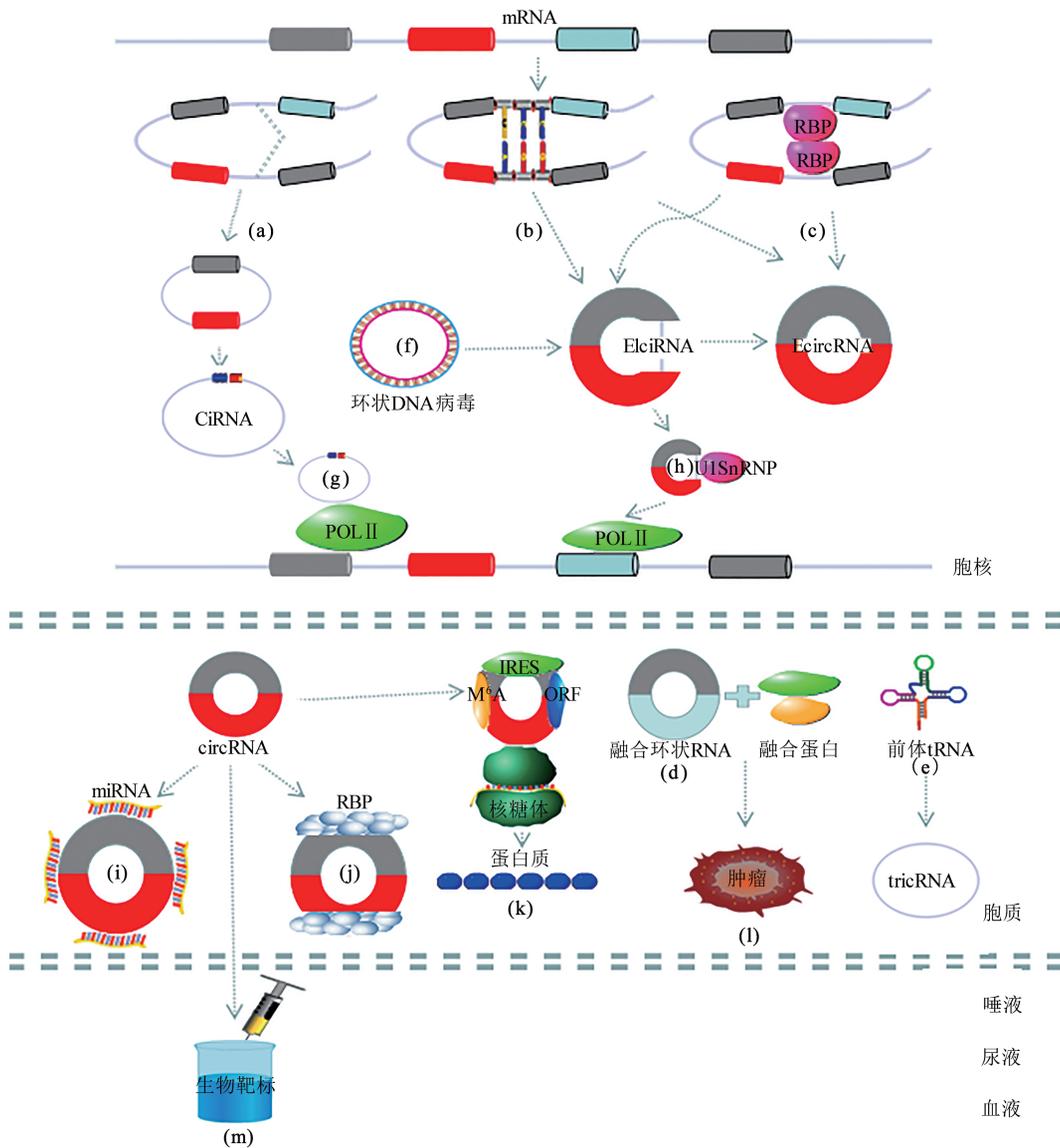


Fig. 1 Formation and biological function of circRNA

图1 circRNA的形成和生物学功能

环状RNA的形成: (a) 基因外显子的共价组合构成套索驱动的环化. (b) 内含子对驱动的双内含子互补对的环化. (c) RNA结合蛋白和反式作用因子促进环化. (d) 染色体易位产生融合环状 RNA. (e) 前体tRNA切割形成tricRNA. (f) 环形DNA病毒基因产生环状RNA. 环状RNA的生物学功能: (g~h) 基因转录的调节; (i) 充当miRNA海绵; (j) 充当RBP海绵; (k) 翻译蛋白质; (l) 融合环状RNA促进肿瘤的发展; (m) 作为生物标志物.

的 circRNA 80% 来源于基因外显子. circRNA 由特殊的可变剪切产生<sup>[12]</sup>, 主要分布于细胞质中, 但也有少数内含子来源的 circRNA 存在于核酸和外泌体中<sup>[13]</sup>, 具有一定的组织和时序特异性, 并且与生理发育和各种肿瘤等疾病密切相关<sup>[14]</sup> (图2). circRNA 既没有游离的 5'和 3'末端, 又无 polyA 尾

结构, 而以共价键形成环状结构, 它的环化并不是可变剪切产生的被动效果, 而是环化外显子侧翼序列或 RNA 结合蛋白结合位点主动介导的. 因此, 与线性 RNA 相比, circRNA 不易被核酸外切酶所降解, 能在体内稳定存在, 具有高度的保守性, 表明 circRNA 具有成为新的诊断标记物的明显优势.

