

DOI:10.16781/j.0258-879x.2021.03.0301

• 综述 •

## 环状 RNA 与神经、肌肉功能及相关疾病的研究进展

高轶映<sup>1,2</sup>, 刘菲<sup>1\*</sup>, 黄卫<sup>2</sup>, 于阅尽<sup>2</sup>, 周义德<sup>1</sup>, 陈世彩<sup>1</sup>, 郑宏良<sup>1</sup>, 蒋昕怡<sup>3</sup>

1. 海军军医大学(第二军医大学)长海医院耳鼻咽喉科, 上海 200433

2. 上海中医药大学附属第七人民医院耳鼻咽喉科, 上海 200137

3. 上海市宝山区仁和医院口腔科, 上海 200431

**[摘要]** 晚期声带麻痹喉肌功能损伤是咽喉外科亟待解决的难题。环状 RNA (circRNA) 是通过非经典剪接方式形成的一种内源性环形非编码 RNA, 它可能通过 miRNA 海绵、可变剪接调节因子等方式在多种疾病的发生、发展中起重要作用, 是潜在的疾病早期诊断生物标志物或干预治疗的新靶点。随着研究的不断深入, circRNA 与神经、肌肉功能及相关疾病的关系也受到学者们的广泛关注。本文围绕 circRNA 的分子特征、形成机制、作用模式及其与神经、肌肉功能、相关疾病的研究进展进行综述, 以期为晚期声带麻痹的治疗提供新的思路。

**[关键词]** 环状 RNA; 神经系统疾病; 神经损伤; 肌肉相关疾病

**[中图分类号]** R 741; R 685 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2021)03-0301-07

### Circular RNA and nerve, muscle functions and related diseases: research progress

GAO Yi-yi<sup>1,2</sup>, LIU Fei<sup>1\*</sup>, HUANG Wei<sup>2</sup>, YU Yue-jin<sup>2</sup>, ZHOU Yi-de<sup>1</sup>, CHEN Shi-cai<sup>1</sup>, ZHENG Hong-liang<sup>1</sup>, JIANG Xin-yi<sup>3</sup>

1. Department of Otolaryngology, Changhai Hospital, Naval Medical University (Second Military Medical University), Shanghai 200433, China

2. Department of Otolaryngology, Shanghai Seventh People's Hospital, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200137, China

3. Department of Stomatology, Renhe Hospital of Baoshan District, Shanghai 200431, China

**[Abstract]** Laryngeal muscle function impairment caused by advanced vocal fold paralysis is an urgent problem to be solved in throat surgery. Circular RNA (circRNA) is a kind of endogenous loop non-coding RNA formed by non-classical splicing. It may play an important role in the development and progression of various diseases through microRNA (miRNA) sponge, alternative splicing regulators and so on. It is a potential biomarker for early diagnosis of diseases or a new target for intervention therapy. With the deepening of research, the relationship between circRNA and nerve, muscle functions and related diseases has also been widely concerned by scholars. This review focuses on circRNA's molecular characteristics, formation mechanism, mode of action, and its research progress in nerve, muscle functions and related diseases, so as to provide new ways for the treatment of advanced vocal fold paralysis.

**[Key words]** circular RNA; nervous system diseases; nerve injuries; muscle-related diseases

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2021, 42(3): 301-307]

喉返神经损伤所致声带麻痹为耳鼻咽喉头颈外科较常见的外伤性疾病, 多由于外科手术中不慎损伤喉返神经或外伤所致, 最终引起患者不同程度的发音、呼吸、吞咽功能障碍, 严重影响患者生活质量。喉返神经损伤导致的长期失神经支配喉肌再生能力受损是喉嗓音外科领域的难点和热点问题。尽管神经修复可使失神经喉肌获得一定

程度的再生, 但晚期声带麻痹神经修复后喉肌功能仍难以恢复正常。其原因包括喉肌卫星细胞功能受损、失神经喉肌进行性萎缩和纤维化等一系列复杂的病理生理过程<sup>[1-2]</sup>。虽然保护喉肌卫星细胞功能及延缓或防止失神经支配骨骼肌萎缩纤维化是维持喉肌再生能力、提高神经修复效果的重要环节, 但其具体机制尚不完全清楚, 目前仍无有

[收稿日期] 2020-08-21 [接受日期] 2020-12-02

[基金项目] 国家自然科学基金(81700897, 81970868)。Supported by National Natural Science Foundation of China (81700897, 81970868).

