

综述

circRNA在病毒感染及相关疾病诊断中的研究进展

李静 滕培英 陈伟*

(昆明理工大学医学院, 昆明 650500)

摘要 环状RNA(circular RNA, circRNA)是一种新型非编码RNA, 由mRNA在转录后加工过程中反向剪接形成。不同于线性RNA, circRNA是以共价键连接形成的闭合环状结构, 缺少5'末端帽子和3'末端poly(A)尾巴结构。circRNA可作为miRNA(microRNA)的分子海绵, 也可在细胞发生过程中发挥多种功能。此外, circRNA在机体免疫调控过程中也扮演了重要角色, 参与了多种疾病的发生发展, 因此对circRNA的深入探索可为治疗人类疾病提供重要的理论依据。该文就circRNA的生物合成、分类和功能作综述, 重点讨论circRNA对病毒感染的调控机制以及circRNA作为病毒检测标记物和药物靶点的研究进展, 从而为病毒性疾病的诊断提供新的参考依据和方向。

关键词 circRNA; 病毒感染; 病毒性疾病; miRNAs

Research Progress of CircRNA in Viral Infection and Related Disease Diagnosis

LI Jing, TENG Peiying, CHEN Wei*

(Medical School, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650500, China)

Abstract circRNA (circular RNA), a novel type of non-coding RNA, is formed by the “back-splicing” of mRNA during post-transcriptional processing. Unlike the linear RNA, circRNA is covalently linked to form a closed circular structure without 5' end cap or 3' poly(A) tail. circRNA acts as a miRNA (microRNA) sponge and also plays a variety of functions in the process of cytogenesis. In addition, circRNA plays an important role in the process of immune regulation and is involved in the development of diseases. Therefore, the further research of circRNA can provide an important theoretical basis for the treatment of human diseases. In this review, a comprehensive overview on the biogenesis, classification, and functions of circRNA is provided. Especially, the regulatory mechanism of circRNA on viral infection and the research progress of circRNA as viral detection marker and drug target and drug target are mainly discussed, so as to provide reference basis and direction for the diagnosis of viral diseases.

Keywords circRNA; viral infection; viral diseases; miRNAs

在真核生物细胞中, 具有编码功能的 mRNA 在转录组中约占 2%, 由此可知, 在转录组中存在着丰富的非编码 RNA(non-coding RNA, ncRNA)。

研究显示, ncRNA 调控生物的生命活动, 具有多种生物学功能^[1]。其中, 环状 RNA(circular RNA, circRNA)是近年发现的一种特殊的内源性 ncRNA,

收稿日期: 2021-01-13 接受日期: 2021-03-22

国家自然科学基金(批准号: 81860357)资助的课题

*通讯作者。Tel: 0871-65936565, E-mail: 55685836@qq.com

Received: January 13, 2021

Accepted: March 22, 2021

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.81860357)

*Corresponding author. Tel: +86-871-65936565, E-mail: 55685836@qq.com

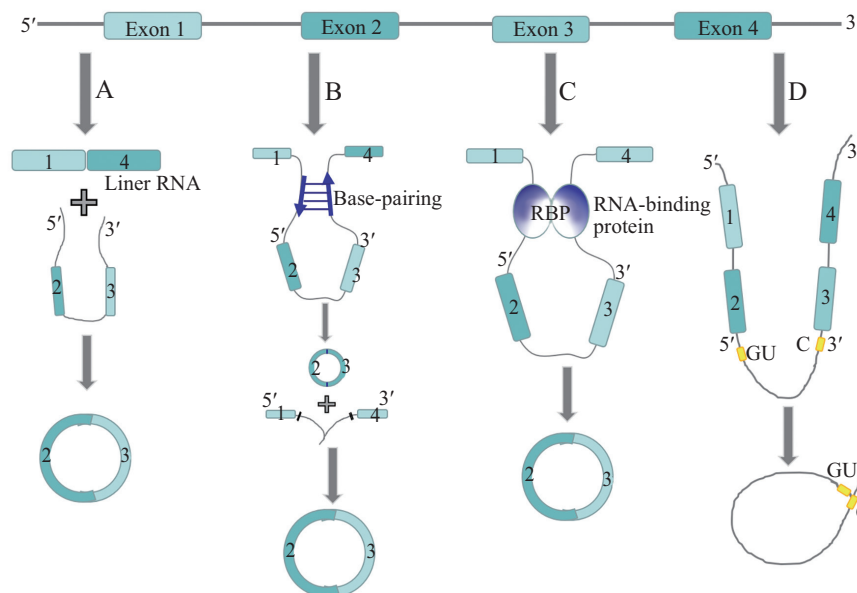
广泛存在于哺乳动物细胞中^[2]。circRNA最早在RNA病毒中被发现,SANGER等^[3]将其描述为单链共价闭合环状的RNA分子。随后,研究人员也在转录本中发现了一些circRNA,但这些circRNA被认为是mRNA剪接的副产品,未受到过多关注。近些年,随着高通量测序技术的发展,大量的circRNA分子相继被发现。与线性RNA结构不同,circRNA是一类共价闭合环状RNA分子,缺乏可结合的非编码末端,不易被核酸外切酶降解,具有更高的稳定性^[4]。circRNA不仅可以作为竞争性内源RNA(competing endogenous RNA, ceRNA)捕捉miRNA,也可以调控选择性剪接和基因表达,还可以作为支架组装形成蛋白质复合物,同时还编码蛋白质以及充当rRNA和tRNA生物合成的调节器,在细胞各种生物学过程中发挥作用^[5]。此外,研究数据表明,circRNA参与了病原微生物的感染,并在其逃逸机体天然免疫过程中发挥了重要作用^[6]。因此,该文对circRNA的生物合成、分类和功能进行了概述,重点针对circRNA对病毒复制的调控机制进行了讨论。同时,对circRNA可作为病毒性疾

