Medical Science Journal of Islamic Azad University Vol. 29, No.3, Autumn 2019 REVIEW ARTICLE

Circular RNA: features, functions and their correlation with diseases especially cancer

***Mohammad Reza Noori-Daloii*[1], *Sima Emadi Allahyari*[2]**
[1]*Professor, PhD of Medical Molecular Genetics, Department of Medical Genetics, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran*
[2]*MSC student of Human Genetics, Department of Medical Genetics, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran*

Abstract

In early 2012, the world of science saw a fascinating discovery called circular RNA as a transcription product of thousands of genes in mice and humans. These circular RNAs have recently been grouped as the encoding RNA in an independent group that their remarkable difference with other RNAs is that these RNAs are not linear, in which two ends connect with a covalent connection creating a loop-shaped structure. These molecules play a role in regulating the expression of genes in mammals, and also, unlike other RNAs, they are very stable. These RNAs are created quite differently by means of a mechanism called back splicing. In this mechanism, in a molecule of RNA, axons or lariat- shaped introns are bonded at two ends of '3 and '5 with a covalent bond, creating circular structures that, unlike other common RNAs in the cytoplasm, are very stable. The circular RNAs act as mRNA sponge and form a set of RNA and protein that engage in transcription regulation by binding to RNA-related proteins. This suggests that these RNAs regulate gene expression at the transcriptional level and then they react by miRNAs. In fact, those circular RNAs that play a role in regulating the function of miRNAs also play a role in the onset and progression of the cancer. In tumor tissues, circular RNAs are reduced in comparison with normal tissues, and this may be for reasons like error occurs in the back splicing mechanism, degradation by unregulated miRNAs or increased cell proliferation. Recently circular RNAs have been identified in exosomic studies and in the movement of chromosomes in cancers, and there is found that the incorrect and abnormal attachment of these types of RNAs is related to drug resistance. Although it is thought that circular RNAs are non-coding, some of them are translated into functional proteins. So far, there are many unknowns about circular RNAs and the mechanism for regulating the expression of genes by them, but there is a lot of evidence to convince us that they will soon be used as biomarkers to diagnose diseases and therapeutic targets for cancers.
Keywords: *ncRNA, circRNA, Cancer, Diagnosis, Prognosis.*

Cited as: Noori-Daloii MR, Emadi Allahyari S. Circular RNA: features, functions and their correlation with diseases especially cancer. Medical Science Journal of Islamic Azad University, Tehran Medical Branch 2019; 29(3): **191-202.**

Correspondence to: Mohammad Reza Noori-Daloii
Tel: *+9821 88953005*
E-mail: nooridaloii@sina.tums.ac.ir
ORCID ID: 0000-0002-9044-9842
Received: 16 Apr 2019; **Accepted:** 5 May 2019

مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی
دوره ۲۹، شماره ۳، پاییز ۹۸، صفحات ۱۹۱ تا ۲۰۲

Review Article

RNAهای حلقوی: ویژگی‌ها،کارکردها و ارتباط آنها با بیماری‌ها به ویژه سرطان

محمدرضا نوری دلوئی[۱]، سیما عمادی اله یاری[۲]

[۱] استاد، دکتری ژنتیک مولکولی پزشکی، گروه ژنتیک پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران
[۲] دانشجوی کارشناسی ارشد ژنتیک انسانی، گروه ژنتیک پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

چکیده

در اوایل سال ۲۰۱۲ دنیای علم شاهد یک کشف جذاب به نام RNAهای حلقوی (circular RNA) به عنوان یک محصول رونویسی شده از هزاران ژن در موش و انسان بود. این RNAهای حلقوی اخیرا به عنوان گروهی از RNAهای کد کننده در گروه مستقلی قرار گرفته‌اند که تفاوت چشمگیر آنها با دیگر RNAها خطی نبودن آنهاست که در آن، دو انتها با اتصال کوالانسی به هم متصل شده و ساختاری حلقه ای شکل را ایجاد می‌کنند. این مولکول‌ها در تنظیم بیان ژن‌ها در پستانداران ایفای نقش می‌کنند و هم چنین بر خلاف سایر RNAها بسیار پایدارند. این دسته از RNAها به صورت کاملا متفاوتی به وسیله سازوکاری به نام پیرایش برگشتی (Back splicing) ایجاد می‌شوند. در این سازوکار در یک مولکول RNA اگزون-ها و یا اینترون‌های کمندی شکل در دو انتهای ′۳ و ′۵ با پیوند کوالانسی به هم متصل می‌شوند و ساختارهای حلقوی ایجاد می‌کنند که برخلاف دیگر RNAهای معمول در سیتوپلاسم بسیار پایدارند. RNAهای حلقوی به عنوان mRNA sponge عمل کرده و با اتصال به پروتئین های مرتبط با RNA، مجموعه ای متشکل از RNA و پروتئین را شکل می‌دهند که در تنظیم رونویسی شرکت می‌کنند. این موضوع پیشنهاد کننده این مطلب است که این دسته از RNAها تنظیم بیان ژن را در سطح رونویسی و پس از آن به وسیله واکنش با miRNA ها انجام می‌دهند. در واقع آن دسته از RNAهای حلقوی که در تنظیم کارکرد miRNAها نقش دارند در آغاز و پیشرفت سرطان نیز واجد کارکرد هستند. در بافت‌های توموری در مقایسه با بافت‌های طبیعی، RNAهای حلقوی دچار کاهش بیان می‌شود و این امر ممکن است به دلایل رخداد خطا در سازوکار پیرایش برگشتی، تخریب آنها به وسیله miRNAهای تنظیم نشده و یا افزایش تکثیر سلولی باشد. RNAهای حلقوی اخیرا در مطالعات اگزوزوم و در جابجایی کروموزوم‌ها در سرطان ها نیز شناسایی شده‌اند و مشخص شده است که الحاق نادرست و ناهنجار این دسته از RNAها با مقاومت دارویی ارتباط دارد. با وجود اینکه تصور بر این است که RNAهای حلقوی غیر کد کننده‌اند، اما شماری از آنها به پروتئین‌های کارکردی ترجمه می‌شوند. تاکنون ناشناخته‌های فراوانی در زمینه RNAهای حلقوی و سازوکار تنظیم بیان ژن‌ها توسط آنها وجود دارد، اما شواهد فزاینده‌ای ما را متقاعد می‌کند که به زودی از آنها به عنوان بیومارکرهایی جهت تشخیص بیماری‌ها و اهداف درمانی در سرطان‌ها استفاده خواهد شد.

واژگان کلیدی: *ncRNA ، circRNA، سرطان، تشخیص، پیش آگهی.*

مقدمه

RNAهای غیر کد کننده به طور عمده شامل RNAهای کوچک (micro RNA)، RNAهای غیر کدکننده بلند (Long non-coding RNA) و RNAهای حلقوی هستند (۱).

RNAهای حلقوی حاصل پیرایش برگشتی اگزون‌ها، اینترون‌ها یا هر دوی آن‌ها هستند (۲).