[作者简介] 高轶映, 硕士生, 主治医师. E-mail: gaoyiyi85628@126.com

\*通信作者( Corresponding author ). Tel: 021-31162012, E-mail: breeze\_fei@126.com

效的干预方法。研究证明 miRNA 在失神经骨骼肌萎缩纤维化的调控机制中起着重要作用<sup>[3-4]</sup>。环状 RNA (circular RNA, circRNA) 是 2013 年发现的一类特殊的内源性环形非编码 RNA (non-coding RNA, ncRNA), 通过基因转录后水平的调控机制参与疾病的发生和发展<sup>[5]</sup>。circRNA 存在多个 miRNA 互补结合位点, 其对 miRNA 的海绵样作用暗示着 circRNA 可能参与调控失神经喉肌萎缩纤维化进程。研究表明 circRNA 在心血管疾病、肿瘤、糖尿病、阿尔茨海默病等多种疾病或病理生理过程中发挥重要作用<sup>[6-9]</sup>, 是多种人类疾病发展的可能促进因素。随着研究的不断深入, circRNA 与神经、肌肉功能及相关疾病的关系也受到学者们的广泛关注, 本文对此进行综述, 以期为提高神经修复效果、寻找新的治疗靶点提供思路。

## 1 circRNA 概述

circRNA 是通过特殊的可变剪接方式将 RNA 的 3' 和 5' 端通过共价键相连而形成的一种 ncRNA, 具有良好的序列保守性和较高的稳定性<sup>[10]</sup>。早在 20 世纪 70 年代, circRNA 就在病毒中被发现, 但鉴于当时生物技术的局限性, 在很长一段时间内 circRNA 都被认为是无作用的剪接副产物<sup>[11]</sup>, 直到 2012 年 Salzman 等<sup>[12]</sup> 对其进行了全面而系统的研究后才被重新认识。目前 circRNA 并没有标准化的统一命名规则, 一般使用其所编码的基因组位置或根据其在宿主基因中的位置来命名, 还有一部分则直接依据其功能来命名。

**1.1 分子特征** circRNA 是通过共价键相连接形成的一个闭合圆环形结构, 不具备 5' 端帽子和 3' 端多聚 A 尾结构。大部分 circRNA 由外显子组成, 广泛存在于真核细胞的胞质中; 少部分内含子来源的 circRNA 则位于细胞核中。circRNA 种类繁多, 近来已有中国学者基于 1 070 个 RNA 测序样本数据整合出 circRNA 相关信息, 并建立了包含超过 100 万个高度可靠的 circRNA 的参考数据库<sup>[13]</sup>。因对外切酶的抗性及缺乏开放末端, circRNA 能够抵抗 RNA 酶或核酸外切酶的降解, 具有比线性 RNA 更稳定的分子生物学性质<sup>[14]</sup>。circRNA 除了具有高度丰富性和稳定性的特征外, 其序列在不同物种间也具有高度的进化保守性, 并且同时存在组织及不同发育阶段的表达特异性和疾病特异性<sup>[15]</sup>。以上

这些特点使得 circRNA 具有成为生物标志物和治疗靶标的潜力。

**1.2 形成机制** 关于 circRNA 的形成机制有多种推测和假说。根据来源不同可将 circRNA 分为外显子 circRNA、内含子 circRNA 和外显子-内含子 circRNA。关于外显子环化机制模型, 目前比较公认的是由 Jeck 等<sup>[16]</sup> 在 2013 年首次提出的包含套索驱动的环化模型和内含子配对驱动的环化模型。与经典的 mRNA 前体经剪接后形成具有功能的线性 mRNA 不同, 外显子 circRNA 的形成与反向剪接密切相关。在第 1 种模型中, 2 个外显子通过 3' 端和 5' 端共价结合后再切除内含子的方式形成 circRNA; 第 2 种模型中, 2 个内含子利用碱基互补配对的原理先结合环化再切除内含子形成 circRNA。在此过程中, circRNA 的选择性反向剪接如何实现、选择性剪接的 circRNA 是否保留功能仍未知。关于内含子环化机制模型, Zhang 等<sup>[17]</sup> 研究认为内含子可通过自身环化的方式独立形成 circRNA。另有学者提出内含子之间还可通过 RNA 结合蛋白 (RNA-binding protein, RBP) 相互作用以 RBP 桥的形式连接形成 circRNA<sup>[18]</sup>。以上模型的提出对 circRNA 生物学功能的研究具有重要意义, 但其形成的具体机制尚不完全清楚, 有待进一步的实验证实。

**1.3 生物学功能及作用模式** 在 circRNA 的多种生物学功能中, 被研究最多的是其竞争性结合并以海绵样方式吸收 miRNA, 通过抑制 miRNA 来促进靶基因的表达, 在转录后水平发挥调控作用<sup>[19]</sup>。circRNA 作为 miRNA 海绵的功能, 最早是通过对 CDR1as/ciRS-7 和性别决定区域 Y (sex-determining region Y, Sry) 的研究发现的<sup>[10]</sup>。而 Sry 等 circRNA 也有着与 ciRS-7 相类似的作用机制<sup>[20]</sup>。以上规律基于特定的 RNA 序列和重复序列, 是所有 circRNA 的一般原理还是仅作为基因特异性功能还有待更深入的实验来确定。除了海绵效应以外, circRNA 还可以与蛋白质结合, 或者通过 RBP 介导形成 RNA 蛋白复合物 (RNA protein complex, RPC), 从而影响蛋白质功能, 间接地调节基因表达<sup>[21]</sup>。circRNA 也可以特异性结合剪接因子, 通过线性剪接调控基因表达起到选择性剪接调节因子的作用<sup>[22]</sup>。