病检测标记物和药物靶点的研究进行了展望,以期病毒性疾病的预防和诊断提供依据。

1 circRNA概述

1.1 circRNA生物合成

circRNA是利用反向可变剪接机制,在RNA聚合酶II催化作用下,将mRNA前体的下游供体位点与上游受体位点进行连接得到的共价闭合的环状RNA,在真核生物中广泛存在^[7]。由于经典剪接信号和经典剪接体机制也是circRNA形成过程中所必需的,因此,JECK等^[8]提出了circRNA的两种合成假说——“套索驱动环化”与“内含子驱动环化”。在“套索驱动环化”假说中,两个不连续的外显子连接在一起,形成线性RNA和富含长内含子的套索,然后去除套索中的内含子,得到成熟的circRNA。在该假说中,经典剪接发生在前(图1A)。反之,如果反向剪接先发生,则直接产生circRNA和“外显子-内含子-外显子”中间产物,这些中间产物被直接降解,或经过进一步加工得到线性RNA,该假说为“内含子驱动环化”(图1B)。在这两种假说中,理论上circRNA的表



A: 套索驱动环化。mRNA前体通过反向剪接生成线性RNA和长内含子套索,套索进一步形成circRNA。B: 内含子配对驱动环化。RNA反向重复或互补序列配对促进circRNA的形成。C: RBPs驱动环化。RBPs可以促进下游内含子和上游内含子之间的相互作用,形成circRNA。D: 内含子环化。5'剪接位点的GU元件与3'剪接位点的C元件连接形成circRNA。

A: lariat-driven circularization. Pre-mRNA can be processed through back-splicing to generate a linear RNA and a long intron lariat, which are then back-spliced to generate a circRNA. B: intron pairing-driven circularization. The processing of circRNA can be facilitated by RNA pairing of reversely complementary or repetition sequences. C: RBPs-driven circularization. The processing of circRNA can be facilitated by RBPs that promote the interaction between upstream and downstream introns. D: intron circularization. Formation of circRNA mainly depends on the connection of a GU-rich element near the 5' splice site and a C-rich element near the 3' splice site.

图1 circRNA的生物合成

Fig.1 Biosynthesis of circRNA

达都与选择性剪接形成的线性RNA相关,从而使得人们对circRNA的形成有了初步认识。

进一步的研究表明, circRNA的内含子驱动环化依赖于顺式作用元件,跨侧翼内含子的RNA可以通过重复的Alu序列或非重复但互补的序列进行配对,从而促进circRNA的环化^[8-9]。除了顺式作用元件之外,多种RNA结合蛋白(RNA-binding proteins, RBPs)也被证明可驱动circRNA环化^[10]。盲肌样蛋白1(muscleblind-like protein 1, MBNL1)和腺苷脱氨酶1(adenosine deaminase 1, ADAR1)等RBPs,通过与侧翼内含子的结合,调控circRNA的合成(图1C)。MBNL1与mRNA前体结合并连接两个相邻的内含子,诱导反向剪接,从而促使circRNA表达上调^[11]。相反,ADAR1在dsRNA(double-stranded RNA)区域促进腺苷向肌苷转化,降低RNA配对结构的生成,导致RNA配对的减少,从而抑制circRNA的合成^[12]。此外,ZHANG等^[13]发现,来源于内含子的circRNA是由其mRNA中的GU和C元件连接后形成的(图1D)。