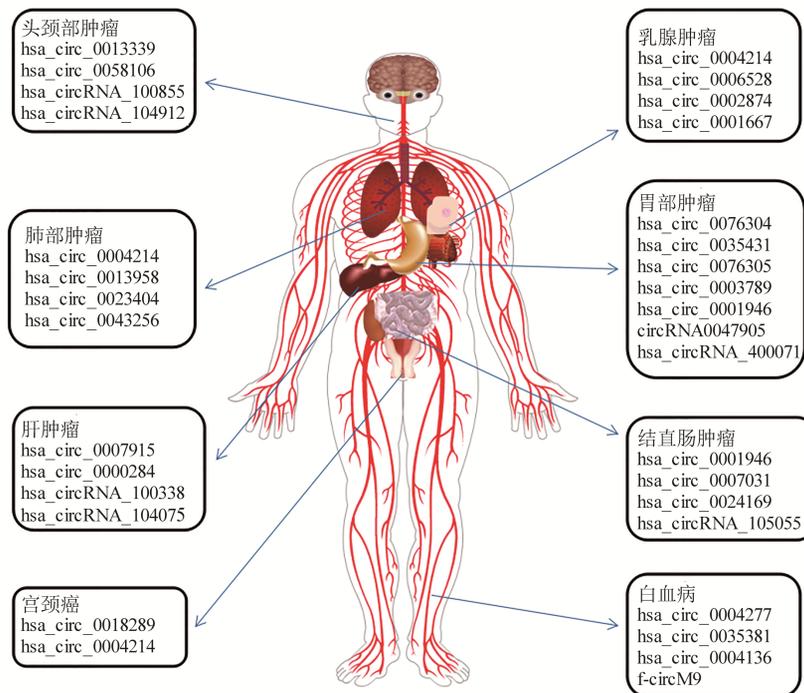


Fig. 2 circRNA and tumor

图2 CircRNA和肿瘤

## 2 生物学功能

### 2.1 circRNA作为竞争性内源RNA ( ceRNA )<sup>[15]</sup>

circRNA 主要作为 miRNA “海绵”，其含有数量和种类不等的 miRNA 应答元件 (MRE)，并通过与 miRNA 结合位点特异性结合吸附特定的 miRNA，竞争性抑制 miRNA 与相应位点的结合，调控下游靶基因的表达。来源于 CDR1 基因的 circRNA (ciRs-7) 可以结合吸附 miR-7，从而降低 miR-7 的活性，间接上调 miR-7 相关靶基因的表达，对兴奋性神经元的突触活动和神经电生理产生影响<sup>[16-18]</sup>。ciRS-7 含有 miR-7 的 MRE 超过 70 个，其 在与 miR-7 竞争性结合后可影响中脑神经组织的发育，促进胰岛素细胞分泌胰岛素以及肝癌和结肠癌的发展，增加心血管疾病发作的风险<sup>[19]</sup>。同样，Zhong 等<sup>[20]</sup> 研究表明 circRNA MYLK 作为竞争性内源 RNA (competing endogenous RNA, ceRNA) 在膀胱癌中发挥重要作用。在膀胱癌细胞系中过表达 circRNA MYLK 可以显著降低 miR-29 a 的表达水平，而敲低 circRNA MYLK 则具有相反的效应，但是 miR-29 a 不影响 circRNA MYLK 的表达。Zheng 等<sup>[21]</sup> 发现，来源于 HIPK3 基因 Exon2 的 circRNA

(circHIPK3) 能够结合 9 种 miRNA 并且找到 18 个潜在结合位点，特异性结合 miR-124 并抑制 miR-124 活性，促进肿瘤细胞的增殖。以上这些发现增加了 ceRNA 网络的复杂性。

### 2.2 circRNA顺式调控亲本基因的表达

circRNA 通过不同方式调控其亲本基因的表达：其一，circRNA 与 RNA 结合蛋白 (RBPs) 相互结合，影响亲本基因的表达；其二，circRNA 在形成过程中，通过内含子间竞争性互补配对与线性 RNA 达成平衡，从而影响 mRNA 的表达，进而影响蛋白质翻译。circRNA 还可以通过 RNA-DNA、RNA-RNA 和 RNA-蛋白质相互作用，建立重要的生物网络而调控靶基因的表达。circRNA 可用于存储、分类或传递 RBPs 到特定的亚细胞位置。研究表明，circRNA 可以稳定地与 RBPs (如 AGO<sup>[15, 21]</sup>) 结合，后者已被证明参与 miRNA 依赖性 或独立的肿瘤发生。Lai 等<sup>[22]</sup> 证明 hsa\_circ\_0047905 和 hsa\_circ\_0138960 与其亲本基因 SERPINB5 和 GDA mRNA 的表达成正相关。敲低胃癌细胞中 hsa\_circ\_0047905 和 hsa\_circ\_0138960 后，亲本基因表达下调。在人类细胞中，由套索内含子产生的 ciRNA 通常在细胞核中积累，并且可以通过与 Pol II 机制相互作用顺式调节其亲本编码基因

的转录(图1g);外显子和内含子来源的可变环化EiCiRNA首先与U1 SnRNP结合形成复合体,进一步与pol II结合促进亲本基因转录(图1h).外显子来源的circRNA可以充当miRNA、RBP海绵(图1i, j),间接发挥调控mRNA表达的作用.

### 2.3 翻译蛋白质的功能

circRNA虽然属于非编码RNA,但有研究表明,有少数circRNA具有翻译蛋白质的功能.Wang等<sup>[23-24]</sup>发现circRNA中存在m<sup>6</sup>A修饰,并且在热休克刺激下该修饰能促进circRNA的翻译.Yang等<sup>[25]</sup>对10例病理诊断为胶质母细胞瘤的标本及其相邻的正常脑组织进行circRNA深度测序,并使用RNA印迹、Sanger测序、抗体和液相色谱Tandem质谱仪等方法,证实circ-FBXW7可以编码一种抑制胶质瘤的蛋白质FBXW7-185aa.同时,Zhang等<sup>[26]</sup>证明在脑胶质瘤病人中来自SHPRH基因的circRNA circ-SHPRH能够编码多肽,研究首次表明人类转录本中存在重叠密码子编码蛋白质产物,该多肽是在跨过接口位点后终止翻译的产物,这项研究再一次更新了科学界对circRNA的认识,对进一步拓展circRNA研究思路提供有力的保障.与此同时,Pamudurti等<sup>[27]</sup>基于果蝇大脑中核糖体印迹分析,发现了大量的circRNA翻译蛋白质或多肽的情况.Legnini等<sup>[28]</sup>介绍发现了环状RNACirc-ZNF609可直接翻译蛋白质,该蛋白质参与肌肉发生过程.Zhang等<sup>[29]</sup>发现Linc-PINT的第二外显子通过自身环化可以形成Circ-PINT,并且证实Circ-PINT通过内部核糖体插入位点(IRES)驱动翻译一个由87个氨基酸组成的全新多肽PINT87aa,其可以抑制恶性胶质瘤的发生发展.此外Sun等<sup>[30]</sup>发现circPVRL3可以通过IRES,开放阅读框(ORF)和m<sup>6</sup>A修饰等结构编码蛋白质(图1k).随着研究的深入,circRNA具有翻译蛋白质功能的研究开始进入人们的视野.

### 2.4 其他功能

在疾病的发展中,circRNA不仅单独起作用,而且还通过其他生理机制发挥作用.circHIPK2以miR-124-2HG为靶点在转录后水平联合自噬及内质网应激,调控星形胶质细胞活化<sup>[31]</sup>.Yu等<sup>[32]</sup>报道发现,circBIRC6参与干细胞多能性调控.circRNA的研究还处于初期阶段,作为一种丰富而保守的非编码RNA,其功能远不止于此,需要进一步研究.