尽管功能被解析的 circRNA 的数量不断增加, 但多数 circRNA 功能仍未知。除了上述作用模式之

外,一些 circRNA 包含可与核糖体相互作用的内部核糖体进入位点,表明它们可能被翻译成蛋白质<sup>[23]</sup>。此外还有研究报道 circRNA 可能与假基因生成有关,通过调控假基因在细胞分化和癌症进展中起作用<sup>[24]</sup>。这些研究结果验证了 circRNA 的潜在作用模式,为进一步的疾病诊断及药物治疗的研究提供了有价值的依据。

## 2 circRNA 与神经功能及相关疾病

circRNA 在哺乳动物的大脑中高度特异性表达。对来自不同大脑区域、原代神经元、分离的突触及神经元分化过程中的 RNA 进行了深度测序发现, circRNA 在神经元分化过程中总体上调,并且在突触中大量富集。circRNA 可以在突触囊泡中充当细胞之间的运输分子,还可以在突触间充当翻译模板,从而调节翻译。研究证实,在神经系统发育及功能中起关键作用的 RNA 特异性腺苷脱氨酶 (adenosine deaminase acting on RNA, ADAR) 也是 circRNA 产生的主要调节剂。神经元活性改变了 circRNA 的表达, circRNA 的表达在神经发育过程中随时间和空间发生变化<sup>[25-26]</sup>。目前亦有不少研究关注 circRNA 在周围神经中的功能作用,证明其在轴突再生、神经修复等过程中发挥关键作用。

**2.1 circRNA 与神经损伤** 神经损伤导致的肢体功能障碍及丧失严重影响人们的生活质量,探索有效的治疗方法一直是医学界的棘手难题。中枢神经系统 (central nervous system, CNS) 损伤后,其损伤的轴突自发性再生能力极其有限,而周围神经系统 (peripheral nervous system, PNS) 在损伤后则具有自我再生修复的能力。神经损伤后有着极为复杂的生物学过程,如能找到调控神经再生的特定分子或可为神经损伤提供新的治疗靶点。动物实验显示,创伤性脑损伤 (traumatic brain injury, TBI) 小鼠大脑皮质损伤部位多个 circRNA 的表达上调,促进了大量炎性介质的产生,这暗示着某些 circRNA 对神经恢复或具有抑制作用<sup>[27]</sup>。在脊髓损伤的大鼠中亦发现差异性表达的 circRNA,推测 circRNA 表达模式的改变可能参与了脊髓损伤后的生理病理过程<sup>[28]</sup>。

在周围神经损伤相关实验中, Sohn 等<sup>[29]</sup>证明小鼠神经损伤后 circRNA 表达谱有显著改变,并利用生物信息学分析预测这些差异表达的 circRNA 参

与了神经损伤修复。还有研究在坐骨神经损伤的大鼠模型中鉴定出常呈下调状态的 circRNA.2837,并证实它可通过海绵化 miRNA-34 家族来调节神经自噬,其受到抑制时可诱导自噬减轻坐骨神经损伤,敲除 circRNA.2837 能保护神经元免受损伤<sup>[30]</sup>。以上结果表明 circRNA 在神经损伤过程中发挥了重要的调节作用,有成为坐骨神经损伤治疗靶点的潜力。

**2.2 circRNA 与神经系统相关疾病** circRNA 与多种神经系统疾病密切相关。CNS 缺乏 circRNA-7 可能导致阿尔茨海默病脑细胞中 miRNA-7 水平升高,从而降低阿尔茨海默病相关靶标泛素结合酶 E2A 的水平<sup>[31]</sup>。另外,在帕金森病小鼠模型及细胞模型中发现了下调的 circDLGAP4,其可能通过影响人和小鼠的细胞生存力、凋亡、线粒体损伤和自噬参与帕金森病的发展<sup>[32]</sup>。Cervera-Carles 等<sup>[33]</sup>发现额颞叶大叶变性 (frontotemporal lobar degeneration, FTL D) 患者体内 circHOMER1 水平降低,这意味着存在于神经元细胞体和树突中的 circHOMER1 表达水平可能受神经元活性的影响,在不同神经退行性疾病中具有潜在作用。

PNS 中关于青光眼视网膜神经变性的研究发现 circZNF609 表达上调,沉默 circZNF609 可减少视网膜反应性神经胶质细胞反应性增生,从而保护视网膜神经节细胞 (retinal ganglion cell, RGC) 免受青光眼引起的损伤<sup>[34]</sup>。另有学者在糖尿病小鼠背根神经节 (dorsal root ganglion, DRG) 中鉴定出差异表达的 circRNA,如 circRNA.4614 表达上调且与 mRNA 相关,提示 DRG 中 circRNA 的异常表达可能参与了糖尿病神经病变 (diabetic neuropathy, DN) 中 mRNA 的表达调控,并在 DN 中发挥作用<sup>[35]</sup>。此外还有大量研究表明, circRNA 在神经系统肿瘤<sup>[36]</sup>、神经疼痛<sup>[37]</sup>、精神障碍性疾病<sup>[38]</sup>及其他一些神经系统疾病中也发挥着潜在功能。