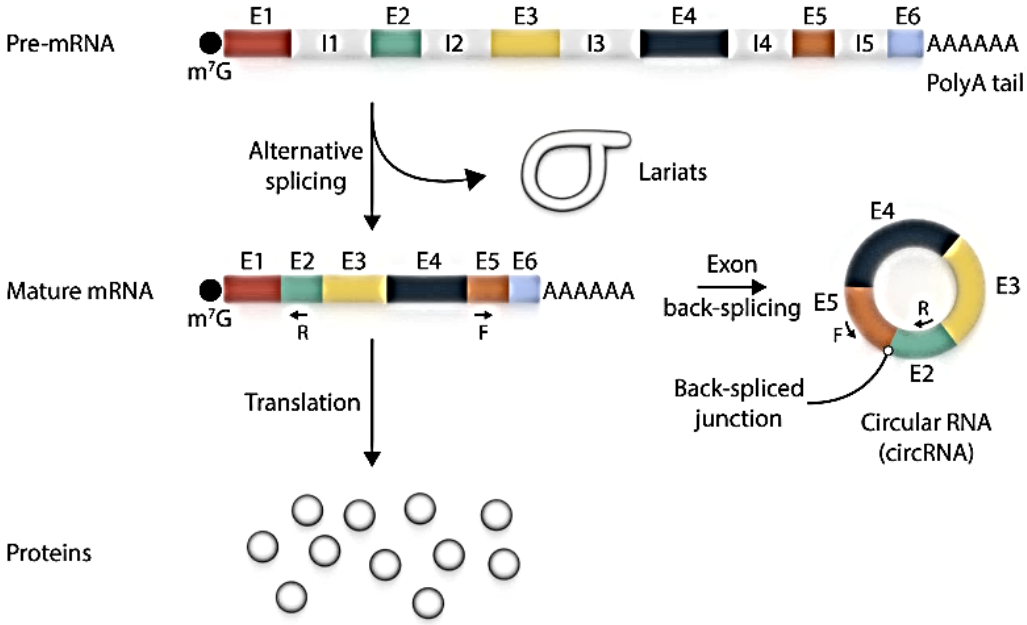
چنان چه که در شکل ۱ نشان داده شده است، پیرایش برگشتی فرایندی است که در آن RNAهای حلقوی به وسیله پیرایش متناوب pre-mRNAها شکل می‌گیرند و در آن دهنده پیرایش بالادست به پذیرنده پیرایش پایین دست ملحق می‌شود (۳). هنگامی که RNA به صورت حلقوی در می‌آید از

آدرس نویسنده مسئول: تهران، دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده ی پزشکی، گروه ژنتیک پزشکی، محمدرضا نوری دلوئی (**email**: nooridaloii@sina.tums.ac.ir)
ORCID ID: 0000-0002-9044-9842
تاریخ دریافت مقاله: ۹۸/۱/۲۷
تاریخ پذیرش مقاله: ۹۸/۳/۹

تخریب توسط اگزونوکلئازها مصون مانده و موجب ثبات و فراوانی آنها در سیتوپلاسم می‌شود (۲، ۴، ۵).

در حدود ۳۰ سال گذشته اولین مورد از RNAهای حلقوی مورد توجه قرار گرفت. در سال ۲۰۱۲ این موضوع توسط Salzman و همکاران مورد بررسی بیشتر قرار گرفت و RNAهای حلقوی در رده سلول‌های سرطانی و غیر سرطانی و هم چنین در مبتلایان به لوکمی لنفوبلاستیک حاد مشخص شد (۶). در واقع اولین مورد از RNAهای حلقوی پیرایش شده به دنبال آنالیز ژن حذف شده در سرطان کولورکتال(Deleted in Colorectal Cancer or DCC) انسانی و در یک آزمایش بر پایه RT-PCR و توالی یابی کشف شد (۷). مطالعه دیگر بر روی RNAهای حلقوی به دست آمده از ژن SRY (-Sex determining Region Y) موش بود (۸). این یکی از اصلی‌ترین RNAهای حلقوی شناخته شده است که به وسیله ناحیه تعیین جنسیت بر روی کروموزوم Y کد شده و در تعیین جنسیت مذکر در پستانداران نقش دارد. SRY به عنوان یک RNA حلقوی در سیتوپلاسم جایگزین می‌شود و به صورت miR-138 sponge عمل می‌کند و در شرایط آزمایشگاهی واجد ۱۶ جایگاه احتمالی برای miRNA است (۸، ۹). بر اساس یک فرضیه، کارکرد RNAها به عنوان miRNA sponge از طریق شبکه RNAهای داخلی رقابت کننده یا به اختصار ceRNA (competing endogenenous RNA) است (۱۰). این فرضیه پیشنهاد می‌کند که RNAهای اختصاصی می‌توانند موجب سرکوب فعالیت miRNA از طریق sequestration شوند؛ بنابراین افزایش یا کاهش بیان ژن هدف miRNA را به دنبال خواهد داشت (۱۱). RNAهای حلقوی و RNAهای پیک با جایگاه هدف miRNA برای اتصال به miRNA رقابت می‌کنند و یک تعامل پیچیده و شبکه تنظیمی را شکل می‌دهند که به طور رایج به عنوان شبکه RNAهای داخلی رقابت کننده شناخته می‌شوند. تشخیص اهداف miRNA به مقدار زیادی به توالی مکمل بین ناحیه‌ای موسوم به seed موجود در miRNA (نوکلئوتیدهای ۲ تا ۷ در توالی miRNA های بالغ) و جایگاه هدف بر روی شبکه RNAهای داخلی رقابت کننده وابسته است. جهش‌ها در miRNA (به ویژه ناحیه seed) و جایگاه‌های هدفشان ممکن است تعامل miRNA-ceRNA و ceRNA را تغییر دهند. اختلال درتنظیم بین شبکه‌های RNAهای داخلی رقابت کننده نقش مهمی را در بیماری‌زایی سرطان داشته و پیشنهاد شده که شبکه RNAهای داخلی رقابت کننده ممکن است در تومورهای بدخیم وابسته به miRNA درگیر باشند (۱۲). برای نمونه برخی از RNAهای حلقوی در سلول شواهدی پیشنهاد می‌کنند که این RNAها ممکن است رونویسی شده و مسیرها را به وسیله دست‌کاری miRNAها تنظیم کنند (۱۳).

با این حال برخی مطالعات نشان داده‌اند که کارکرد کلی یک RNA حلقوی لزوما به عنوان miRNA sponge نیست و تنها تعداد کمی از RNAهای حلقوی واجد این نقش هستند (۱۴).



شکل ۱. نمایش شماتیک از فرایند پیرایش برگشتی که منجر به ایجاد RNAهای حلقوی می‌شود.

در چند سال گذشته فنون توالی یابی RNA (RNA-sequencing) در پستانداران به شناسایی هزاران RNA حلقوی منفرد درون زاد منجر شد که در شرایط موجود در بدن جانداران در مقایسه با همتای خطی‌شان فراوان و با ثبات هستند (۱۵). از ژن‌های تولید کننده RNA حلقوی می‌توان به ژن ETS1 (۱۶)، ژن‌های سیتوکروم P450 در رت و انسان (۱۷)، ژن تولید کننده پروتئین متصل شونده به آندروژن یا shbg (۱۷)، ژن دیستروفین انسانی (۱۸)، ژن NCXI در میمون‌ها (۱۹) و ژن mbl در دروزوفیل (۲۰) اشاره کرد. هم‌چنین یک RNA غیرکد کننده انسانی به نام ANRIL نیز یافت شده است که تعداد کمی از رونوشت‌های آن توانایی حلقوی شدن را دارند (۲۱) و مشخص شده رونوشت آنتی سنس برای جایگاه CDR1 موجب تولید ایزوفرم حلقوی فراوانی می‌شود (۲۲). از انواع دیگر می‌توان به HIPK3 (۲۳)، circ ITCH و RNA های حلقوی اگزوزومال اشاره کرد (۴, ۵, ۲۴).

ویژگی RNAهای حلقوی

۱) تعداد آنها بسیار زیاد است و در هزاران ژن بیان می‌شوند و در برخی موارد بیان بالاتری را نسبت به ایزوفرم خطی شناخته شده خود دارند (۲).

۲) بیان ویژه تیپ سلولی را نشان می‌دهند (۲۵).

۳) بین موش و انسان محافظت شده‌اند (۲).

۴) در سیتوپلاسم مستقرند (۶).

۵) بسیار با ثبات و پایدارند و نیمه عمری معادل با ۴۸ ساعت دارند (۲).