## 3 作为疾病的生物标志物

最近研究表明,circRNA可以在多种癌症中发挥重要作用,在癌症发生发展过程中扮演癌基因或抑癌基因角色,从而作为肿瘤的生物标志物.circRNA具有较强的组织表达特异性<sup>[13]</sup>.Li等<sup>[33]</sup>检测了101例胃癌组织标本,研究发现has-circ-002059在胃癌中异常低表达,且与肿瘤远处转移、淋巴结转移、性别及年龄高度相关,且在细胞中稳定性高,提示其是一个潜在的胃癌诊断标志物.Han等<sup>[34]</sup>分析了circRNA在肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)组织中的表达谱,发现circMTO1低表达患者存活时间短,表明它可能是肿瘤抑制因子,证实miR-9为circMTO1相关的miRNA,发现miR-9可以下调p21,导致HCC细胞增殖和侵袭.有研究报道指出融合环状RNA在癌症中发挥重要作用(图1l).Tan等<sup>[8]</sup>研究发现,融合基因EML4能产生F-circEA,影响非小细胞肺癌细胞的增殖,并且在EML4-ALK阳性的肺癌患者血清中能检测到F-circEA,表明F-circEA可能作为EML4-ALK阳性非小细胞肺癌的诊断标志物.体液检查是一种非侵入性的体外诊断方法,相关研究显示circRNA在入血液、唾液、尿液和外泌体中含量丰富且稳定性高,这些特征使circRNA成为癌症诊断、预后和治疗的非侵入性生物标志物的理想候选者(图1m).Li等<sup>[35]</sup>通过对肝癌细胞外泌体中circRNA进行测序,发现与正常细胞相比,其在外泌体中大量富集且差异明显,同时血清中肿瘤相关circRNA的富集程度与肿瘤的大小相关,表明体液中的circRNA可能是未来疾病诊断和治疗的潜在靶标.

## 4 circRNA在胃癌中的研究进展

胃癌是一种常见的恶性肿瘤,在全球癌症相关死亡原因中排第3位,其愈后与肿瘤分期有关.早期胃癌患者往往无明显症状,确诊时已是胃癌的晚期,因此寻找新的诊断方法以及评估预后指标,确定其特征的生物靶标成为时下的热点及难点.

### 4.1 circRNA与胃癌的发生发展

circRNA与肿瘤的发生和发展密切相关,是一种有前景的生物标志物,甚至是治疗靶点,为肿瘤的治疗提供了新的思路.随着二代测序技术的兴起,检测到超过100万个的circRNA存在于人类组织中,并且大部分在细胞质中,其丰度远超同源线

性RNA. 已有报道 circRNA 与胃癌、肺癌、肝癌、结肠癌、乳腺癌、头颈部肿瘤、宫颈癌、白血病、淋巴瘤等肿瘤疾病的发生发展有关 (表1). 近年来 circRNA 在胃癌中的研究不断增多. Li 等<sup>[36]</sup> 研究发现, circ-104916 在胃癌中低表达, 且与肿瘤浸润深度、分期和淋巴结转移呈负相关, 其低表达降低了对 N-cadherin、Vimentin 和 Slug 的抑制作用, 从而促进胃癌转移及侵袭. 胃癌相关差异 circRNA 与其互作基因联合分析发现, circRNA 可以通过竞争结合 miRNA 对目标基因进行调控. Zhang 等<sup>[37]</sup> 研究发现 circLARP4 主要存在于细胞质中, 通过竞争性结合 miR-424 抑制胃癌的侵袭和转移. Lai 等<sup>[22]</sup> 通过功能测定实验发现抑制 hsa\_circ\_0047905、hsa\_circ\_0138960 和 has-circRNA7690-15 的表达可以抑制胃癌细胞增殖和侵袭. Zhou 等<sup>[38]</sup> 发现 circRNA-0023642 在胃癌组织和细胞系中上调. 其异常表达可以促进胃癌细胞增殖、迁移和侵袭以及诱导细胞凋亡. 此外 circRNA-0023642 还可以通过促进 EMT 作为转移激活剂从而促进胃癌的发展. Sun 等<sup>[30]</sup> 通过胃癌细胞系 MKN-45 和 MGC-803 体外测定证明, 敲低 circPVRL3 显著促进胃癌细胞增殖. Sui 等<sup>[39]</sup> 发现 CD44、CXXC5、MYH9、MALAT1 差异表达基因可通过 circRNA 和 miRNA 之间以及 miRNA 和 mRNA 之间的相互作用等多种机制促进胃癌的发生. 此外, Ming 等发现, circRNA 可以存在于外泌体中, 其可能通过外泌体参与胃癌疾病的发生及转移 (Yan Y, *et al.* Scand J Gastroenterol, 2017, 52(5): 499-504).

#### 4.2 circRNA 与胃癌的诊断

circRNA 在胃癌的诊断中也发挥重要的作用. Xie 等<sup>[40]</sup> 采用 RT-PCR 检测 127 例胃癌组织及癌旁相对正常组织, 83 例胃炎组织及 6 例胃癌细胞株中 hsa\_circ\_074362 的表达水平. 结果显示, 胃癌组织、胃炎组织和胃癌细胞株中 hsa\_circ\_0074362 表达水平显著下调, 并且其表达水平与淋巴结转移有关. 表明 hsa\_circ\_0074362 可能在胃癌的发生中起作用并且可能是胃癌的潜在生物标志物. Chen 等<sup>[41]</sup> 采用 qRT-PCR 检测 104 例配对胃癌组织及癌旁组织和 104 例配对胃癌患者血浆标本及健康标本中 hsa\_circ\_000190 的表达水平. 发现 hsa\_circ\_0000190 在胃癌组织和胃癌患者血浆样品中下调, 其表达水平与肿瘤直径、淋巴结转移、TNM 分期和 CA19-9 水平有关. 这些结果表明 hsa\_circ\_0000190 可能是胃癌诊断的新型非侵入性生物标志

物. 此外, Tang 等<sup>[42]</sup> 通过高通量测序和微阵列分析不同 TNM 分期的 10 个胃癌患者和 5 个作为对照的健康个体血浆样品中 circRNA 的表达差异谱. 结果显示, 与正常对照相比, 胃癌患者血浆中 circ-KIAA1244 的表达降低且与 TNM 分期和淋巴转移呈负相关. 并且作者发现 circ-KIAA1244 还可以在胃癌血浆外泌体中检测到, 揭示 circ-KIAA1244 可能是用于诊断胃癌的新型循环生物标志物. Shao 等<sup>[43]</sup> 发现 hsa\_circ\_0001895 在胃癌细胞中的表达水平均显著低于正常胃上皮 GES-1 细胞, 且在胃癌