**2.3 circRNA 对神经再生的调控作用** 周围神经的损伤修复涉及多个环节,包括神经元的轴突再生、施万细胞髓鞘化、多种递质因子介入、远端靶器官功能的保护与再支配、CNS 的顺应性变化等<sup>[39]</sup>。而目前对 circRNA 的研究显示其在促进神经损伤后轴突延伸、调节神经膜细胞的增殖、通过外泌体影响神经再生微环境<sup>[37]</sup>等方面均有着不可忽视的作用。以小鼠坐骨神经损伤为模型的实验显示,神经离断伤后近端和远端 circRNA 有着不同的差

异性表达,通路富集分析和基因本体分析表明近端神经中的 circRNA 可能在轴突再生中起关键作用,而在发生沃勒变性的远端神经中 circRNA 主要参与神经膜细胞的分化和增殖<sup>[29]</sup>。另有研究通过 RNA 测序数据获得了大鼠坐骨神经挤压损伤后 DRG 中 circRNA 的表达谱,发现一种富含 DRG 神经元细胞的 circRNA——circ-Spidr 的表达上调,并在体内外实验中证实 circ-Spidr 可通过 PI3K-Akt 信号通路调节坐骨神经损伤后 DRG 神经元的轴突再生<sup>[40]</sup>。Mao 等<sup>[41]</sup>同样通过大鼠坐骨神经挤压伤模型发现,在神经膜细胞中具有相对较高表达水平的 circ-Ankib1 可通过 miRNA-423-5p/miRNA-485-5p/miRNA-666-3p-CYP26B1 途径调节神经损伤后神经膜细胞的增殖。越来越多的证据表明, circRNA 在神经损伤后修复的病理生理过程中有着重要的意义,阐明 circRNA 对神经再生的调控机制可能为神经损伤后的功能恢复带来提前干预和治疗的可能性,具有重大的研究价值。

### 3 circRNA 与肌肉功能及相关疾病

3.1 circRNA 调控骨骼肌生成及分化 骨骼肌在人类运动、新陈代谢及维持体内平衡中起着重要作用,并且具有强大的再生能力<sup>[42]</sup>。至今已在多物种骨骼肌细胞或组织中鉴定出大量 circRNA,它们可能在维持正常肌功能及调节肌细胞发生、增殖、分化中发挥关键作用。例如,在鼠和人成肌细胞中均表达的 circZfp609 可作为 miRNA-194-5p 的海绵,促进 Bcl-2 相关转录因子 1 (Bcl-2-associated transcription factor 1, BCLAF1) 的表达,从而抑制成肌细胞的分化,因此可以通过调节 circZfp609 控制肌肉的发育<sup>[43]</sup>。在牛骨骼肌中高度表达的 circLMO7 和 circFGFR4 可分别通过海绵状结合 miRNA-378a-3p 和 miRNA-107,抑制组蛋白脱乙酰酶 4 mRNA 的表达、上调 Wnt3a (Wnt3a 可在产前和产后肌形成过程中促进肌肉纤维的形成),最终促进成肌细胞的分化<sup>[44-45]</sup>。包含了 3 个 miRNA-133a 结合位点的 circFUT10 则作为竞争性内源性 RNA 影响 miRNA 对其靶基因的负调控,调节成肌细胞的增殖<sup>[46]</sup>。此外,鸡骨骼肌中的 circSVIL<sup>[47]</sup> 和人及小鼠成肌细胞中的 circZNF609<sup>[48]</sup> 也在骨骼肌细胞发生、增殖和分化中发挥效应。深入全面地了解 circRNA 在正常骨骼肌生理过程中的作用,将

为 circRNA 在肌肉相关疾病中的致病机制及治疗策略的研究打下基础。

3.2 circRNA 与骨骼肌相关疾病 特异性表达的 circRNA 与肌肉相关疾病密切相关。对恒河猴骨骼肌衰老模型的研究发现了一组高丰度的 circRNA<sup>[49]</sup>。研究者们推测某些 circRNA 可能与肌肉衰老及年龄相关肌肉疾病的发生有关。在骨骼肌相关的疾病中,最早在 Duchenne 型肌营养不良症 (Duchenne muscular dystrophy, DMD) 的骨骼肌中发现了由 DMD 基因剪接转录所产生的 circRNA, DMD 基因在第 45 外显子至第 55 外显子区域中产生 circRNA,此区域是 63% DMD 患者的缺失位点,亦称为“热点”;从“热点”附近检测出诱导靶标的内源性 DMD mRNA 表达<sup>[50]</sup>,因此, circRNA 产生不仅与 DMD 基因有关,也可以作为 DMD 患者潜在治疗靶点。另外,Voellenkle 等<sup>[51]</sup>在 1 型强直性肌营养不良症患者中鉴定出表达上调的 circRNA。以上这些研究表明 circRNA 与骨骼肌相关疾病存在着密切联系。周围神经损伤通常会导致进行性肌萎缩和功能恢复不良,没有轴突再生的情况下发生纤维化。ncRNA 是肌萎缩的关键调节剂,对失神经支配的肌萎缩动物模型的整个转录组分析发现大量损伤后差异表达的长链非编码 RNA (long non-coding RNA, lncRNA)、circRNA<sup>[52]</sup>,证明了 circRNA 等 ncRNA 在失神经性肌萎缩症发病机制中发挥作用,但是具体调控作用仍未知。到目前为止,除了表达之外,没有关于 circRNA 与神经、肌肉联合功能及相关机制的文献报道。circRNA 可能在骨骼肌相关疾病中发挥着关键作用,但关于其病理过程和复杂的分子机制仍有太多的未知领域。