1.2 circRNA的分类

mRNA前体经转录后加工可产生多种不同类型的circRNA,根据circRNA的生物合成机制不同,目前主要存在三种被广泛定义的circRNA异构体:外显子circRNA(exonic circRNA, ecircRNA)、外显子-内含子circRNA(exonic-intronic circRNA, EIciRNA)和环内含子RNA(circular intronic RNA, ciRNA)^[5]。ecircRNA由一个或多个外显子组成,主要存在于细胞质中。当前体mRNA经过可变剪接后,产生包含外显子和内含子的套索结构,随后清除内含子,通过磷酸二酯键连接外显子后得到ecircRNA,其可在机体中发挥多种作用。EIciRNA是由套索内含子在经典剪接过程中衍生所得,它由外显子和内含子共

同组成,位于细胞核中。ciRNA仅由内含子组成,也主要位于细胞核中,且不与脱支酶反应,因此不易被降解^[14]。此外,最近的研究还报道了一类新的circRNA, tRNA内含子circRNA(tRNA intronic circRNA, tricRNA),它由tRNA前体内含子剪接形成^[15]。tRNA剪接酶将tRNA前体分成两部分,其中一部分是由3'-5'磷酸二酯键生成的tricRNA,另一部分则生成tRNA(表1)。

1.3 circRNA的生物学功能

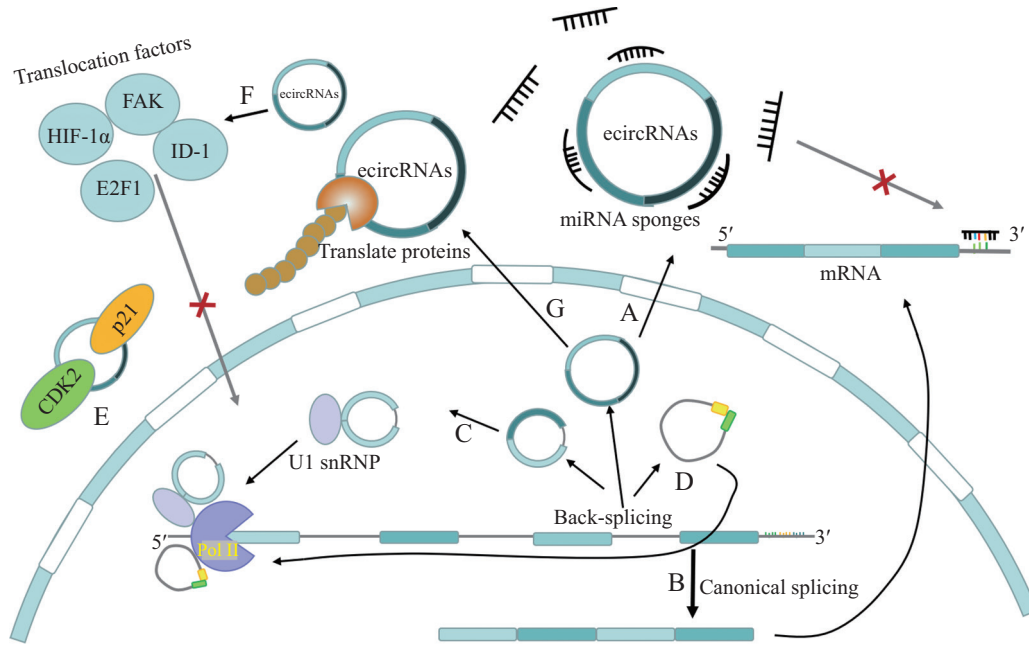
1.3.1 circRNA作为miRNA的分子海绵 circRNA作为竞争性内源RNA,最早被证明具有miRNA分子海绵作用^[16]。人们最先观察到在一些circRNA上存在miRNA结合位点,因此推测这些circRNA可能作为miRNA分子海绵发挥作用(图2A)。第一个被鉴定的circRNA是由小脑退化相关反义蛋白1基因编码产生的CIRS-7。CIRS-7含有七十多个miR-7结合位点,可与靶基因竞争性结合miR-7,进而削弱miR-7对靶基因的调控作用^[17]。此外研究还发现,CIRS-7/miR-7相互作用与多种癌症(如神经母细胞瘤、星形细胞瘤、肺癌和宫颈癌)的发生高度相关^[18]。Kruppel样因子4(Kruppel-like factor 4, KLF4)是miR-7的靶点,并对宫颈癌细胞的生长具有抑制作用。CIRS-7通过抑制miR-7使KLF4表达上调,进而调控肿瘤的发生。

1.3.2 circRNA调控亲本基因的表达 circRNA可以从选择性剪接和转录两方面对亲本基因进行调控。由于反向剪接和经典剪接之间存在竞争,因此circRNA的生物合成会导致mRNA前体选择性剪接的降低(图2B)^[11]。ASHWAL-FLUSS等^[11]发现, circMBL是由剪接因子MBL(muscleblind)的第二个外显子编码的,且与侧翼内含子均具有MBL结合位