۶) به نظر نمی‌رسد که RNAهای حلقوی طبیعی ترجمه شوند، اگرچه پژوهش‌ها ثابت کرده است که این RNAهای حلقوی تولید شده که توسط جایگاه ورودی ریبوزوم طراحی می‌شوند، هم در invivo و هم در invitro قابلیت ترجمه را دارند (۲۶).

۷) معمولا از اگزون‌ها و اینترون‌های بلندتر از حد متوسط شکل می‌گیرند (۲).

۸)در خلال تکامل زیستی بیان پویایی دارند(۲۷).

شایان ذکر است که ویژگی‌های بالا، شامل کلیات RNAهای است و همه آنها در همه انواع RNAهای حلقوی یافت نمی‌شوند.

تولید RNAهای حلقوی

RNAهای حلقوی در خلال پیرایش برگشتی تولید می‌شوند. این RNAها از همتاهای خطی خود متمایزند، زیرا فاقد ساختارهای انتهایی معمول (کلاهک ´۵ و دم پلی A) بوده و انتهاهای آنها به صورت کووالانسی بسته است (۲۸, ۲۹). اسپلایسوزوم‌های کانونی با استفاده از یک مهارکننده پیرایش، سطوح RNAهای حلقوی و هم چنین سطوح رونوشت خطی پیرایش شده را کاهش می‌دهند. به بیان دیگر اسپلایسوزوم‌ها واجد نقش مهمی در بیوژنز این دسته از RNAها هستند (۳۰). لازم به تاکید است که بیان RNAهای حلقوی همیشه با سطوح بیان رونوشت خطی مشتق از آنها مرتبط نیست. این امر نشان می‌دهد که بیان RNAهای حلقوی بسیار تنظیم شده بوده و اسپلایسوزوم‌ها قادرند میان پیرایش به شکل رو به جلو و پیرایش برگشتی تمایز قائل شوند (۳۱).

RNAهای حلقوی ممکن است از اگزون‌ها و یا اینترون‌ها ایجاد شوند که در این صورت به تولید سه نوع متفاوت از آن‌ها می‌انجامد که عبارتند از: RNAهای حلقوی اگزونی، RNAهای حلقوی اینترونی و RNAهای حلقوی اگزونی-اینترونی (۲).

شناسایی و ردیابی RNAهای حلقوی

از زمان کشف اولین RNAهای حلقوی تاکنون ابزارهای بیوشیمیایی متفاوتی در جهت آزمون حلقوی بودن، اعتبار سنجی و شناسایی بیان نابجای RNAهای حلقوی ایجاد شده است. هم چنین رویکردهای بیوانفورماتیکی و آماری برای کمّی سازی بیان و شناسایی این نوع جدید از RNAها گسترش پیدا کرده‌اند (۳۲).

آزمون‌های بیوشیمیایی ابزار مهمی جهت اعتبارسنجی و شناسایی RNA های حلقوی هستند. در این میان RT-PCR برای اعتبارسنجی ابزار بسیار قدرتمندی است. در این رویکرد، یک RNA حلقوی توسط یک ترانس کریپتاز معکوس به یک cDNA تبدیل می‌شود و از آن جا که منشا cDNA یک RNA حلقوی است، توالی شامل توالی اتصالی اگزون-اگزون است که در mRNA پیرایش شده کانونی وجود ندارد و پرایمرها می‌توانند برای تکثیر اختصاصی و شناسایی این اتصالات تشخیصی طراحی شوند. پرایمرها در این جا به عنوان outward-facing شناخته می‌شوند، زیرا هنگامی که ژنوم aligned می‌شود، انتهاهای ´3 به دور از همدیگر قرار می‌گیرند. برخلاف PCR استاندارد این موضوع از تکثیر گونه‌هایی که حاوی اتصالات تشخیصی نیستند (مانند mRNA یا DNA ی ژنومی) جلوگیری می‌کند. qRT-PCR می‌تواند برای ارزیابی سریع فراوانی نسبی RNA حلقوی در سراسر یک پنل نمونه مورد استفاده قرار گیرد (۳۳).

به منظور سازمان دهی فعال RNAهای حلقوی پایگاه‌های آنلاین ایجاد شده است. این پایگاه‌های اطلاعاتی RNAهای حلقوی را از Gene bank یا مقالات منتشر شده جمع آوری می‌کنند. این پایگاه‌ها RNAهای غیر کد کننده را که به طور تجربی تایید شده‌اند، RNAهایی که صرفا پیش بینی محاسباتی شده‌اند و آنهایی که بر اساس اندازه پیشنهاد شده‌اند، فهرست کرده است. برای نمونه StarBase v2.0 و circBASE به کاربران اجازه می‌دهند که رده‌های کاربردی یا فرایندها را جستجو کنند. circ2Traits و nc2 cancer به کاربر اجازه می‌دهد براساس بیماری (مانند سرطان) جستجو انجام گیرد. اگرچه باید توجه داشت که همواره به ترکیبی از پایگاه‌های اطلاعاتی پیش بینی کننده بیان RNAهای حلقوی و پایگاه‌های اطلاعاتی دیگر که بر مبنای بیماری هستند (مانند Circ2 Traits db/؛ http://gvanxet-beta com/circ) نیاز است (۳۴, ۳۵).در جدول ۱ سیاهه شماری از پایگاه‌های اطلاعاتی مرتبط با RNAهای حلقوی آورده شده است.

اشاره می‌شود که موقعیت ژنومی چندین RNA حلقوی با پایگاه اطلاعاتی که همراهی SNPها را با بیماری‌ها و یا بیماری‌های مرتبط با نواحی ژنتیکی خاص را اعلام می‌کنند، نشان داده شده است (circ2 Traits and nc2 cacer) (۳۴, ۳۵).

Ghosal و همکارانش احتمال همراهی بیماری با یک RNA حلقوی به دست آمده از محاسبات آماری حاصل از مطالعه تعامل بین RNAهای حلقوی و microRNA مرتبط با بیماری را اندازه گیری کردند. آنها محتوای هسته را از لحاظ ژن‌های کد کننده پروتئین در بیماری‌هایی که بین miRNA و RNA حلقوی تعامل وجود دارد، بررسی کردند تا ژن‌های مرتبط با فرایندهای زیست شناختی ویژه را شناسایی کنند. فرایندهای زیست شناختی برای mRNA در ۵۰ بیمار شناسایی شد. در میان این mRNAها ۲۲ ژن پاسخ به محرک نوری، ۴۳ ژن مرتبط با چرخه سلولی در سرطان پستان شناسایی شد. این اولین آنالیز اطلاعات جامع است که به بررسی اثرات کلی ارتباط بالقوه بین RNAهای حلقوی و سرطان پرداخت (۳۴).