3.3 circRNA 与心肌 circRNA 在心肌细胞中的作用也不容忽视。Siede 等<sup>[53]</sup>发现扩张型心肌病患者中 circRNA 有明显的差异性表达。在新生儿心脏中高度表达的 circ-Amotl1 被证明可与磷酸肌醇依赖性激酶 1 (phosphoinositide dependent kinase 1, PDK1) 和丝氨酸-苏氨酸激酶 1 (serine/threonine kinase 1, AKT1) 相互作用,并促进其核转位来增加心肌细胞增殖和存活能力<sup>[54]</sup>。关于心肌梗死的研究中,CDR1as/ciRS-7 促进了心肌病中应激诱导的细胞凋亡并增加心肌梗死面积<sup>[55]</sup>; mm9-circ-016597/MFACR 可诱导线粒体裂变和凋亡,加重心肌梗死损伤<sup>[56]</sup>。另外,研究发现糖尿

病小鼠心肌细胞及血管紧张素 II (angiotensin II, Ang II) 诱导的心肌成纤维细胞中 circRNA\_000203 上调,并通过海绵状结合 miRNA-26b-5p 解除下游靶基因 I 型胶原  $\alpha 2$  (collagen type I  $\alpha 2$ , Col1a2) 和结缔组织生长因子 (connective tissue growth factor, CTGF) 的抑制作用,从而促进心肌成纤维细胞纤维化转型的发生<sup>[57]</sup>。综上所述,大量的研究数据证明 circRNA 在心肌中具有重要功能,并与心肌纤维化密切相关。Lavenniah 等<sup>[58]</sup>报道了针对心肌肥厚的新型治疗策略,他们构建了可以靶向降解 miRNA-132/212 家族的 circRNA 海绵,并发现向心肌肥厚小鼠心肌细胞内递送 circRNA 海绵可减弱肥厚性疾病特征、改善心功能,这为 circRNA 在肌肉相关疾病治疗中的应用开拓了先河。

#### 4 小结与展望

大量研究表明 circRNA 不但参与了神经元分化、轴突再生、神经损伤修复,也参与了肌细胞发生、分化及增殖,在神经、肌肉正常功能及相关疾病中都发挥了重要的生物学作用。然而到目前为止,大部分的研究还停留在比较浅显的表达观察或初步验证阶段,有关 circRNA 发挥效应的机制也多集中在作为 miRNA 海绵方面。关于 circRNA 更深入的作用机制还有待学者们对更多的临床试验样本及动物模型样本进行研究。虽然已有不少 circRNA 与神经或肌肉相关的研究,但有关两者联合功能的探索几近空白,仅有关于 circRNA 在失神经后肌萎缩中特异性表达的报道,这将是今后重点的研究方向之一,可能会为失神经后骨骼肌的损伤机制带来突破性的新发现。作为一类 ncRNA, circRNA 可通过多种机制调节基因甚至蛋白的表达。相较于 miRNA 或小干扰 RNA, circRNA 具有较低的脱靶作用和更稳定的环状结构,因此可以作为疾病诊断标志物为晚期神经修复关键节点的选择提供有价值的参考;同时,基于 circRNA 对纤维化相关因子的调控作用,也为治疗和干预失神经后肌萎缩纤维化提供了更优的潜在药物靶标选择。目前还没有相关的创新药物合成技术出现,但基于 circRNA 的疗法无疑将在未来几年中丰富临床药物的开发。随着神经、肌肉领域越来越多相关的 circRNA 被发现、功能被解读,相信在不久的将来失神经支配喉肌中相关的 circRNA 能逐渐为人们了解,并为神经修复提