Table 1 CircRNA and tumor

表1 circRNA 和肿瘤

circRNA 名称	肿瘤类型	亲本基因	表达变化	参考文献
hsa_circ_0001946	胃癌	CDR1	上调	[44]
hsa_circ_0003789	胃癌	TSN	上调	[45]
hsa_circ_0035431	胃癌	CGNL1	下调	[46]
hsa_circ_0076304	胃癌	PGC	下调	[46]
hsa_circ_0076305	胃癌	PGC	下调	[47]
hsa_circRNA_400071	胃癌	未说明	上调	[39]
circRNA0047905	胃癌	SERPINB5	上调	[22]
hsa_circ_0004214	肺癌	Amot11	上调	[47]
hsa_circ_0013958	肺癌	ACP6	上调	[48]
hsa_circ_0023404	肺癌	RNF121	上调	[49]
hsa_circ_0043256	肺癌	ACACA	上调	[50]
hsa_circ_0004214	乳腺癌	Amot11	上调	[47]
hsa_circ_0006528	乳腺癌	PRELID2	上调	[51]
hsa_circ_0002874	乳腺癌	GLIS3	上调	[51]
hsa_circ_0001667	乳腺癌	HEATR2	上调	[51]
hsa_circ_0007915	肝癌	IPO11	上调	[52]
hsa_circ_0000284	肝癌	HIPK3	上调	[53]
hsa_circRNA_100338	肝癌	SNX27	上调	[54]
hsa_circRNA_104075	肝癌	NUP153	上调	[54]
hsa_circ_0001946	结直肠癌	CDR1	上调	[55]
hsa_circ_0007031	结直肠癌	TUBGCP3	上调	[56]
hsa_circ_0024169	结直肠癌	CUL5	下调	[57]
hsa_circRNA_105055	结直肠癌	未说明	上调	[58]
hsa_circ_0018289	宫颈癌	SYT15	上调	[59]
hsa_circ_0004214	宫颈癌	Amot11	上调	[47]
hsa_circ_0013339	头颈部肿瘤	SLC30A7	上调	[60]
hsa_circRNA_100855	头颈部肿瘤	未说明	上调	[61]
hsa_circRNA_104912	头颈部肿瘤	未说明	下调	[61]
hsa_circ_0058106	头颈部肿瘤	FN1	上调	[62]
hsa_circ_0004277	白血病	WDR37	下调	[63]
hsa_circ_0035381	白血病	PIGB	上调	[63]
hsa_circ_0004136	白血病	KCNQ5	上调	[63]
f-circM9	白血病	NA	上调	[9]

癌前病变中也出现下调. 进一步研究发现 hsa\_circ\_0001895 的表达水平与细胞分化、Borrmann 分型和 CEA 表达显著相关. 此外, Shao 等还通过 circRNA 芯片分析胃癌中的 circRNA 表达谱, 共发现 308 个 circRNA, 其中 107 个表达上调, 201 个表达下调, 其中 hsa\_circ\_0014717 在大部分胃癌组织中显著下调, 并且在胃癌组织中的表达与肿瘤分期、远端转移、组织 CEA 和 CA199 表达有关. 另外, hsa\_circ\_0014717 还可以稳定存在于体液中, 在胃癌筛查中具有潜在的应用价值, 有可能成为筛选高危胃癌患者的新型生物标志物.

### 4.3 circRNA 与胃癌的治疗和预后

尽管胃癌在诊断和治疗方面取得了许多进展, 但是胃癌患者的预后仍然很差, 因此发现新的分子机制和治疗靶点, 并对预后提出预测价值十分重要. Zhang 等<sup>[64]</sup> 研究显示, circRNA-100269 及其线性异构体的表达水平在胃癌组织中下调, 并通过靶向 miR-630 抑制肿瘤细胞生长, 其下游目标 miR-630 表达与 circRNA-100269 表达呈负相关, 表明 circRNA 可以通过类似 circRNA-100269-miR-630 信号传导途径在胃癌诊断和治疗中发挥作用. Huang 等<sup>[65]</sup> 研究显示, circRNA-0026 在胃癌中低表达, 并且可调控胃癌的 RNA 转录、RNA 代谢、基因表达、基因沉默等生物学功能, 表明 circRNA-0026 是胃癌诊断和靶向治疗的有希望的生物标志物. 随着技术的不断成熟, 已有研究发现人造 circRNA 海绵<sup>[66]</sup> 可以吸附 miR-21 抑制胃癌细胞的增殖, 为胃癌的分子治疗提供新的方法. miR-125 作为经典的抑癌分子, Chen 等<sup>[67]</sup> 研究发现 circPVT1 具有结合 miR-125 家族分子的功能, 竞争性结合内源 miR-125, 从而增强细胞的增殖能力. 此外, circPVT1 可独立于肿瘤大小、TNM 分期等指标作为胃癌预后指标, 并且报告显示, 与 circPVT1 低表达和 PVT1 高表达的患者相比, 具有高表达 circPVT1 和低表达 PVT1 的患者生存率明显升高, 通过联合检测 circPVT1 与 PVT1 的表达水平作为胃癌的预后指标更有价值. Zhang 等<sup>[37]</sup> 研究发现 circLARP4 在胃癌组织中表达下调, 是胃癌患者总生存时间的独立预后因子. Tang 等<sup>[42]</sup> 研究显示, 胃癌患者血浆中 circ-KIAA1244 的表达降低, 并且与胃癌患者的总生存呈正相关. 临床数据表明, 胃癌复发常出现在三期患者接受根治性切除术后一年内, Zhang

等<sup>[68]</sup> 利用芯片筛选得到的 46 个差异 circRNA, 通过分析发现 circRNA 可作为三期胃癌根治术后的预后因子. 虽然 circRNA 在胃癌的发生发展、诊断、治疗及预后过程中扮演重要角色, 但由于 circRNA 的研究才刚刚起步, 技术和功能研究还不够成熟, circRNA 逆转录时存在滚环扩增现象且有些 circRNA 表达丰度较低, 检测难度较大, 所以 circRNA 与胃癌的关系还需更进一步的研究.