کارکردهای RNAهای حلقوی در سرطان‌ها

بسیاری از RNAهای حلقوی ویژه بافت هستند و الگوهای بیان خاصی در مراحل تکاملی دارند و نقش‌های حیاتی در فرایندهای زیست شناختی مرتبط با سرطان بازی می‌کنند. چندین RNA حلقوی برای دست یابی و حفظ فنوتیپ‌های سرطانی و گستره وسیعی از سرطان‌های خارج از تنظیم ضروری هستند. پژوهش‌های اخیر به این نتیجه رسیده‌اند که فراوانی کلی RNAهای حلقوی در سرطان کولورکتال نسبت به بافت طبیعی کمتر است (۳۶). اغلب پژوهشگران بر روی کارکرد RNAهای حلقوی به عنوان miRNA sponge که از طریق ceRNA عمل می‌کنند متمرکز هستند (۳۷). RNAهای حلقوی بیان ژنی را در سطح رونویسی و یا پس از ترجمه توسط miRNAها تنظیم می‌کنند (۳۸). یکی از بیشترین مطالعات در زمینه miRNA و شبکه ceRNA با مطالعه بر روی miR-7 انجام گرفته است. شواهدی نوظهور حاکی از آن است که ciRs-7 سبب تنظیم بیان miR-7 می‌شود. miR-7 به طور مستقیم می‌تواند موجب کاهش بیان انکوژن‌هایی مانند گیرنده عامل رشد اپیدرمی (Epidermal Growth Factor Receptor)، کیناز-۱ فعال کننده p21 (Pak1)، سوبسترای-۱ گیرنده انسولین (IRS-1)، زیر واحد کاتالیک دلتای کیناز فسفواینوزیتید-۳ (PIK3CD) و گیرنده راپامایسین پستانداران (mTOR) شود (۳۹). هم چنین نشان داده شد که در برخی شرایط پروتئین متصل شونده به ریبوزوم ممکن است به عنوان فعال کننده یا مهار کننده تنظیمی در شکل گیری RNAهای حلقوی عمل کنند (۲۴). پروتئین‌های متصل شونده به ریبوزوم بر روی بازیابی و

جدول ۱. سیاهه مربوط به تعدادی از پایگاه های اطلاعاتی کاربردی مرتبط با RNA های حلقوی

Name of database	Functions
CircRNA	The sequence and expression information
circRNADb	Protein-encoding feature annotation
Circ2Traits	MiRNA-circRNA-mRNA-lncRNAs intraction network for diseases.
Deepbase	Comprehensive annotation of sRNAs.lncRNAs and circRNAs
circInteractome	Circular RNAs and their interactions with other binding factors (RBPs and miRNA)
circNET	Tissue-specific circRNA expression profile.circRNA/mRNA/gene regulatory networks
starBase	Systematically identify the RNA-RNA and protein-RNA interaction networks
CIRCexploret2	Annotate alternative back-splicing and alternative splicing in circRNAs

رونویسی mRNA ها اثر گذاشته و در تعدادی از بیماری‌ها مانند سرطان نیز کاربرد دارد (۴۰). جابجایی‌های کروموزومی با تولید fusion-circRNA های نابجا که به f-circRNA شهرت دارند، در سرطان‌ها نقش دارند (۴۱). در واقع با الحاق دو ژن مجزا، پروتئین‌های الحاقی انکوژنی شکل می‌گیرند که پروتئینی جهش یافته است و به آغاز و پیشرفت سرطان منجر می‌شود (۴۲). هنگامی که یک سری توالی اینترونی نامرتبط که دور از یکدیگر قرار دارند تجمع یافته و پیرامون هم جمع می‌شوند، به تشکیل f-circRNA منجر شده که در پی آن پیرایش‌های برگشتی جدیدی رخ می‌دهد (۳). f-circRNAها واجد اثرات پروتوانکوتیک و تکثیری بوده و در پیشبرد سرطان با تحریک فعالیت مسیرهای انتقال سیگنال PI3K و MAPK ایفای نقش می‌کنند (۴۱). f-circRNAها در مقاومت به درمان نیز نقش دارند. برای نمونه، f-circRNA سبب مقاومت در برابر تری اکسید آرسنیک (ATO) در سلول‌های لوکمیک می‌شود (۴۱). بنابراین برای غلبه بر معضل مقاومت دارویی هدف گیری f-circRNAها به جای RNAهای حلقوی ممکن است مزایای بیشتری داشته باشد. افزون بر این، مطالعه بر روی مسیرهای درگیر با سرطان‌زایی به پژوهشگران اجازه خواهد داد RNAهای حلقوی را شناسایی کنند که نقش بیومارکری دارند؛ برای نمونه برخی از انواع RNAهای حلقوی واجد نقش تنظیمی در مسیر Wnt/β-catenin هستند (۴۳). سیگنال‌دهی Wnt به پیشرفت تومور در انسان منجر می‌شود (۴۴). در صورت تائید تنظیم RNAهای حلقوی در این مسیر می‌توان با هدف گیری RNAهای حلقوی از رشد و گسترش تومورها جلوگیری کرد. به عنوان نمونه، ciR-7 در بافت‌های سرطانی موجب مهار miR-7 و در پی آن فعال شدن انکوژنهای EGFR و RAF1 می‌شود. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که RNAهای حلقوی واجد نقش کلیدی در آغاز و گسترش سرطان هستند (۴۵). دو مسیر PI3K/AKT و RAF/MEK/ERK ممکن است در آینده برای پژوهش در زمینه تنظیم بالقوه RNAهای حلقوی مورد مطالعه قرار گیرند (۴۶). پژوهش‌های اخیر هم چنین نشان داده است که عمده RNAهای حلقوی به وسیله EMT (Epithelial-Mesenchymal Transition) انسانی تنظیم شده‌اند و بیش از ۱/۳ از آن ها به صورت دینامیک توسط عامل پیرایش متناوب که به وسیله فرایند EMT تنظیم شده‌اند، تنظیم می‌شوند. شرکت EMT در تومورزایی نشانه‌های مهمی را برای پیشرفت سرطان فراهم می‌کند و ممکن است دانش زیادی در رابطه با نقش درمانی RNAهای حلقوی به وسیله هدف گذاری miRNAهای درگیر در EMT فراهم کند (۳۶). علاوه بر اینها هدف گیری RNAهای حلقوی مرتبط با ژن‌های درگیر در سرطان‌ها ممکن است روش جدیدی برای غلبه مقاومت‌های مرتبط با درمان باشد (۴۷, ۴۸). برای نمونه RNA حلقوی HIAT1 (circ HIAT1) در نقش مهار کننده متاستاتیک برای گیرنده آندروژن عمل کرده و موجب مهاجرت و تهاجم سلول‌های کارسینومای کلیه می‌شود. در نتیجه، هدف گیری این گیرنده آندروژن با افزایش بیان RNA حلقوی HIAT1 می‌تواند موجب سرکوب پیشرفت سلولی شود (۴۹).

همراهی RNA های حلقوی با miRNAهای مرتبط با سرطان

بسیار واضح است که miRNAها تقریبا در همه جوانب کارکردهای سلولی درگیر هستند و در آغاز و پیشرفت سرطان نقش حیاتی دارند (۵۰).در مارس ۲۰۱۳ دو مقاله، کارکرد RNAهای حلقوی به عنوان spongeهای miRNA که به طور طبیعی جدا از یکدیگر هستند و به طور رقابتی کارکرد miRNA را سرکوب می‌کنند گزارش کردند (۳۸, ۵۱, ۵۲).

RNAهای حلقوی و mRNAها با جایگاه هدف miRNA معمولی برای اتصال به miRNA رقابت می‌کنند و یک تعامل پیچیده و شبکه تنظیمی را شکل می‌دهند که به طور رایج به عنوان شبکه ceRNA شناخته می‌شود. تشخیص هدف miRNA به میزان زیادی به توالی مکمل بین ناحیه seed موجود در miRNA (نوکلئوتید ۲ تا ۷ در توالی miRNA بالغ) و جایگاه هدف روی ceRNA وابسته است. جهش‌ها در miRNA (به ویژه در ناحیه ی seed) و جایگاه‌های هدفشان ممکن است تعامل miRNA-ceRNA و ceRNA را تغییر دهند (۱۲). اختلال عدم تنظیم بین ceRNAها در شبکه نقش مهمی را در بیماری‌زایی سرطان دارد. پیشنهاد شده است که RNAهای حلقوی می‌توانند در تومورهای بدخیم وابسته به miRNA درگیر باشند (۳۶, ۵۳).