表1 circRNA的分类及其功能

Table 1 Classification and function of circRNA

种类 Species	组成 Composition	主要位置 Primary positions	功能 Functions
ecircRNA	Comprised of exons	Cytoplasm	Function as miRNA sponge; affect gene expression by binding RBPs; translate into proteins
EIciRNA	Contained exons and introns	Nucleus	Regulate gene transcription; regulate alternative splicing; as a <i>de novo</i> transcription template by Pol II catalysis
ciRNA	Only introns	Nucleus	Regulate gene transcription and alternative splicing; affect the efficiency of gene transcription; as a <i>de novo</i> transcription template by Pol II catalysis
tricRNA	Intron-containing tRNA	Nucleus	Regulate the formation of tRNA



A: miRNA分子海绵作用。B: circRNA通过选择性剪切调控亲本基因表达。C: circRNA在转录起始水平对亲本基因表达的调控。D: circRNA在转录延伸水平对亲本基因表达的调控。E: circRNA抑制转录因子进入细胞核。F: 蛋白质编码活性。G: circRNA抑制细胞周期的进程。
A: molecular sponges for miRNA. B: circRNA regulates parental gene expression through alter-native splicing. C: circRNA regulates parental gene expression at the initiation step of transcription. D: circRNA regulates parental gene expression during the elongation of transcription. E: circRNA inhibits the entry of transcription factors into the nucleus. F: protein-coding activity. G: circRNA blocks the cell cycle progression.

图2 circRNA的生物学功能
Fig.2 Biological functions of circRNA

点, 因此其形成受MBL水平的调节; 当MBL蛋白水平表达过高时, 机体通过增加circMBL的表达下调MBL mRNA的表达。该研究结果表明, MBL可调控circRNA生物合成与经典剪接之间的平衡。此外, circRNA也可以充当“mRNA陷阱”, 隔离翻译起始位点来调节选择性剪接。CHAO等^[19]发现, 小鼠*Fmn*基因可以产生包含翻译起始位点的circRNA, 只留下非编码的线性转录本, 从而降低*Fmn*蛋白的表达水平。

细胞核中的circRNA还可在不同时期对亲本基因转录进行调控。在转录起始阶段, EICiRNA与RNA结合调控亲本基因的转录活性(图2C)。circPAIP2和circEIF3J首先与核小核糖核蛋白(small nuclear ribonucleoproteins, snRNP) U1结合形成EICiRNA-snRNP复合物, 然后与启动子位点的RNA聚合酶II相互作用, 从而增强亲本基因的转录。同时, EICiRNA对转录也具有负调控作用。EICi-SEP3与同源DNA位点结合后可阻断对应线性RNA与DNA的结合, 导致SEP3(SEPALLATA3)基因转录的终止。此外, 在转录延伸阶段, ciRNA还可直接与聚合酶结合发挥作用(图2D), 如ci-ankrd52与磷酸化RNA聚合

酶II相互作用, 降低亲代mRNA的水平^[20]。

1.3.3 circRNA调节细胞蛋白功能 circRNA作为组装蛋白质复合物的支架, 调节蛋白质在多种生物过程中的作用。细胞周期蛋白依赖性激酶2(cyclin-dependent kinase 2, CDK2)与细胞周期蛋白A和E相互作用, 促进细胞由G₁期向S期的转变。对小鼠细胞系NIH3T3的研究显示, circ-FOXO3与CDK2、细胞周期蛋白依赖性激酶抑制因子1A(cyclin-dependent kinase inhibitor 1A, p21)相互作用形成的circ-FOXO3/CDK2/p21三元复合物(RNA-蛋白质复合物)可降低CDK2的活性, 从而抑制细胞周期的进程以响应细胞的过度生长(图2E)^[21]。此外, circRNA还可以影响细胞蛋白的亚细胞定位。circ-FOXO3主要存在于细胞质中, 与分化抑制因子-1(inhibitor of differentiation-1, ID-1)、转录因子E2F1(E2F transcription factor 1)、黏着斑激酶(focal adhesion kinase, FAK)和缺氧诱导因子-1α(hypoxia inducible factor-1α, HIF-1α)相互作用, 抑制它们的易位, 使其滞留在细胞质中, 从而促进心脏衰老(图2F)^[22]。

1.3.4 circRNA具有蛋白质编码活性 circRNA最

初被定义为一类不具有翻译功能的ncRNA,但近年有研究发现,一些ecircRNAs具有核糖体内部进入位点(internal ribosome entry site, IRES),可被翻译成蛋白质或肽;还有一些ecircRNAs虽然没有IRESs但含有N6-甲基腺嘌呤(N6-methyl-adenosine, m6A)修饰位点,也可以启动蛋白翻译过程(图2G)。PAMU-DURTI等^[23]利用核糖体足迹和质谱分析等方法对果蝇头部和哺乳动物肌肉细胞中circRNA的转录本翻译信息进行了分析,发现了circRNA在翻译过程中不同于其他RNA的特性。circRNA在膜相关的核糖体上翻译,且与宿主基因共享一个起始密码子,并有一个进化保守的终止密码子。此外,LEGINI等^[24]通过多聚体和蛋白质印迹鉴定也证明了circRNA衍生蛋白的存在,如锌指蛋白609基因编码的circZNF609在小鼠和人类骨骼肌中都具有编码活性。