## 5 circRNA 在胃癌中的研究策略

随着 circRNA 研究的不断深入, 技术不断成熟以及数据库和分析工具的开发, circRNA 在胃癌中的研究日益完善. 我们可以采用全转录组测序和微阵列分析筛选出胃癌组织、血液、唾液、尿液以及对照组中的差异 circRNA 分子. 通过 PCR、原位杂交、RNA 印迹等分子实验方法进行验证, 分析 circRNA 的表达情况和亚细胞定位. 以及通过过表达或敲除实验进行 circRNA 的功能研究. 或者通过生物信息学方法进行预测分析, 结合 RNA 质谱、RNA 免疫沉淀、荧光素酶报告基因实验、RNA 下拉实验探索 circRNA 与 miRNA 或者 circRNA 与蛋白质之间关系. 此外, 我们还可以通过生物信息学方法分析 circRNA 是否具有 m<sup>6</sup>A 修饰、ORF 和 IRES 等蛋白质翻译相关元件, 进一步研究 circRNA 翻译蛋白质的功能. 目前已经开发了很多的数据库和分析工具供研究者使用 (表 2, 表 3). circBase 是一个通过收集和整合已经发布的 circRNA 数据构建的数据库. 目前该数据库收集 6 个物种的 circRNA 信息, 通过在搜索界面中的 list search 提交 circBase 支持的 circRNA ID 号或基因组区域位置信息, 可以快速查询相关 circRNA 信息, 也可以进行条件设置, 筛选自己所需要的 circRNA 数据. CSCD 是一个肿瘤特异性 circRNA 数据库. 该数据库收集了 87 种细胞系 (包括胃癌细胞) 的 circRNA 数据. 总共汇总得到了 272 152 种肿瘤特异性的 circRNAs, 并且给出了基因界面和 circRNA 界面的信息, 为胃癌中 circRNA 的研究创造了条件. 随着对 circRNA 研究的不断深入, 针对 circRNA 研究的数据库和工具在不断的更新. 其实用性以及对于科研课题数据的挖掘可以起到事半功倍的作用, 为 circRNA 在胃癌中的研究方法、技术路线、可视化等提供思路和指导.

Table 2 Online circRNA databases

表2 环状RNA在线数据库

名称	功能	链接	PMID
Circbank	circRNA综合数据库	<a href="http://www.circbank.cn/">http://www.circbank.cn/</a>	25234927
Circbase	circRNA综合数据库	<a href="http://www.circbase.org/">http://www.circbase.org/</a>	25234927
Circpedia v2	注释反向剪接和可变剪接	<a href="http://www.picb.ac.cn/rnomics/circpedia/">http://www.picb.ac.cn/rnomics/circpedia/</a>	27365365
CircRNADisease	整合已有实验支持的疾病特异circRNA	<a href="http://cgga.org.cn:9091/circRNADisease/">http://cgga.org.cn:9091/circRNADisease/</a>	29700306
TSCD	人和鼠组织特异circRNA	<a href="http://gb.whu.edu.cn/TSCD/">http://gb.whu.edu.cn/TSCD/</a>	27543790
CSCD	癌症特异circRNA	<a href="http://gb.whu.edu.cn/CSCD/">http://gb.whu.edu.cn/CSCD/</a>	29036403
Circnet	circRNA-miRNA-gene调控网络	<a href="http://circnet.mbc.nctu.edu.tw/">http://circnet.mbc.nctu.edu.tw/</a>	26450965
Circinteractom	引物设计、结合位点预测	<a href="https://circinteractome.ircp.nia.nih.gov/">https://circinteractome.ircp.nia.nih.gov/</a>	26669964
ORF Finder	翻译蛋白功能预测	<a href="https://www.ncbi.nlm.nih.gov/orffinder/">https://www.ncbi.nlm.nih.gov/orffinder/</a>	11814675
IRESite	翻译蛋白功能预测	<a href="http://iresite.org/IRESite_web.php">http://iresite.org/IRESite_web.php</a>	19917642
Primerbank	特异引物设计和现有引物查询	<a href="https://pga.mgh.harvard.edu/primerbank/index.html">https://pga.mgh.harvard.edu/primerbank/index.html</a>	22086960
Circ2Traits	人类疾病相关circRNA数据库	<a href="http://gyanxet-beta.com/circdb/">http://gyanxet-beta.com/circdb/</a>	24339831
Starbase v3.0	miRNA-circRNA 相互作用	<a href="http://starbase.sysu.edu.cn/index.php">http://starbase.sysu.edu.cn/index.php</a>	24297251
Deepbase v2.0	深度测序获得的miRNA、lncRNA和circRNA的数据库	<a href="http://deepbase.sysu.edu.cn/">http://deepbase.sysu.edu.cn/</a>	26590255
ExoRBase	人类血液特异circRNA、lncRNA and mRNA	<a href="http://www.exoRBase.org">http://www.exoRBase.org</a>	30053265

Table 3 Circular RNA analysis tool

表3 环状RNA分析工具

名称	作用	运行系统	PMID
CircPro	鉴定具有蛋白质编码潜力的circRNA	Mac OS X or Linux	29028266
ISEScan	内部核糖体进入位点分析工具	Linux	29077810
Pfam 31.0	预测蛋白质编码潜力	Java	26673716
CircView	circRNA可视化探索工具	Java	29106456
CIRI-AS	circRNA的鉴定	Perl	25583365
Sailfish-cir	定量circRNA表达	Python	28334396
CircPrimer	注释circRNA并确定circRNA引物的特异性	Java	30075703

## 6 circRNA研究中存在的问题

circRNA 研究中的技术还不是很成熟,而且 circRNA 的鉴定、定量和验证,以及过表达和沉默都依赖于特定的背拼接连接,对生物和实验条件特别敏感,造成实验的失败和假阳性的出现.在研究 circRNA 过程中,研究人员通过采用第二代测序的 RNA-Seq 技术,极大地提高了研究转录组的能力,并且开发了用于多种线性 RNA 分子 RNA 拼接的信息学分析算法.但如何提高 RNA 拼接检测的准确性依旧十分困难,从一些实验结果来看,仍然存在着信息学分析结果与实验结果不能对应的情况<sup>[69]</sup>.其次, circRNA 的量化并不容易,必须通过 RT-qPCR 进行特定连接的定量.一方面,如果仅对线性 RNA 进行分析,不考虑环状 RNA 的情况,仍有可能出现假阴性结果;另一方面,如果充分考虑环

状 RNA,则 RNA 拼接分析的准确性会更低.在样品制备中,样品的纯度、RNA 和 cDNA 水平分子大小过滤,以及样品碎片和添加程序中都可能存在假阳性.在随后的逆转录和数据库构建也可能导致人为干扰,从而出现假阳性结果<sup>[70]</sup>.在 RNA-Seq 分析中,相同 RNA 序列的不同位点之间的定位效率通常存在很大差异,其原因仍不清楚<sup>[71]</sup>.如何在实验过程中降低假阳性,使实验的可靠性和成功率获得提高,需要未来进一步的研究和探索.