با اندازه گیری احتمال پیوستگی یک RNA حلقوی با بیماری با توجه به اهمیت آماری تعامل با miRNAهای پیوسته با بیماری، پایگاه‌های اطلاعاتی circ2Traits فرایند زیست شناختی برای mRNA در ۹۰ بیماری را فهرست کرده است (۳۴). در میان این mRNAها، ۲۲ مورد ژن پاسخ به محرک نوری و ۴۳ ژن مرتبط با چرخه سلولی در سرطان پستان وجود داشت (۳۴). این اولین گزارش با دیدی کلی درباره پیوستگی بالقوه بین RNAهای حلقوی و سرطان بر پایه آنالیز جامع اطلاعات بود. با این حال یکRNA حلقوی مستقیم و miRNA همراه برای شواهد زیست شناختی بیشتر مورد نیاز

است. پایگاه اطلاعاتی somamiR2.0 حاوی جهش‌های سوماتیک در miRNAها و جایگاه های هدف روی Long non coding RNA، RNAهای حلقوی و miRNAها است (۵۴).

شناسایی ceRNAها و RNAهای حلقوی به عنوان تنظیم کننده‌های مهم فعالیت miRNAها، مسئول افزایش پیچیدگی RNAهای غیر کد کننده میانجی شبکه‌های تنظیمی هستند. به ویژه RNAهای حلقوی که به عنوان ciRs-7 شناخته می‌شوند و به عنوان یک ceRNA یا sponge فوق العاده miR-7 عمل می‌کنند و به طور رقابتی miR-7 را مهار و بیان انکوژن‌هایی مانند EGFR و XIAP را القا می‌کنند. در حالی که مهار ژن‌های سرکوب کننده تومور مانند KLF4 را موجب می‌شوند و بنابراین موجب القای آغاز و گسترش سرطان‌هایی همانند هپاتوسلولار کارسینوما، سرطان پستان و گردن رحم می‌شوند (۱۳, ۵۵).

شناسایی تنظیم محور فعالیت miR-7/miR-67/ciR-7 احتمالا موجب پیشرفت دانش سبب شناسی سرطان‌های متفاوت می‌شود (۵۵). SRY به عنوان یک miRNA حلقوی قابل توجه است که تاثیرات زیست شناختی miR-138 را به وسیله اتصال با ۱۶ جایگاه اتصال حفاظت شده کنترل می‌کند. این امر می‌تواند شبکه تنظیمی را تنظیم و بسیاری از فرایندهای زیست شناختی و بافت شناسی را به وسیله مدولاسیون miRNA چندگانه تحت تاثیر قرار دهد. به دلیل اینکه SRY و miRNA-7 اثرات حیاتی در وقوع و پیشرفت سرطان دارند، این گونه فرض شده است که RNAهای حلقوی هم باید در این فرایند دخیل باشند (۳۸).

RNAهای حلقوی و نمونه‌هایی از سرطان‌های مرتبط با آن

Yu و همکارانش در سال ۲۰۱۶ بر روی ciR-7 که پیش‌تر در کارسینومای سلول های کبدی بررسی شده بود کار کردند و دریافتند که در بافت‌های توموری کارسینومای سلول‌های کبدی در مقایسه با بافت‌های غیرتوموری اطراف افزایش می‌یابد. از آنجایی که ciR-7 به عنوان miR-7 sponge شناخته شده است، پژوهش‌های زیادی شامل ناوک داون کردن ciR-7 و افزایش بیان miR-7 sponge انجام گرفت و مشخص شد ciR-7 به عنوان یک انکوژن از طریق هدف گیری miR-7 در کارسینومای سلول‌های کبدی عمل می‌کند (۵۶).از طرفی Qin و همکارانش در همان سال نوعی RNA حلقوی به نام has-circ-0001649 را شناسایی کردند و مشخص شد این RNA حلقوی در بافت های توموری کبد در مقایسه با بافت‌های کبدی طبیعی پیرامون به طور چشمگیری کاهش می‌یابد (۵۷). اما برخلاف این یافته، Shang و همکارانش نیز در همان سال مشخص کردند که این RNA حلقوی در کارسینومای سلول‌های کبدی برخلاف بافت‌های طبیعی افزایش می‌یابد (۵۸).

سرطان کولورکتال

سرطان کولورکتال به عنوان سومین سرطان رایج و سومین علت رایج مرگ، هم در زنان و هم در مردان، شناخته می‌شود. به منظور تعیین نقش RNAهای حلقوی و اعتبارسنجی آن پنج نوع از آنها انتخاب و مشخص شد چهار مورد کاهش بیان را در مقایسه با بافت‌های موکوسی طبیعی نشان می‌دهند و تنها یک مورد (circ6229) به طور چشمگیری تغییر می‌کند. در مطالعه‌ای که بر روی این سرطان انجام گرفت مشخص شد جهش KRAS به ایجاد مقاومت دارویی به درمان‌هایی بر ضد گیرنده عامل رشد اپیدرمی (anti-EGFR) منجر می‌شود. Dou و همکارانش نشان دادند که بیان RNA حلقوی در رده‌های سلولی سرطان کولون که واجد جهش در KRAS هستند، در مقایسه با سویه‌های وحشی با احتمال زیادی کاهش می‌یابد (۵۹). این نوع RNAهای حلقوی به عنوان miRNA sponge عمل می‌کنند و موجب افزایش سطوح RNA حلقوی ITCH می‌شود. ژن ITCH در مسیر Wnt/βcatenin درگیر است و موجب شروع و پیشرفت سرطان کولورکتال می‌شود (۶۰).

سرطان معده

سرطان معده در بسیاری از ملل توسعه یافته با وجود کاهش قابل توجه در بروز، اغلب به عنوان یکی از علل رایج مرگ‌های ناشی از سرطان در جهان است. Li و همکارانش has circ 002059 را به عنوان یک RNA حلقوی که به طور بالقوه با سرطان معده مرتبط است، شناسایی کردند (۶۱).hsa circ 002059 در بافت توموری معده در مقایسه با کنترل‌های نرمال به طور چشمگیری کاهش می‌یابد. هم چنین در نمونه‌های پلاسمای بیماران مبتلا به سرطان معده در مقایسه با کنترل‌های سالم به طور چشمگیری کاهش می‌یابد و با ویژگی‌های بافت شناسی و بالینی مانند مرحله، سن، جنس و متاستاز به نقاط دور دست مرتبط است (۶۱). از سوی دیگر Chen و همکارانش، RNA حلقوی PVT را در بافت‌های توموری معده شناسایی کردند و مشخص شد که در این بافت‌ها افزایش یافته و موجب پیشبرد تکثیر سلولی توسط اعضای خانواده miR-125 می‌شود (۶۲).

سرطان مثانه

سرطان مثانه از پوشش اپیدرمی مجاری ادراری ناشی می‌شود و نهمین علت رایج سرطان در جهان است. RNAهای حلقوی در سرطان مثانه نیز با استفاده از میکروآری با توان بالا شناسایی شدند (۶۳). با استفاده از این فن، Zhong و همکارانش دو مورد RNA حلقوی (circ FAM169A و circ

TRIM24) را که در سرطان مثانه به طور چشمگیری کاهش می‌یابند، شناسایی کردند (۶۳).

علاوه بر این دو، آنها موفق به شناسایی چهار RNA حلقوی دیگر شدند که در بافت‌های سرطان مثانه نسبت به بافت‌های غیر توموری پیرامون به طور چشمگیری افزایش می‌یابند (circ TCF25،circ ZFR،circ PTK2 و circ BCO48201). RNA حلقوی TCF25 به عنوان miRNA sponge عمل می‌کند و در بافت‌های سرطانی موجب کاهش miR-103a-3p و miR-107 و افزایش CDK6 و سرانجام گسترش سرطان می‌شود (۶۳).

کارسینومای سلول‌های کبدی

کارسینومای سلول‌های کبدی یک بدخیمی مربوط به کبد است و به طور غالب در مبتلایان به بیماری کبدی مزمن و سیروز کبدی رخ می‌دهد.در این بیماری RNAهای حلقوی در مقایسه با بافت‌های سالم از تنظیم خارج می‌شوند (۶۳).