1.3.5 circRNA调节rRNA和tRNA的产生 在真核生物中,反义非编码circANRIL通过与60S核糖体必需因子PES1(pescadillo ribosomal biogenesis factor 1)结合,从而调控rRNA的成熟^[25]。同样,在一些古生菌中, circRNA可在rRNA加工过程中充当中间体的作用^[26]。此外, circRNA也是tRNA生物合成的重要中间产物,用于颠倒tRNA的5'和3'末端的排列顺序^[27]。

2 circRNA在病毒感染中的调控机制

病毒感染后,在生物体内检测到大量病毒编码和宿主差异表达的circRNA,它们调控着病毒的复制、宿主细胞的生命周期和疾病的发生发展,在病毒感染和宿主抗病毒免疫中起着重要作用。

2.1 病毒编码circRNA调控病毒感染

众所周知,病毒的感染与人类恶性肿瘤的发生有关,如机体被EBV(Epstein-Barr virus)感染后,可导致B细胞淋巴瘤、鼻咽癌和胃癌的发生。在病毒感染过程中, circRNA主要通过作为miRNA的分子海绵调节机体的免疫应答。TOPTAN等^[28]通过对EBV感染的淋巴瘤样本进行高通量测序,筛选得到EBV编码的circRPMS1。circRPMS1由非编码基因RPMS1反向剪接形成,存在不同表达水平的异构体circRPMS1_E4_E2和circRPMS1_E4_E3a,在所有EBV潜伏期的细胞中均可检测到两者的表达。同样,EBV在体外感染B细胞系LCLd3后,宿主miRNA表达降低,推测是由于EBV编码的circRNA与miRNA作用后,抑制miRNA的表达进而参与细胞周期和

病毒感染的调节^[29]。以上结果均表明,EBV编码的circRNA可能通过对宿主miRNA的海绵作用来调节EBV感染和肿瘤的发生。

除了DNA病毒,单链RNA病毒和逆转录病毒也编码circRNA。甲型流感病毒(influenza A virus, IAV)作为引起流行性感冒的重要病原体,传染性强且易诱发严重并发症,曾多次席卷全球,给人类带来巨大灾难。为了解circRNA调控IAV感染的机制,YU等^[30]研究发现,H1N1(hemagglutinin 1 neuraminidase 1)感染A549细胞株后, circGATAD2A表达水平升高。敲除circGATAD2A后发现,H1N1复制被抑制,细胞自噬增加;相反,过表达circGATAD2A则会降低细胞自噬,促进H1N1复制。进一步研究发现, circGATAD2A通过与液泡分选蛋白34(vacuolar sorting protein 34, Vps34)相互作用,抑制细胞的自噬并促进H1N1的复制。以上结果说明, circGATAD2A以依赖VPS34的细胞自噬方式调节IAV复制。

2.2 宿主编码circRNA调控病毒感染

当被病毒感染后,宿主细胞的circRNA表达谱被调控以诱导抗病毒天然免疫反应。在抗病毒的天然免疫系统中, dsRNA结合蛋白是关键因子,其通过诱导细胞和病毒RNA的变化来抑制病毒复制。dsRNA结合蛋白NF90(nuclear factor 90)和NF110(nuclear factor 110)存在于细胞中,当无病毒感染时,细胞核中的NF90和NF110与内含子序列相互作用,促进circRNA的生成;随后,细胞质中的NF90和NF110与circRNA结合,形成NF90/NF110/circRNP复合体。当被病毒感染后,NF90/NF110从细胞核输出到细胞质, circRNA的形成减少,NF90和NF110从circRNP中释放,与病毒mRNA结合,抑制病毒的翻译。同时,核糖核酸酶L(ribonuclease L, RNaseL)降解宿主circRNA,释放蛋白激酶R(protein kinase R, PKR)^[5,31]。

当被卡西波肉瘤病毒(Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus, KSHV)感染后,在原代人脐静脉内皮细胞和B细胞系MC116中发现了数百种差异表达的宿主circRNAs。其中, hsa_CIRC_0001400是宿主细胞中表达水平最高的circRNA。 hsa_CIRC_0001400可以与病毒编码的miR-K12-10b结合,其过表达可以抑制病毒重要潜伏基因LANA(latency-associated nuclear antigen)和裂解基因RTA(replication and transcription activator)的表达,从而降低病毒感染率。同