## 7 展 望

circRNAs 作为一种新型 RNA 分子,具有重要的分子生物学功能和作为分子生物标志物的潜力.近年来,对 circRNA 研究不断深入,进一步对其功能和机制研究尤为重要.例如: circRNA 与所在基因在转录水平、转录后水平等不同层次的相互关系

的研究;除了m<sup>6</sup>A修饰,其他修饰类型是否也可存在于circRNA中,以及对这些修饰相关的病理生理机制的研究;circRNA进入外泌体可能存在选择性,对其机制和病理生理意义的研究;circRNA亚细胞定位的机制以及circRNA组织/疾病特异性表达形成原因的研究.在肿瘤研究中,circRNA在肿瘤的发生发展中发挥重要作用.特别是circRNA在肿瘤诊断、预后和治疗中显示出巨大的潜力.由于circRNA含量丰富且高度稳定等特征,作为肿瘤的生物标志物,circRNA可以对某些类型的肿瘤进行早期筛查,显著增加患者生存率.circRNA有望开启肿瘤诊断和治疗的新篇章.

### 参 考 文 献

- [1] Chen L L, Yang L. Regulation of circRNA biogenesis. *RNA Biol*, 2015, **12**(4): 381-388
- [2] Diener T O. Potato spindle tuber "virus". IV. A replicating, low molecular weight RNA. *Virology*, 1971, **45**(2): 411-428
- [3] Grabowski P J, Zaug A J, Cech T R. The intervening sequence of the ribosomal RNA precursor is converted to a circular RNA in isolated nuclei of Tetrahymena. *Cell*, 1981, **23**(2): 467-476
- [4] Pasman Z, Been M D, Garcia-Blanco M A. Exon circularization in mammalian nuclear extracts. *RNA*, 1996, **2**(6): 603-610
- [5] Kristensen L S, Hansen T B, Venø M T, *et al.* Circular RNAs in cancer: opportunities and challenges in the field. *Oncogene*, 2018, **37**(5): 555-565
- [6] Wilusz J E, Sharp P A. Molecular biology. A circuitous route to noncoding RNA. *Science*, 2013, **340**(6131): 440-441
- [7] Wu Q, Wang Y, Cao M, *et al.* Homology-independent discovery of replicating pathogenic circular RNAs by deep sequencing and a new computational algorithm. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, **109**(10): 3938-3943
- [8] Tan S, Gou Q, Pu W, *et al.* Circular RNA F-circEA produced from EML4-ALK fusion gene as a novel liquid biopsy biomarker for non-small cell lung cancer. *Cell Res*, 2018, **28**(6): 693-695
- [9] Guarnerio J, Bezzi M, Jeong J C, *et al.* Oncogenic role of fusion-circRNAs derived from cancer-associated chromosomal translocations. *Cell*, 2016, **166**(4): 1057-1057
- [10] Noto J J, Schmidt C A, Matera A G. Engineering and expressing circular RNAs via tRNA splicing. *RNA Biol*, 2017, **14**(8): 978-984
- [11] Toptan T, Abere B, Nalesnik M A, *et al.* Circular DNA tumor viruses make circular RNAs. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2018, **115**(37): E8737-E8745
- [12] Zhang X O, Dong R, Zhang Y, *et al.* Diverse alternative back-splicing and alternative splicing landscape of circular RNAs. *Genome Res*, 2016, **26**(9): 1277-1287
- [13] Lasda E, Parker R. Circular RNAs co-precipitate with extracellular vesicles: a possible mechanism for circRNA clearance. *Plos One*, 2016, **11**(2): e0148407
- [14] Aktas T, Avsar Ilik I, Maticzka D, *et al.* DHX9 suppresses RNA processing defects originating from the Alu invasion of the human genome. *Nature*, 2017, **544**(7648): 115-119
- [15] Memczak S, Jens M, Eleftheriadi A, *et al.* Circular RNAs are a large class of animal RNAs with regulatory potency. *Nature*, 2013, **495**(7441): 333-338
- [16] Hansen T B, Kjems J, Damgaard C K. Circular RNA and miR-7 in cancer. *Cancer Res*, 2013, **73**(18): 5609-5612
- [17] Hansen T B. Characterization of circular RNA concatemers. *Methods Mol Biol*, 2018, **1724**: 143-157
- [18] Li T R, Jia Y J, Wang Q, *et al.* Circular RNA: a new star in neurological diseases. *Int J Neurosci*, 2017, **127**(8): 726-734
- [19] Piwecka M, Glazar P, Hernandez-Miranda L R, *et al.* Loss of a mammalian circular RNA locus causes miRNA deregulation and affects brain function. *Science*, 2017, **357**(6357): pii: eaam8526. doi: 10.1126/science.aam8526
- [20] Zhong Z Y, Huang M G, Lv M X, *et al.* Circular RNA MYLK as a competing endogenous RNA promotes bladder cancer progression through modulating VEGFA/VEGFR2 signaling pathway. *Cancer Letters*, 2017, **403**: 305-317
- [21] Zheng Q, Bao C, Guo W, *et al.* Circular RNA profiling reveals an abundant circHIPK3 that regulates cell growth by sponging multiple miRNAs. *Nat Commun*, 2016, **7**: 11215
- [22] Lai Z, Yang Y, Yan Y, *et al.* Analysis of co-expression networks for circular RNAs and mRNAs reveals that circular RNAs hsa\_circ\_0047905, hsa\_circ\_0138960 and has-circRNA7690-15 are candidate oncogenes in gastric cancer. *Cell Cycle*, 2017, **16**(23): 2301-2311
- [23] Yang Y, Fan X, Mao M, *et al.* Extensive translation of circular RNAs driven by N(6)-methyladenosine. *Cell Res*, 2017, **27**(5): 626-641
- [24] Zhou C, Molinie B, Daneshvar K, *et al.* Genome-wide maps of m<sup>6</sup>A circRNAs identify widespread and cell-type-specific methylation patterns that are distinct from mRNAs. *Cell Rep*, 2017, **20**(9): 2262-2276
- [25] Yang Y, Gao X, Zhang M, *et al.* Novel role of FBXW7 circular RNA in repressing glioma tumorigenesis. *J Natl Cancer Inst*, 2018, **110**(3), doi: 10.1093/jnci/djx166
- [26] Zhang M, Huang N, Yang X, *et al.* A novel protein encoded by the circular form of the SHPRH gene suppresses glioma tumorigenesis. *Oncogene*, 2018, **37**(13): 1805-1814
- [27] Pamudurti N R, Bartok O, Jens M, *et al.* Translation of circRNAs. *Mol Cell*, 2017, **66**(1): 9-21 e27
- [28] Legnini I, Di Timoteo G, Rossi F, *et al.* Circ-ZNF609 is a circular RNA that can be translated and functions in myogenesis. *Molecular Cell*, 2017, **66**(1): 22-37
- [29] Zhang M, Zhao K, Xu X, *et al.* A peptide encoded by circular form of LINC-PINT suppresses oncogenic transcriptional elongation in glioblastoma. *Nat Commun*, 2018, **9**(1): 4475
- [30] Sun H D, Xu Z P, Sun Z Q, *et al.* Down-regulation of circPVRL3 promotes the proliferation and migration of gastric cancer cells. *Sci Rep*, 2018, **8**(1): 10111
- [31] Huang R, Zhang Y, Han B, *et al.* Circular RNA HIPK2 regulates astrocyte activation via cooperation of autophagy and ER stress by targeting MIR124-2HG. *Autophagy*, 2017, **13**(10): 1722-1741
- [32] Yu C Y, Li T C, Wu Y Y, *et al.* The circular RNA circBIRC6 participates in the molecular circuitry controlling human pluripotency. *Nat Commun*, 2017, **8**(1): 1149
- [33] Li P, Chen S, Chen H, *et al.* Using circular RNA as a novel type of biomarker in the screening of gastric cancer. *Clin Chim Acta*, 2015, **444**: 132-136
- [34] Han D, Li J, Wang H, *et al.* Circular RNA circMTO1 acts as the sponge of microRNA-9 to suppress hepatocellular carcinoma progression. *Hepatology*, 2017, **66**(4): 1151-1164