供有力的支持和帮助,为晚期喉返神经损伤后喉功能障碍的患者带来新希望。

#### [参考文献]

- [1] DONGHUI C, SHICAI C, WEI W, FEI L, JIANJUN J, GANG C, et al. Functional modulation of satellite cells in long-term denervated human laryngeal muscle[J]. *Laryngoscope*, 2010, 120: 353-358.
- [2] IWATA Y, OZAKI N, HIRATA H, SUGIURA Y, HORII E, NAKAO E, et al. Fibroblast growth factor-2 enhances functional recovery of reinnervated muscle[J]. *Muscle Nerve*, 2006, 34: 623-630.
- [3] JENG S F, RAU C S, LILIANG P C, WU C J, LU T H, CHEN Y C, et al. Profiling muscle-specific microRNA expression after peripheral denervation and reinnervation in a rat model[J]. *J Neurotrauma*, 2009, 26: 2345-2353.
- [4] HSIEH C H, JENG S F, WU C J, LU T H, YANG J C, CHEN Y C, et al. Altered expression of the microRNAs and their potential target genes in the soleus muscle after peripheral denervation and reinnervation in rats[J]. *J Trauma*, 2011, 70: 472-480.
- [5] WILUSZ J E, SHARP P A. Molecular biology. A circuitous route to noncoding RNA[J]. *Science*, 2013, 340: 440-441.
- [6] LI Z, LIU S, LI X, ZHAO W, LI J, XU Y. Circular RNA in schizophrenia and depression[J/OL]. *Front Psychiatry*, 2020, 11: 392. DOI: 10.3389/fpsy.2020.00392.
- [7] WU X, XIAO Y, MA J, WANG A. Circular RNA: a novel potential biomarker for skin diseases[J/OL]. *Pharmacol Res*, 2020, 158: 104841. DOI: 10.1016/j.phrs.2020.104841.
- [8] JIN J, SUN H, SHI C, YANG H, WU Y, LI W, et al. Circular RNA in renal diseases[J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24: 6523-6533.
- [9] GENG X, LIN X, ZHANG Y, LI Q, GUO Y, FANG C, et al. Exosomal circular RNA sorting mechanisms and their function in promoting or inhibiting cancer[J]. *Oncol Lett*, 2020, 19: 3369-3380.
- [10] XU S, ZHOU L, PONNUSAMY M, ZHANG L, DONG Y, ZHANG Y, et al. A comprehensive review of circRNA: from purification and identification to disease marker potential[J/OL]. *PeerJ*, 2018, 6: e5503. DOI: 10.7717/peerj.5503.
- [11] SANGER H L, KLOTZ G, RIESNER D, GROSS H J, KLEINSCHMIDT A K. 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: 3852-3856.
- [12] SALZMAN J, GAWAD C, WANG P L, LACAYO N,