时,在干扰素刺激基因的定量研究中发现,肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, *TNF*)基因的表达被 *hsa_CIRC_0001400* 上调^[32]。以上结果表明, *hsa_CIRC_0001400* 能够抑制 KSHV 的感染,并可能通过激活 *TNF* 介导免疫反应的产生,从而在抗病毒过程中发挥重要作用。同样,宿主细胞中的 *circRNA* 在丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)复制中也起着重要作用。*miR-122* 是病毒复制过程中的关键因子, JOST 等^[33] 研究发现,在 HCV 细胞培养系统中, *circRNA* 通过隔离 *miR-122* 来抑制病毒蛋白的产生,从而发挥抗病毒作用。综上所述,宿主编码的 *circRNA* 在宿主-病毒相互作用中发挥了关键的调节作用,可能为病毒引起的疾病提供新的潜在治疗靶点。

3 *circRNA* 作为病毒检测标记物和药物靶点

深入研究 *circRNA* 的功能可以使我們更好地了解疾病的发生机制,从而对病毒性疾病预防以及治疗。目前,甲胎蛋白(alpha fetoprotein, AFP)是乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)所致的肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)的生物标志物,但由于 AFP 具有非特异性,在 HCC 的检测中敏感度较低。*circRNA* 在体液中含量丰富,且具有抗 RNA 核酸外切酶的特性,因此近些年来越来越多的被用作诊断潜在疾病的生物标志物。2018 年报道的 *circRNA hsa_CIRC_0005075* 在 HCC 组织中的表达谱与正常组织相比具有显著差异,且与肝癌肿瘤大小有很强的相关性,因此可成为一种稳定有效和特异强的潜在生物检测标志物^[34]。随后, YU 等^[35] 通过微阵列筛选和定量逆转录聚合酶链式反应,确定了一个含有三个 *circRNAs* (包括 *hsa_CIRC_0000976*、*hsa_CIRC_0007750* 和 *hsa_CIRC_0139897*) 的血浆 *circRNA* 板(plasma circular RNA panel, CircPanel)也可用于有效检测 HCC。CircPanel 在诊断 HCC 和小肝癌方面,不仅优于 AFP,同时也能有效识别 AFP 阴性的 HCC,因此 CircPanel 在 HCC 的临床诊断中也可作为潜在的生物标志物^[36]。此外,在鉴别是否由病毒引起的肺炎方面, *hsa_CIRC_0026579* 在病毒性肺炎患者中的表达水平明显高于非病毒性肺炎患者,突出了其强大的临床应用潜力。

circRNA 不仅可以作为潜在诊断病毒性疾病的生物标志物,也可以作为疾病治疗的靶点。在 HCV

的生命周期中, *miR-122* 与病毒基因组末端结合位点结合,保护病毒 RNA 免受 Xrn-1 的核外降解,从而促进病毒复制和翻译^[37]。基于 *miR-122* 的功能, BREUER 和 ROSSBACH^[38] 设计了能有效隔离 *miR-122* 的专一的 *circRNA*。该研究结果提供了一种依赖于体外转录和 RNA 连接产生的人造 *circRNA* 海绵的技术,同时也为 *circRNA* 在病毒性疾病中的应用奠定了基础。ZHANG 等^[39] 利用 RNA 测序技术,分析了早期人类免疫缺陷病(human immunodeficiency virus, HIV)患者中 *circRNA* 的特征,结果揭示了 *circRNA* 在早期 HIV 患者中的复杂致病机制,从而有利于调控 HIV 的复制,并为早期 HIV 患者的发病机制和抗病毒治疗提供新的靶点。

随着研究的不断深入发现,部分 *circRNA* 可同时具有生物标志物和疾病治疗靶点作用。在由人乳头瘤病毒(human papilloma virus, HPV)导致的宫颈癌组织和细胞系中检测发现, *hsa_CIRC_0007534* 通过抑制宫颈癌细胞中 *miR-498* 的表达水平,从而参与调节宫颈癌细胞的增殖和侵袭,可作为肿瘤抑制基因发挥作用^[40]。该研究结果表明, *hsa_CIRC_0007534* 不仅可作为宫颈癌的生物标志物,同时也是宫颈癌的治疗靶点。同样, LIU 等^[41] 研究发现, EBV 编码的 *circRPMS1* 在转移性鼻咽癌中增加,并与生存期短的现象相关,该研究结果提示, *circRPMS1* 可能是鼻咽癌诊断和预后的有用的生物标志物。进一步研究表明, *circRPMS1* 还可以通过海绵作用隔离 *miRNA*, 阻止它们对下游靶基因的抑制,促进上皮-间充质转化介导的鼻咽癌发生。在鼻咽癌模型中,敲除 *circRPMS1* 可抑制 EBV 阳性鼻咽癌细胞的增殖,诱导细胞凋亡,抑制细胞侵袭,表明 *circRPMS1* 可能成为 EBV 相关性鼻咽癌的治疗靶点。