Qin و همکارانش has-circ-0001649 را در این بیماری شناسایی کردند و متوجه شدند که در بافت‌های توموری در مقایسه با بافت های کبدی طبیعی پیرامون به طور چشمگیری کاهش می‌یابد (۵۷). Shang و همکارانش has-circ-0005075 را شناسایی کردند و متوجه شدند که در بافت‌های توموری در مقایسه با بافت‌های طبیعی به طور چشمگیری افزایش می‌یابد (۵۸).

Yu و همکاران ciRS-7 را که در گذشته شناسایی شده بود مورد آزمایش قرار دادند و متوجه شدند که در بافت‌های توموری کارسینومای سلول‌های کبدی در مقایسه با بافت‌های غیرتوموری پیرامون، افزایش می‌یابد (۵۶). از آنجایی که ciRS-7 به عنوان miR-7 sponge عمل می‌کند، پژوهش‌های زیادی شامل ناوک داون کردن ciRS-7 و افزایش بیان miR-7 انجام گرفت و مشخص شد ciRS-7 به عنوان یک انکوژن از طریق هدف گیری miR-7 در کاسینومای سلول‌های کبدی عمل می‌کند (۴۶).

مطالعات دیگر کاهش بیان برخی از RNAهای حلقوی را در سرطان ریه و مری (۴۷, ۴۸)، سرطان پانکراس (۶۴)، کارسینومای سلولی کلیه و سرطان پروستات (۲۳) مشخص کردند.

نمونه‌هایی از دیگر بیماری‌های مرتبط با RNAهای حلقوی

بیماری قلبی ایسکمیک

این بیماری علت پیش‌روی مرگ در کشورهای توسعه یافته است. CANRIL یکی از نخستین RNAهای حلقوی شناخته شده است که با چندشکلی‌های تک نوکلئوتیدی رایج همراهی دارد. پیش بینی شده است که اثرات پیرایش CANRIL به سرکوب INK4/ARF منجر شده و موجب افزایش خطر آترواسکلروزیس می‌شود (۲۱). هیپوکسی عامل خطر شناخته شده برای آترواسکلروزیس و یک محرک کلیدی برای آنژیوژنزیس است که توسط RNAهای حلقوی تنظیم می‌شود (۶۵). CZNF292 یک RNA حلقوی است که به وسیله هیپوکسی در سلول‌های اندوتلیال تنظیم می‌شود و آنژیوژنزیس را کنترل می‌کند (۶۵). RNAهای حلقوی به میزان زیادی در بافت‌های قلبی انسانی بیان می‌شوند و با ژن‌های کلیدی قلب شامل Titin (TTN)،RNR2 و DMD ارتباط دارند (۶۶). شواهد بیشتری برای نقش RNAهای حلقوی در بیماری‌های قلبی-عروقی به وسیله Jakobi جمع‌آوری شده است. او توالی یابی RNA را روی قلب موش‌های بالغ انجام داد و بیش از ۵۷۵ مورد RNA حلقوی را که نامزد بیماری قلبی هستند شناسایی کرد (۶۷). برخی از این RNAهای حلقوی با لکوس ژن مرتبط با بیماری قلبی همراهی داشته و با هم بروز می‌کنند. برای نمونه has circ 0124644 در بیماری‌های قلبی در مقایسه با کنترل‌ها افزایش می‌یابد (۶۸).

دیابت

دیابت نوعی بیماری مزمن است که منجر به ایجاد ناهنجاری‌های بلند مدت می‌شود. امروزه روش‌های جدیدی جهت شناسایی، تشخیص و درمان بهتر مورد نیاز است. افزایش miR-7 در سلول‌های بتای موش ترانسژنیک نشان داده شده است و مشخص شد که ciR-7 کارکرد miR-7 را در سلول‌های بتا که موجب ترشح انسولین می شود را بهبود می‌بخشد (۶۹).

آلزایمر

مطالعات اولیه نشان داده‌اند که RNAهای حلقوی به میزان زیادی در مغز بیان می‌شوند (۲۳) و ممکن است در تنظیم کارکرد سیناپسی و شکل گیری عصبی (۷۰) شرکت کنند. مشخص شده است که کارکرد نابجای miR7-circRNA در ناحیه CA1 هیپوکامپ مغز در آلزایمر اسپورادیک ایجاد می‌شود (۷۱). افزایش miR-7 در مغز مبتلایان به آلزایمر به دلیل نقص در ciR-7، به کاهش mRNA مرتبط با آلزایمر و کاهش بیان آنها می‌انجامد که از آن میان می‌توان به ubiquitin conjugase (UBE2A) اشاره کرد (۴۶). UBE2A در چرخه یوبی‌کوئیتیناسیون به عنوان یک افکتور مرکزی عمل می‌کند که در پاک‌سازی پپتیدهای آمیلوئید به وسیله فاگوسیتوز درگیر است. در مغز مبتلایان به آلزایمر اسپورادیک UBE2A تخلیه شده و به آمیلوئیدوژنزیس منجر می‌شود.

شواهد بیشتر برای یک ارتباط با پیری از شناسایی RNAهای حلقوی همراه با پیری یا senescence وجود دارد (۷۲). پیری وضعیتی است که در پی مواجهه سلول‌ها با محرک‌های ایجاد کننده تنش سلولی، رشد سلولی متوقف می‌شود و با فرایندهایی مانند sarcopenia، آرتریت، دیابت، تخریب عصبی و سرطان مرتبط است (۷۳).

CircPVT1 نیز به عنوان یک سرکوب کننده پیری در فیبروبلاست‌های تکثیر کننده عمل می‌کند (۷۴, ۷۵).

دورنما

پژوهش‌های وسیعی موجب تعمیق فهم ما از شبکه پیچیده RNAهای حلقوی در شرایط وجود یا عدم وجود سرطان می‌شوند و اطلاعات اولیه نقش آنها را در آغاز، پیشرفت و مقاومت درمانی نشان می‌دهد. این واقعیت که RNAهای حلقوی ویژه‌ای در برخی از بیماری‌های خاص وجود دارد ثابت شده است و کارکردهای تنظیمی آنها در آینده به عنوان بیومارکرهای پیش آگهی دهنده و تشخیصی و به منظور کاربرد در اهداف درمانی مورد توجه است. بیومارکرهایی با ویژگی و حساسیت بالا، در تشخیص بیماری، شناسایی جمعیت در معرض خطر بالا، گسترش درمان‌های هدفمند و ارزیابی پاسخ به درمان مورد استفاده بسیاری از متخصصان بالینی قرار می‌گیرند. اغلب آنالیزهای بر پایه خون و بیوپسی مایعات بدن به دلیل ماهیت غیر تهاجمی یا کمتر تهاجمی مورد توجه هستند (۷۶). آنالیز بر پایه خون امکان مشاهده پاسخ به درمان، مقاومت به درمان یا شناسایی عود اولیه در زمان واقعی را برای پژوهشگر فراهم می‌کند (۷۷). اگر چه تعداد RNAهای حلقوی با کارکردهای شناخته شده در حال افزایش است، اما هزاران نوع از آنها با کارکردهای ناشناخته نیز وجود دارند. ممکن است که اکثریت RNAهای حلقوی یک کارکرد واحد شناخته شده داشته باشند و یا همراه با هم موجب ایجاد یک نقش واحد شوند. این امکان وجود دارد که کسر بزرگی از RNAهای حلقوی که بیان شده‌اند اما کارکردی نیستند، محصول فرعی پیرایش باشند. ناوک اوت کردن RNAهای حلقوی با ابزار خاص ویرایش ژنومی ممکن است به فهم کارکرد آنها منجر شود (۳۲). امید می‌رود که پیشرفت‌های بیوتکنولوژی مولکولی و بیوشیمیایی در کنار مطالعات مشخص کننده جزییات کارکردی، فیزیولوژیکی و بافت شناسی در آینده نزدیک موجب گسترش راهکارهای درمانی مبتنی بر RNAهای حلقوی شود و زمینه ایجاد کارکردهای بالینی موفق و ایمن را فراهم آورد (۳۶).