- BROWN P O. Circular RNAs are the predominant transcript isoform from hundreds of human genes in diverse cell types[J/OL]. *PLoS One*, 2012, 7: e30733. DOI: 10.1371/journal.pone.0030733.
- [13] WU W, JI P, ZHAO F. CircAtlas: an integrated resource of one million highly accurate circular RNAs from 1 070 vertebrate transcriptomes[J/OL]. *Genome Biol*, 2020, 21: 101. DOI: 10.1186/s13059-020-02018-y.
- [14] HUANG A, ZHENG H, WU Z, CHEN M, HUANG Y. Circular RNA-protein interactions: functions, mechanisms, and identification[J]. *Theranostics*, 2020, 10: 3503-3517.
- [15] QUAN G, LI J. Circular RNAs: biogenesis, expression and their potential roles in reproduction[J/OL]. *J Ovarian Res*, 2018, 11: 9. DOI: 10.1186/s13048-018-0381-4.
- [16] JECK W R, SORRENTINO J A, WANG K, SLEVIN M K, BURD C E, LIU J, et al. Circular RNAs are abundant, conserved, and associated with ALU repeats[J]. *RNA*, 2013, 19: 141-157.
- [17] ZHANG Y, ZHANG X O, CHEN T, XIANG J F, YIN Q F, XING Y H, et al. Circular intronic long noncoding RNAs[J]. *Mol Cell*, 2013, 51: 792-806.
- [18] HSIAO K Y, SUN H S, TSAI S J. Circular RNA—New member of noncoding RNA with novel functions[J]. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2017, 242: 1136-1141.
- [19] DASA, DASA, DAS D, ABDELMOHSEN K, PANDA A C. Circular RNAs in myogenesis[J/OL]. *Biochim Biophys Acta Gene Regul Mech*, 2020, 1863: 194372. DOI: 10.1016/j.bbaggm.2019.02.011.
- [20] CHEN L L. The expanding regulatory mechanisms and cellular functions of circular RNAs[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2020, 21: 475-490.
- [21] YAO T, CHEN Q, FU L, GUO J. Circular RNAs: biogenesis, properties, roles, and their relationships with liver diseases[J]. *Hepatol Res*, 2017, 47: 497-504.
- [22] ZHANG X O, WANG H B, ZHANG Y, LU X, CHEN L L, YANG L. Complementary sequence-mediated exon circularization[J]. *Cell*, 2014, 159: 134-147.
- [23] JECK W R, SHARPLESS N E. Detecting and characterizing circular RNAs[J]. *Nat Biotechnol*, 2014, 32: 453-461.
- [24] DONG R, ZHANG X O, ZHANG Y, MA X K, CHEN L L, YANG L. CircRNA-derived pseudogenes[J]. *Cell Res*, 2016, 26: 747-750.
- [25] IVANOV A, MEMCZAK S, WYLER E, TORTI F, PORATH H T, OREJUELA M R, et al. Analysis of intron sequences reveals hallmarks of circular RNA biogenesis in animals[J]. *Cell Rep*, 2015, 10: 170-177.
- [26] RYBAK-WOLF A, STOTTMEISTER C, GLAŽAR P, JENS M, PINO N, GIUSTI S, et al. Circular RNAs in the mammalian brain are highly abundant, conserved, and dynamically expressed[J]. *Mol Cell*, 2015, 58: 870-885.
- [27] CHEN Z, WANG H, ZHONG J, YANG J, DARWAZEH R, TIAN X, et al. Significant changes in circular RNA in the mouse cerebral cortex around an injury site after traumatic brain injury[J]. *Exp Neurol*, 2019, 313: 37-48.
- [28] QIN C, LIU C B, YANG D G, GAO F, ZHANG X, ZHANG C, et al. Circular RNA expression alteration and bioinformatics analysis in rats after traumatic spinal cord injury[J/OL]. *Front Mol Neurosci*, 2019, 11: 497. DOI: 10.3389/fnmol.2018.00497.
- [29] SOHN E J, PARK H T. Differential expression of circular RNAs in the proximal and distal segments of the sciatic nerve after injury[J]. *Neuroreport*, 2020, 31: 76-84.
- [30] ZHOU Z B, NIU Y L, HUANG G X, LU J J, CHEN A, ZHU L. Silencing of circRNA.2837 plays a protective role in sciatic nerve injury by sponging the miR-34 family via regulating neuronal autophagy[J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2018, 12: 718-729.
- [31] ZHAO Y, ALEXANDROV P N, JABER V, LUKIW W J. Deficiency in the ubiquitin conjugating enzyme UBE2A in Alzheimer's disease (AD) is linked to deficits in a natural circular miRNA-7 sponge (circRNA; ciRS-7)[J/OL]. *Genes (Basel)*, 2016, 7: 116. DOI: 10.3390/genes7120116.
- [32] FENG Z, ZHANG L, WANG S, HONG Q. Circular RNA circDLGAP4 exerts neuroprotective effects via modulating miR-134-5p/CREB pathway in Parkinson's disease[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, 522: 388-394.
- [33] CERVERA-CARLES L, DOLS-ICARDO O, MOLINA-PORCEL L, ALCOLEA D, CERVANTES-GONZALEZ A, MUÑOZ-LLAHUNA L, et al. Assessing circular RNAs in Alzheimer's disease and frontotemporal lobar degeneration[J]. *Neurobiol Aging*, 2020, 92: 7-11.
- [34] WANG J J, LIU C, SHAN K, LIU B H, LI X M, ZHANG S J, et al. Circular RNA-ZNF609 regulates retinal neurodegeneration by acting as miR-615 sponge[J]. *Theranostics*, 2018, 8: 3408-3415.
- [35] ZHANG H H, ZHANG Y, WANG X, YANG P, ZHANG B Y, HU S, et al. Circular RNA profile in diabetic peripheral neuropathy: analysis of coexpression networks of circular RNAs and mRNAs[J]. *Epigenomics*, 2020, 12: 843-857.
- [36] LI G F, LI L, YAO Z Q, ZHUANG S J. Hsa\_circ\_0007534/miR-761/ZIC5 regulatory loop modulates the proliferation and migration of glioma cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 499: 765-771.
- [37] ZHANG S B, LIN S Y, LIU M, LIU C C, DING H H, SUN Y, et al. CircAnks1a in the spinal cord regulates hypersensitivity in a rodent model of neuropathic pain[J/OL]. *Nat Commun*, 2019, 10: 4119. DOI: 10.1038/s41467-019-12049-0.