4 展望

近些年,随着大量的 *circRNA* 的发现以及对其功能的研究, *circRNA* 介导的抗病毒免疫反应的重要性不断被揭示。由于 *circRNA* 具有共价闭合的环状结构,因此它们比线性 RNA 更稳定,可作为诊断病毒感染疾病的候选生物标志物及药物作用靶点。在本篇文章中,我们论述了 *circRNA* 的形成过程和功能,重点讨论了 *circRNA* 对病毒感染的调控机制,同时对 *circRNA* 作为病毒检测标记物和药物靶点的研究进

行了概述。然而在真核转录组中仍有大量功能未知的circRNA, 因此目前对circRNA在病毒感染和抗病毒免疫反应中机制的研究还有待进一步阐明。明确circRNA与宿主免疫系统在抗病毒免疫反应中的相互作用, 不仅有利于加深我们对circRNA生理功能的理解, 还可以提供针对病毒性疾病的潜在诊断和治疗策略。

参考文献 (References)

- [1] SUAREZ B, PRATS-MARI L, UNFRIED J P, et al. LncRNAs in the type I interferon antiviral response [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(17): 6447.
- [2] MA Y, ZHANG X, WANG Y Z, et al. Research progress of circular RNAs in lung cancer [J]. *Cancer Biol Ther*, 2019, 20(2): 123-9.
- [3] SANGER H L, KLOTZ G, RIESNER D, et al. Viroids are single-stranded covalently closed circular RNA molecules existing as highly base-paired rod-like structures [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1976, 73(11): 3852-6.
- [4] JIN X, FENG C Y, XIANG Z, et al. CircRNA expression pattern and circRNA-miRNA-mRNA network in the pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(41): 66455-67.
- [5] MAN W, FEI Y, WEI W, et al. Circular RNAs: a novel type of non-coding RNA and their potential implications in antiviral immunity [J]. *Int J Biol Sci*, 2017, 13(12): 1497-506.
- [6] GALLO A, BULATI M, MICELI V, et al. Non-coding RNAs: strategy for viruses' offensive [J]. *Noncoding RNA*, 2020, 6(3): 38.
- [7] QU S, ZHONG Y, SHANG R, et al. The emerging landscape of circular RNA in life processes [J]. *RNA Biol*, 2016, 14(8): 992-9.
- [8] JECK W R, SORRENTINO J A, WANG K, et al. Circular RNAs are abundant, conserved, and associated with ALU repeats [J]. *RNA*, 2013, 19(2): 141-57.
- [9] LIANG D, WILUSZ J E. Short intronic repeat sequences facilitate circular RNA production [J]. *Genes Dev*, 2014, 28(20): 2233-47.
- [10] CONN S J, PILLMAN K A, TOUBIA J, et al. The RNA binding protein quaking regulates formation of circRNAs [J]. *Cell*, 2015, 160(6): 1125-34.
- [11] ASHWAL-FLUSS R, MEYER M, PAMUDURTI N R, et al. circRNA biogenesis competes with pre-mRNA splicing [J]. *Mol Cell*, 2014, 56(1): 55-66.
- [12] NISHIKURA K. Functions and regulation of RNA editing by ADAR deaminases [J]. *Annu Rev Biochem*, 2009, 79(1): 321-49.
- [13] ZHANG Y, ZHANG X O, CHEN T, et al. Circular intronic long noncoding RNAs [J]. *Mol Cell*, 2013, 51(6): 792-806.
- [14] ZHAO X, CAI Y, XU J. Circular RNAs: biogenesis, mechanism, and function in human cancers [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(16): 3926.
- [15] SCHMIDT C A, GIUSTO J D, BAO A, et al. Molecular determinants of metazoan tricRNA biogenesis [J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47(12): 6452-65.
- [16] HANSEN T B, JENSEN T I, CLAUSEN B H, et al. Natural RNA circles function as efficient microRNA sponges [J]. *Nature*, 2013, 495(7441): 384-8.
- [17] YAN L, CHEN Y G. Circular RNAs in immune response and viral infection [J]. *Trends Biochem Sci*, 2020, 45(12): 1022-34.
- [18] HUANG H R, WEI L, QIN T, et al. Circular RNA ciRS-7 triggers the migration and invasion of esophageal squamous cell carcinoma via miR-7/KLF4 and NF- κ B signals [J]. *Cancer Biol Ther*, 2019, 20(1): 73-80.
- [19] CHAO C W, CHAN D C, KUO A, et al. The mouse formin (Fmn) gene: abundant circular RNA transcripts and gene-targeted deletion analysis [J]. *Mol Med*, 1998, 4(9): 614-28.
- [20] BOSE R, AIN R. Regulation of transcription by circular RNAs [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2018, 1087: 81-94.
- [21] DU W W, YANG W, LIU E, et al. Foxo3 circular RNA retards cell cycle progression via forming ternary complexes with p21 and CDK2 [J]. *Nucleic Acids Res*, 2016, 44(6): 2846-58.
- [22] DU W W, YANG W, CHEN Y, et al. Foxo3 circular RNA promotes cardiac senescence by modulating multiple factors associated with stress and senescence responses [J]. *Eur Heart J*, 2017, 38(18): 1402-12.
- [23] PAMUDURTI N R, BARTOK O, JENS M, et al. Translation of CircRNAs [J]. *Mol Cell*, 2017, 66(1): 9-21.e7.
- [24] LEGNINI E, LEGINI E, ORSINI J J, et al. Analysis of glucocerebrosidase activity in dry blood spots using tandem mass spectrometry [J]. *Clin Chim Acta*, 2010, 412(3/4): 343-6.
- [25] HOLDT L M, STAHRINGER A, SASS K, et al. Circular non-coding RNA ANRIL modulates ribosomal RNA maturation and atherosclerosis in humans [J]. *Nat Commun*, 2016, 7: 12429.
- [26] HOCK T T, ROZHDESTVENSKY T S, CLOUET D O B, et al. RNomics in Archaea reveals a further link between splicing of archaeal introns and rRNA processing [J]. *Nucleic Acids Res*, 2002, 30(4): 921-30.
- [27] SOMA A, ONODERA A, SUGAHARA J, et al. Permuted tRNA genes expressed via a circular RNA intermediate in cyanidioschyzon merolae [J]. *Science*, 2007, 318(5849): 450-3.
- [28] NATHAN U, MONICA C, ZHEN L, et al. The Epstein Barr virus circRNAome [J]. *PLoS Pathog*, 2018, 14(8): e1007206.
- [29] QIAO Y, ZHAO X, LIU J, et al. Epstein-Barr virus circRNAome as host miRNA sponge regulates virus infection, cell cycle, and oncogenesis [J]. *Bioengineered*, 2019, 10(1): 593-603.
- [30] YU T, DING Y, ZHANG Y, et al. Circular RNA GATAD2A promotes H1N1 replication through inhibiting autophagy [J]. *Vet Microbiol*, 2019, 231: 238-45.
- [31] LI X, LIU C X, XUE W, et al. Coordinated circRNA biogenesis and function with NF90/NF110 in viral infection [J]. *Mol Cell*, 2017, 67(2): 214-27.e7.
- [32] TAGAWA T, GAO S, KOPARDE V N, et al. Discovery of Kaposi's sarcoma herpesvirus-encoded circular RNAs and a human antiviral circular RNA [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2018, 115(50): 12805-10.
- [33] JOST I, SHALAMOVA L A, GERRESHEIM G K, et al. Functional sequestration of microRNA-122 from hepatitis C virus by circular RNA sponges [J]. *RNA Biol*, 2018, 15(8): 1032-9.
- [34] LI M F, LI Y H, HE Y H, et al. Emerging roles of hsa_circ_0005075 targeting miR-431 in the progress of HCC [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 99: 848-58.
- [35] ZHAO T, ZHENG Y L, HAO D Z, et al. Blood circRNAs as bio-