- [35] Li Y, Zheng QP, Bao C Y, *et al.* Circular RNA is enriched and stable in exosomes: a promising biomarker for cancer diagnosis. *Cell Research*, 2015, **25**(8): 981-984
- [36] Li J, Zhen L, Zhang Y, *et al.* Circ-104916 is downregulated in gastric cancer and suppresses migration and invasion of gastric cancer cells. *Onco Targets Ther*, 2017, **10**:3521-3529
- [37] Zhang J, Liu H, Hou L, *et al.* Circular RNA\_LARP4 inhibits cell proliferation and invasion of gastric cancer by sponging miR-424-5p and regulating LATS1 expression. *Mol Cancer*, 2017, **16**(1): 151
- [38] Zhou L H, Yang Y C, Zhang R Y, *et al.* CircRNA\_0023642 promotes migration and invasion of gastric cancer cells by regulating EMT. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018, **22**(8): 2297-2303
- [39] Sui W, Shi Z, Xue W, *et al.* Circular RNA and gene expression profiles in gastric cancer based on microarray chip technology. *Oncol Rep*, 2017, **37**(3): 1804-1814
- [40] Xie Y, Shao Y, Sun W, *et al.* Downregulated expression of hsa\_circ\_0074362 in gastric cancer and its potential diagnostic values. *Biomark Med*, 2018, **12**(1): 11-20
- [41] Chen S J, Li T W, Zhao Q F, *et al.* Using circular RNA hsa\_circ\_0000190 as a new biomarker in the diagnosis of gastric cancer. *Clinica Chimica Acta*, 2017, **466**:167-171
- [42] Tang W W, Fu K, Sun H D, *et al.* CircRNA microarray profiling identifies a novel circulating biomarker for detection of gastric cancer. *Molecular Cancer*, 2018, **17**(1):137
- [43] Shao Y, Chen L, Lu R, *et al.* Decreased expression of hsa\_circ\_0001895 in human gastric cancer and its clinical significances. *Tumour Biol*, 2017, **39**(4): 1010428317699125
- [44] Pan H, Li T, Jiang Y, *et al.* Overexpression of circular RNA ciRS-7 abrogates the tumor suppressive effect of miR-7 on gastric cancer via PTEN/PI3K/AKT signaling pathway. *J Cell Biochem*, 2018, **119**(1): 440-446
- [45] Shao Y, Li J, Lu R, *et al.* Global circular RNA expression profile of human gastric cancer and its clinical significance. *Cancer Med*, 2017, **6**(6): 1173-1180
- [46] Dang Y, Ouyang X, Zhang F, *et al.* Circular RNAs expression profiles in human gastric cancer. *Sci Rep*, 2017, **7**(1): 9060
- [47] Yang Q, Du W W, Wu N, *et al.* A circular RNA promotes tumorigenesis by inducing c-myc nuclear translocation. *Cell Death Differ*, 2017, **24**(9): 1609-1620
- [48] Zhu X, Wang X, Wei S, *et al.* hsa\_circ\_0013958: a circular RNA and potential novel biomarker for lung adenocarcinoma. *FEBS J*, 2017, **284**(14): 2170-2182
- [49] Yao J T, Zhao S H, Liu Q P, *et al.* Over-expression of CircRNA\_100876 in non-small cell lung cancer and its prognostic value. *Pathol Res Pract*, 2017, **213**(5): 453-456
- [50] Tian F, Yu C T, Ye W D, *et al.* Cinnamaldehyde induces cell apoptosis mediated by a novel circular RNA hsa\_circ\_0043256 in non-small cell lung cancer. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, **493**(3): 1260-1266
- [51] Gao D, Zhang X, Liu B, *et al.* Screening circular RNA related to chemotherapeutic resistance in breast cancer. *Epigenomics*, 2017, **9**(9): 1175-1188
- [52] Ren S, Xin Z, Xu Y, *et al.* Construction and analysis of circular RNA molecular regulatory networks in liver cancer. *Cell Cycle*, 2017, **16**(22): 2204-2211
- [53] Zheng Q P, Bao C Y, Guo W J, *et al.* Circular RNA profiling reveals an abundant circHIPK3 that regulates cell growth by sponging multiple miRNAs. *Nature Communications*, 2016, **7**:11215
- [54] Huang X Y, Huang Z L, Xu Y H, *et al.* Comprehensive circular RNA profiling reveals the regulatory role of the circRNA-100338/miR-141-3p pathway in hepatitis B-related hepatocellular carcinoma. *Sci Rep*, 2017, **7**(1): 5428
- [55] Weng W, Wei Q, Toden S, *et al.* Circular RNA ciRS-7-A promising prognostic biomarker and a potential therapeutic target in colorectal cancer. *Clin Cancer Res*, 2017, **23**(14): 3918-3928
- [56] Xiong W, Ai Y Q, Li Y F, *et al.* Microarray analysis of circular RNA expression profile associated with 5-fluorouracil-based chemoradiation resistance in colorectal cancer cells. *Biomed Res Int*, 2017, **2017**:8421614
- [57] Bachmayr-Heyda A, Reiner A T, Auer K, *et al.* Correlation of circular RNA abundance with proliferation - exemplified with colorectal and ovarian cancer, idiopathic lung fibrosis, and normal human tissues. *Sci Rep-Uk*, 2015, **5**:8057
- [58] Zeng Y, Xu Y, Shu R, *et al.* Altered expression profiles of circular RNA in colorectal cancer tissues from patients with lung metastasis. *Int J Mol Med*, 2017, **40**(6): 1818-1828
- [59] Gao Y L, Zhang M Y, Xu B, *et al.* Circular RNA expression profiles reveal that hsa\_circ\_0018289 is up-regulated in cervical cancer and promotes the tumorigenesis. *Oncotarget*, 2017, **8**(49): 86625-86633
- [60] Chen L, Zhang S, Wu J, *et al.* circRNA\_100290 plays a role in oral cancer by functioning as a sponge of the miR-29 family. *Oncogene*, 2017, **36**(32): 4551-4561
- [61] Xuan L, Qu L, Zhou H, *et al.* Circular RNA: a novel biomarker for progressive laryngeal cancer. *Am J Transl Res*, 2016, **8**(2): 932-939
- [62] Cao S, Wei D, Li X, *et al.* Novel circular RNA expression profiles reflect progression of patients with hypopharyngeal squamous cell carcinoma. *Oncotarget*, 2017, **8**(28): 45367-45379
- [63] Li W, Zhong C Q, Jiao J, *et al.* Characterization of hsa\_circ\_0004277 as a new biomarker for acute myeloid leukemia via circular RNA profile and bioinformatics analysis. *Int J Mol Sci*, 2017, **18**(3), pii: E597. doi: 10.3390/ijms18030597
- [64] Zhang Y, Liu H, Li W, *et al.* CircRNA\_100269 is downregulated in gastric cancer and suppresses tumor cell growth by targeting miR-630. *Aging (Albany NY)*, 2017, **9**(6): 1585-1594
- [65] Huang Y S, Jie N, Zou K J, *et al.* Expression profile of circular RNAs in human gastric cancer tissues. *Molecular Medicine Reports*, 2017, **16**(3): 2469-2476
- [66] Liu X, Abraham J M, Cheng Y, *et al.* Synthetic circular RNA functions as a miR-21 sponge to suppress gastric carcinoma cell proliferation. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2018, **13**:312-321
- [67] Chen J, Li Y, Zheng Q, *et al.* Circular RNA profile identifies circPVT1 as a proliferative factor and prognostic marker in gastric cancer. *Cancer Lett*, 2017, **388**:208-219
- [68] Zhang Y, Li J, Yu J, *et al.* Circular RNAs signature predicts the early recurrence of stage III gastric cancer after radical surgery. *Oncotarget*, 2017, **8**(14): 22936-22943
- [69] Engstrom P G, Steijger T, Sipos B, *et al.* Systematic evaluation of spliced alignment programs for RNA-seq data. *Nat Methods*, 2013, **10**(12): 1185-1191
- [70] Yu C Y, Liu H J, Hung L Y, *et al.* Is an observed non-co-linear RNA product spliced in trans, in cis or just *in vitro*? *Nucleic Acids Res*, 2014, **42**(14): 9410-9423
- [71] Lahens N F, Kavakli I H, Zhang R, *et al.* IVT-seq reveals extreme bias in RNA sequencing. *Genome Biol*, 2014, **15**(6): R86