REFERENCES

1. Warner JR. The economics of ribosome biosynthesis in yeast. Trend Biochem Sci 1999;24:437-40.

2. Jeck WR, Sorrentino JA, Wang K, Slevin MK, Burd CE, Liu J, et al. Circular RNAs are abundant, conserved, and associated with ALU repeats. RNA 2013;19:141-57.

3. Barrett SP, Wang PL, Salzman J. Circular RNA biogenesis can proceed through an exon-containing lariat precursor. Elife 2015;4:e07540.

4. Noori-Daloii M. Medical molecular genetics in the third millennium. Tehran, Iran: Samer Publication; 2012. [In Persian]

5. Noori-Daloii M, ed. Emery's elements of medical genetics.8th ed. Tehran, Iran: Jame-negar and Salemi Publication; 2017. [In Persian]

6. Salzman J, Gawad C, Wang PL, Lacayo N, Brown PO. Circular RNAs are the predominant transcript isoform from hundreds of human genes in diverse cell types. PloS One 2012;7:e30733.

7. Nigro JM, Cho KR, Fearon ER, Kern SE, Ruppert JM, Oliner JD, et al. Scrambled exons. Cell 1991;64:607-13.

8. Capel B, Swain A, Nicolis S, Hacker A, Walter M, Koopman P, et al. Circular transcripts of the testis-determining gene Sry in adult mouse testis. Cell 1993;73:1019-30.

9. Koopman P, Münsterberg A, Capel B, Vivian N, Lovell-Badge R. Expression of a candidate sex-determining gene during mouse testis differentiation. Nature 1990;348:450.

10. Taulli R, Loretelli C, Pandolfi PP. From pseudo-ceRNAs to circ-ceRNAs: a tale of cross-talk and competition. Nat Struct Mol Biol 2013;20:541.

11. Thomson DW, Dinger ME. Endogenous microRNA sponges: evidence and controversy. Nat Rev Genet 2016;17:272.

12. Xiao-Jie L, Ai-Mei G, Li-Juan J, Jiang X. Pseudogene in cancer: real functions and promising signature. J Med Genet 2015;52:17-24.

13. Hansen TB, Kjems J, Damgaard CK. Circular RNA and miR-7 in cancer. Cancer Res 2013;73:5609-12.

14. Salzman J. Circular RNA expression: its potential regulation and function. Trends Genet 2016;32:309-16.

15. Jeck WR, Sharpless NE. Detecting and characterizing circular RNAs. Nat Biotech 2014;32:453.

16. Cocquerelle C, Mascrez B, Hetuin D, Bailleul B. Mis-splicing yields circular RNA molecules. FASEB J 1993;7:155-60.

17. Zaphiropoulos PG. Exon skipping and circular RNA formation in transcripts of the human cytochrome P-450 2C18 gene in epidermis and of the rat androgen binding protein gene in testis. Mol Cell Biol 1997;17:2985-93.

18. Surono A, Takeshima Y, Wibawa T, Ikezawa M, Nonaka I, Matsuo M. Circular dystrophin RNAs consisting of exons that were skipped by alternative splicing. Hum Mol Genet 1999;8:493-500.

19. Li X-F, Lytton J. A circularized sodium-calcium exchanger exon 2 transcript. J Biol Chem 1999;274:8153-60.

20. Houseley JM, Garcia-Casado Z, Pascual M, Paricio N, O'dell KM, Monckton DG, et al. Noncanonical RNAs from transcripts of the *Drosophila muscleblind* gene. J Hered 2006;97:253-60.

21. Burd CE, Jeck WR, Liu Y, Sanoff HK, Wang Z, Sharpless NE. Expression of linear and novel circular forms of an INK4/ARF-associated non-coding RNA correlates with atherosclerosis risk. PLoS Genet 2010;6:e1001233.

22. Hansen TB, Wiklund ED, Bramsen JB, Villadsen SB, Statham AL, Clark SJ, et al. miRNA -dependent g silencing involving Ago2 J mediated cleavage of a circular antisense RNA. E 2011;30:4414-22.

23. Zheng Q, Bao C, Guo W, Li S, Chen J, Chen B, et al. Circular RNA profiling reveals an abundant circHIPK3 that regulates cell growth by sponging multiple miRNAs. Nat Commun 2016;7:11215.

24. Conn SJ, Pillman KA, Toubia J, Conn VM, Salmanidis M, Phillips CA, et al. The RNA binding protein quaking regulates formation of circRNAs. Cell 2015;160:1125-34.

25. Salzman J, Chen RE, Olsen MN, Wang PL, Brown PO. Cell-type specific features of circular RNA expression. PLoS Genet 2013;9:e1003777.

26. Chen C-y, Sarnow P. Initiation of protein synthesis by the eukaryotic translational apparatus on circular RNAs. Science 1995;268:415-7.

27. Szabo L, Morey R, Palpant NJ, Wang PL, Afari N, Jiang C, et al. Statistically based splicing detection reveals neural enrichment and tissue-specific induction of circular RNA during human fetal development. Genome Biol 2015;16:126.

28. Vicens Q, Westhof E. Biogenesis of circular RNAs. Cell 2014;159:13-4.

29. Memczak S, Jens M, Elefsinioti A, Torti F, Krueger J, Rybak A, et al. Circular RNAs are a large class of animal RNAs with regulatory potency. Nature 2013;495:333.

30. Starke S, Jost I, Rossbach O, Schneider T, Schreiner S, Hung L-H, et al. Exon circularization requires canonical splice signals. Cell Rep 2015;10:103-11.

31. Chen L-L, Yang L. Regulation of circRNA biogenesis. RNA Biol 2015;12:381-8.

32. Barrett SP, Salzman J. Circular RNAs: analysis, expression and potential functions. Development 2016;143:1838-47.

33. Cocquet J, Chong A, Zhang G, Veitia RA. Reverse transcriptase template switching and false alternative transcripts. Genomics 2006;88:127-31.

34. Ghosal S, Das S, Sen R, Basak P, Chakrabarti J. Circ2Traits: a comprehensive database for circular RNA potentially associated with disease and traits. Front Genet 2013;4:283.

35. Chen Z, Liu K, Yan Z, Xiang S, Sun Z. nc2Cancer: a database for cancer-associated human ncRNAs. Chin J Bioinformatics 2015;13:77-81.

36. Chen Y, Li C, Tan C, Liu X. Circular RNAs: a new frontier in the study of human diseases. J Med Genet 2016;53:359-65.

37. O.A.MJT. K. A small piece in the cancer puzzle: microRNAs as tumor suppressors and oncogenes. Oncogene 2006;25:96-188.

38. Hansen TB, Jensen TI, Clausen BH, Bramsen JB, Finsen B, Damgaard CK, et al. Natural RNA circles function as efficient microRNA sponges. Nature 2013;495:384.

39. Dong Y, He D, Peng Z, Peng W, Shi W, Wang J, et al. Circular RNAs in cancer: an emerging key player. J Hematol Oncol 2017;10:2.

40. Chénard CA, Richard S. New implications for the QUAKING RNA binding protein in human disease. J Neurosci Res 2008;86:233-42.

41. Guarnerio J, Bezzi M, Jeong JC, Paffenholz SV, Berry K, Naldini MM, et al. Oncogenic role of fusion-circRNAs derived from cancer-associated chromosomal translocations. Cell 2016;165:289-302.