- markers for the diagnosis of community-acquired pneumonia [J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120(10): 16483-94.
- [36] YU J, DING W B, WANG M C, et al. Plasma circular RNA panel to diagnose hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma: a large-scale, multicenter study [J]. *Int J Cancer*, 2020, 146(6): 1754-63.
- [37] JOST I, SHALAMOVA L A, GERRESHEIM G K, et al. Functional sequestration of microRNA-122 from hepatitis C virus by circular RNA sponges [J]. *RNA Biol*, 2018, 15(8): 1032-9.
- [38] BREUER J, ROSSBACH O. Production and purification of artificial circular RNA sponges for application in molecular biology and medicine [J]. *Methods Protoc*, 3(2): 42.
- [39] ZHANG Y, ZHANG H, AN M, et al. Crosstalk in competing endogenous RNA networks reveals new circular RNAs involved in the pathogenesis of early HIV infection [J]. *J Transl Med*, 2018, 16(1): 332.
- [40] RONG X, GAO W, YANG X, et al. Downregulation of hsa_circ_0007534 restricts the proliferation and invasion of cervical cancer through regulating miR-498/BMI-1 signaling [J]. *Life Sci*, 2019, 235: 116785.
- [41] LIU Q, SHUAI M, XIA Y. Knockdown of EBV-encoded circRNA circRPMS1 suppresses nasopharyngeal carcinoma cell proliferation and metastasis through sponging multiple miRNAs [J]. *Cancer Manag Res*, 2019, 11: 8023-31.