- [38] ZHUO C J, HOU W H, JIANG D G, TIAN H J, WANG L N, JIA F, et al. Circular RNAs in early brain development and their influence and clinical significance in neuropsychiatric disorders[J]. *Neural Regen Res*, 2020, 15: 817-823.
- [39] 武继祥, 吴宗耀. 周围神经损伤的修复和治疗进展[J]. *中华物理医学与康复杂志*, 2005, 27: 377-379.
- [40] MAO S, HUANG T, CHEN Y, SHEN L, ZHOU S, ZHANG S, et al. Circ-Spindr enhances axon regeneration after peripheral nerve injury[J/OL]. *Cell Death Dis*, 2019, 10: 787. DOI: 10.1038/s41419-019-2027-x.
- [41] MAO S, ZHANG S, ZHOU S, HUANG T, FENG W, GU X, et al. A Schwann cell-enriched circular RNA circ-Ankib1 regulates Schwann cell proliferation following peripheral nerve injury[J]. *FASEB J*, 2019, 33: 12409-12424.
- [42] JOHNSON A N, MOKALLED M H, VALERA J M, POSS K D, OLSON E N. Post-transcriptional regulation of myotube elongation and myogenesis by Hoi Polloi[J]. *Development*, 2013, 140: 3645-3656.
- [43] WANG Y, LI M, WANG Y, LIU J, ZHANG M, FANG X, et al. A Zfp609 circular RNA regulates myoblast differentiation by sponging miR-194-5p[J]. *Int J Biol Macromol*, 2019, 121: 1308-1313.
- [44] WEI X, LI H, YANG J, HAO D, DONG D, HUANG Y, et al. Circular RNA profiling reveals an abundant circLMO7 that regulates myoblasts differentiation and survival by sponging miR-378a-3p[J/OL]. *Cell Death Dis*, 2017, 8: e3153. DOI: 10.1038/cddis.2017.541.
- [45] LI H, WEI X, YANG J, DONG D, HAO D, HUANG Y, et al. circFGFR4 promotes differentiation of myoblasts via binding miR-107 to relieve its inhibition of Wnt3a[J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2018, 11: 272-283.
- [46] LI H, YANG J, WEI X, SONG C, DONG D, HUANG Y, et al. CircFUT10 reduces proliferation and facilitates differentiation of myoblasts by sponging miR-133a[J]. *J Cell Physiol*, 2018, 233: 4643-4651.
- [47] OUYANG H, CHEN X, LI W, LI Z, NIE Q, ZHANG X. Circular RNA circSVIL promotes myoblast proliferation and differentiation by sponging miR-203 in chicken[J/OL]. *Front Genet*, 2018, 9: 172. DOI: 10.3389/fgene.2018.00172.
- [48] LEGNINI I, DI TIMOTEO G, ROSSI F, MORLANDO M, BRIGANTI F, STHANDIER O, et al. Circ-ZNF609 is a circular RNA that can be translated and functions in myogenesis[J/OL]. *Mol Cell*, 2017, 66: 22-37. e9. DOI: 10.1016/j.molcel.2017.02.017.
- [49] ABDELMOHSEN K, PANDA A C, DE S, GRAMMATIKAKIS I, KIM J, DING J, et al. Circular RNAs in monkey muscle: age-dependent changes[J]. *Aging (Albany NY)*, 2015, 7: 903-910.
- [50] SUZUKI H, AOKI Y, KAMEYAMA T, SAITO T, MASUDA S, TANIHATA J, et al. Endogenous multiple exon skipping and back-splicing at the *DMD* mutation hotspot[J/OL]. *Int J Mol Sci*, 2016, 17: 1722. DOI: 10.3390/ijms17101722.
- [51] VOELLENKLE C, PERFETTI A, CARRARA M, FUSCHI P, RENNA L V, LONGO M, et al. Dysregulation of circular RNAs in myotonic dystrophy type 1[J/OL]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20: 1838. DOI: 10.3390/ijms20081938.
- [52] WENG J, ZHANG P, YIN X, JIANG B. The whole transcriptome involved in denervated muscle atrophy following peripheral nerve injury[J/OL]. *Front Mol Neurosci*, 2018, 11: 69. DOI: 10.3389/fnmol.2018.00069.
- [53] SIEDE D, RAPTI K, GORSKA A A, KATUS H A, ALTMÜLLER J, BOECKEL J N, et al. Identification of circular RNAs with host gene-independent expression in human model systems for cardiac differentiation and disease[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2017, 109: 48-56.
- [54] ZENG Y, DU W W, WU Y, YANG Z, AWAN F M, LI X, et al. A circular RNA binds to and activates AKT phosphorylation and nuclear localization reducing apoptosis and enhancing cardiac repair[J]. *Theranostics*, 2017, 7: 3842-3855.
- [55] GENG H H, LI R, SU Y M, XIAO J, PAN M, CAI X X, et al. The circular RNA Cdr1as promotes myocardial infarction by mediating the regulation of miR-7a on its target genes expression[J/OL]. *PLoS One*, 2016, 11: e0151753. DOI: 10.1371/journal.pone.0151753.
- [56] WANG K, GAN T Y, LI N, LIU C Y, ZHOU L Y, GAO J N, et al. Circular RNA mediates cardiomyocyte death via miRNA-dependent upregulation of MTP18 expression[J]. *Cell Death Differ*, 2017, 24: 1111-1120.
- [57] TANG C M, ZHANG M, HUANG L, HU Z Q, ZHU J N, XIAO Z, et al. CircRNA\_000203 enhances the expression of fibrosis-associated genes by derepressing targets of miR-26b-5p, Col1a2 and CTGF, in cardiac fibroblasts[J/OL]. *Sci Rep*, 2017, 7: 40342. DOI: 10.1038/srep40342.
- [58] LAVENNIAH A, LUU T D A, LI Y P, LIM T B, JIANG J, ACKERS-JOHNSON M, et al. Engineered circular RNA sponges act as miRNA inhibitors to attenuate pressure overload-induced cardiac hypertrophy[J]. *Mol Ther*, 2020, 28: 1506-1517.