42. Meyerson M, Gabriel S, Getz G. Advances in understanding cancer genomes through second-generation sequencing. Nat Rev Genet 2010;11:685.

43. Huang G, Zhu H, Shi Y, Wu W, Cai H, Chen X. cir-ITCH plays an inhibitory role in colorectal cancer by regulating the Wnt/β-catenin pathway. PloS One 2015;10:e0131225.

44. Padala RR, Karnawat R, Viswanathan SB, Thakkar AV, Das AB. Cancerous perturbations within the ERK, PI3K/Akt, and Wnt/β-catenin signaling network constitutively activate inter-pathway positive feedback loops. Mol Biosyst 2017;13:830-40.

45. Weng W, Wei Q, Toden S, Yoshida K, Nagasaka T, Fujiwara T, et al. Circular RNA ciRS-7—a promising prognostic biomarker and a potential therapeutic target in colorectal cancer. Clin Cancer Res 2017; 23:3918-28.

46. Greene J, Baird A-M, Brady L, Lim M, Gray SG, McDermott R, et al. Circular RNAs: biogenesis, function and role in human diseases. Front Mol Biosci 2017;4:38.

47. Li F, Zhang L, Li W, Deng J, Zheng J, An M, et al. Circular RNA ITCH has inhibitory effect on ESCC by suppressing the Wnt/β-catenin pathway. Oncotarget 2015;6:6001.

48. Wan L, Zhang L, Fan K, Cheng Z-X, Sun Q-C, Wang J-J. Circular RNA-ITCH suppresses lung cancer proliferation via inhibiting the Wnt/β-catenin pathway. Biomed Res Int 2016;2016.

49. Wang K, Sun Y, Tao W, Fei X, Chang C. Androgen receptor (AR) promotes clear cell renal cell carcinoma (ccRCC) migration and invasion via altering the circHIAT1/miR-195-5p/29a-3p/29c-3p/CDC42 signals. Cancer let 2017;394:1-12.

50. Humphries B, Yang C. The microRNA-200 family: small molecules with novel roles in cancer development, progression and therapy. Oncotarget 2015;6:6472.

51. Noori-Daloii M, Alvandi E. Micro RNA: little but mysterious, and its use: a review article. The Journal of Faculty of Medicine, TUMS 2006;64:5-19.[In Persian]

52. Noori-Daloii MR, Nejatizadeh A. MicroRNA in disease and health: diagnostic and therapeutic potentials. Gene Therapy Development and Future Perspectives. Rijeka, Croatia: InTech; 2011. P.93-120.

53. Noori-Daloii M, Vand Rajabpour F. Roles of miRNAs in gene expression regulation, apoptosis, diagnosis and treatment of cancer. Medical Science Journal of Islamic Azad university-Tehran Medical Branch 2011;21.3:151-61. [In Persian]

54. Bhattacharya A, Cui Y. SomamiR 2.0: a database of cancer somatic mutations altering microRNA–ceRNA interactions. Nucleic Acids Res 2015;44:D1005-10.

55. Peng L, Yuan XQ, Li GC. The emerging landscape of circular RNA ciRS-7 in cancer. Oncol Rep 2015;33:2669-74.

56. Yu L, Gong X, Sun L, Zhou Q, Lu B, Zhu L. The circular RNA Cdr1as act as an oncogene in hepatocellular carcinoma through targeting miR-7 expression. PloS One 2016;11:e0158347.

57. Qin M, Liu G, Huo X, Tao X, Sun X, Ge Z, et al. Hsa_circ_0001649: a circular RNA and potential novel biomarker for hepatocellular carcinoma. Cancer Biomark 2016;16:161-9.

58. Shang X, Li G, Liu H, Li T, Liu J, Zhao Q, et al. Comprehensive circular RNA profiling reveals that hsa_circ_0005075, a new circular RNA biomarker, is involved in hepatocellular crcinoma development. Medicine 2016;95: e3811.

59. Dou Y, Cha DJ, Franklin JL, Higginbotham JN, Jeppesen DK, Weaver AM, et al. Circular RNAs are down-regulated in KRAS mutant colon cancer cells and can be transferred to exosomes. Sci Rep 2016;6:37982.

60. Ye Q, Yao G, Zhang M, Guo G, Hu Y, Jiang J, et al. A novel ent-kaurane diterpenoid executes antitumor function in colorectal cancer cells by inhibiting Wnt/β-catenin signaling. Carcinogenesis 2015;36:318-26.

61.Li P, Chen S, Chen H, Mo X, Li T, Shao Y, et al. Using circular RNA as a novel type of biomarker in the screening of gastric cancer. Clin Chim Acta 2015;444:132-6.

62. Chen J, Li Y, Zheng Q, Bao C, He J, Chen B, et al. Circular RNA profile identifies circPVT1 as a proliferative factor and prognostic marker in gastric cancer. Cancer Lett 2017;388:208-19.

63. 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. Sci Rep 2016;6:30919.

64. Qu S, Song W, Yang X, Wang J, Zhang R, Zhang Z, et al. Microarray expression profile of circular RNAs in human pancreatic ductal adenocarcinoma. Genom Data 2015;5:385-7.

65. Boeckel J-N, Jaé N, Heumüller AW, Chen W, Boon RA, Stellos K, et al. Identification and characterization of hypoxia-regulated endothelial circular RNA. Circ Res 2015: 117:884-90.

66. Tan WL, Lim BT, Anene-Nzelu CG, Ackers-Johnson M, Dashi A, See K, et al. A landscape of circular RNA expression in the human heart. Cardiovasc Res 2016;113:298-309.

67. Jakobi T, Czaja-Hasse LF, Reinhardt R, Dieterich C. Profiling and validation of the circular RNA repertoire in adult murine hearts. Genomics Proteomics Bioinformatics 2016;14:216-23.

68. Zhao Z, Li X, Gao C, Jian D, Hao P, Rao L, et al. Peripheral blood circular RNA hsa_circ_0124644 can be used as a diagnostic biomarker of coronary artery disease. Sci Rep 2017;7:39918.

69. Xu H, Guo S, Li W, Yu P. The circular RNA Cdr1as, via miR-7 and its targets, regulates insulin transcription and secretion in islet cells. Sci Rep 2015;5:12453.

70. You X, Vlatkovic I, Babic A, Will T, Epstein I, Tushev G, et al. Neural circular RNAs are derived from synaptic genes and regulated by development and plasticity. Nat Neurosci 2015;18:603.

71. Lukiw W. Circular RNA (circRNA) in Alzheimer's disease (AD). Front Genet 2013;4:307.

72.Panda AC, Abdelmohsen K, Gorospe M. RT-qPCR detection of senescence-associated circular RNAs. Methods Mol Biol 2017;1534:79-87.

73. Campisi J. Aging, cellular senescence, and cancer. Ann Rev Physiol 2013;75:685-705.

74. Lehmann SM, Krüger C, Park B, Derkow K, Rosenberger K, Baumgart J, et al. An unconventional role for miRNA: let-7 activates Toll-like receptor 7 and causes neurodegeneration. Nat Neurosci 2012;15:827.

75. Panda AC, Grammatikakis I, Kim KM, De S, Martindale JL, Munk R, et al. Identification of senescence-associated circular RNAs (SAC-RNAs) reveals senescence suppressor CircPVT1. Nucleic Acids Res 2016;45:4021-35.

76. Abbosh C, Birkbak NJ, Wilson GA, Jamal-Hanjani M, Constantin T, Salari R, et al. Phylogenetic ctDNA analysis depicts early-stage lung cancer evolution. Nature 2017;545:446.

77. Reid G, Pel M, Kirschner M, Cheng Y, Mugridge N, Weiss J, et al. Restoring expression of miR-16: a novel approach to therapy for malignant pleural mesothelioma. Ann Oncol 2013;24:3128-35.