## Circular RNA and Its Research Status and Research Strategies in Gastric Cancer\*

WANG Pan<sup>1)</sup>, XU Gao-Sheng<sup>2)</sup>, MA Wei<sup>2)</sup>, YE Dong-Mei<sup>1)</sup>, LI Yu-Xuan<sup>1)</sup>,  
LUO Wei-Ru<sup>3)</sup>, XIAO Yi-Yang<sup>3)</sup>, ZHANG Zhi-Wei<sup>1)\*\*</sup>

<sup>1)</sup>Cancer Research Institute of Hengyang Medical College, University of South China;

Key Laboratory of Cancer Cellular and Molecular Pathology in Hunan Province, Hengyang 421001, China;

<sup>2)</sup>Yueyang Maternal and Child Health Hospital, Yueyang 421001, China;

<sup>3)</sup>Clinical Medicine Excellent Undergraduate of Medical College, University of South China, Hengyang 421001, China)

**Abstract** Circular RNA (circRNA) is a type of covalently closed non-coding RNA that may regulate gene expression in eukaryotes. The recent application of high-throughput RNA sequencing and bioinformatics approaches has revealed a large number of circRNAs in human cells. Emerging evidence indicates that many circRNAs have tissue and timing specificity and are linked to physiological development and various diseases. circRNAs have also been shown to be enriched and stable in extracellular fluid, indicating the potential of circRNAs as cancer biomarkers. Gastric cancer is one of the most common human cancers, and its the third most common cancer-related cause of death worldwide. Despite many advances in the diagnosis and treatment of this disease, the prognosis of patients with GC remains poor, with a 5-year overall survival of less than 30% in most countries. Therefore, the discovery of new molecular mechanisms and therapeutic targets that may control the severity of GC and present a predictive value for prognosis is of great importance. CircRNA has been increasingly studied in gastric cancer in recent years and plays an important role in the development, diagnosis, treatment and prognosis of gastric cancer. Here, we summarize the current knowledge about circRNAs, including their production mechanisms and general characteristics, biological functions, and their research progress in gastric cancer and problems in the research.

**Key words** circRNA, gastric cancer, tumor biomarker, tumor diagnosis

**DOI:** 10.16476/j.pibb.2018.0216

---

\* This work was supported by grants from The Hunan Provincial Groundbreaking Platform Open Fund of University of China (12K094), Doctoral Research Fund of University of South China (2016XQD21), Student Research Learning and Innovative Experimental Project of University of South China (2016NH055XJXZ, 2017 XJXZ 030), the Hunan Provincial Key Subject Fund of Basic Medical Sciences at University of South China, Yueyang Maternal and Child Health Hospital Horizontal Cooperation Project (2018KH43)

\*\* Corresponding author.

Tel: 86-734-8281075, E-mail: nhdzww@qq.com

Received: August 6, 2018 Accepted: December 11, 2018