

circRNA在胰腺癌中的研究进展

魏川雄¹, 张浩^{2*}, 夏文广¹, 闭劲哲¹, 徐诗凯¹, 邢维铭¹

¹海南医学院第一临床学院, 海南 海口

²海南医学院第一附属医院普通外科, 海南 海口

收稿日期: 2023年6月18日; 录用日期: 2023年7月13日; 发布日期: 2023年7月19日

摘要

胰腺癌是一种高度致命的癌症类型, 目前各种针对胰腺癌的治疗手段效果十分有限, 其预后通常很差, 因此, 寻找新的治疗策略为改善胰腺癌患者的总体生存期至关重要。近年来, circRNA作为一类相对较新的RNA分子, 其具有稳定性和广泛表达、功能多样等特点, 众多研究显示circRNA在肿瘤与正常组织之间存在异常表达, 并通过调控基因表达以及多种信号通路等作用机制, 在肿瘤细胞的增殖、转移、耐药、免疫等生物学过程中扮演了重要的角色, 成为肿瘤领域的研究热点之一。在胰腺癌的研究中, 关于circRNA相关的研究也取得了一些进展, 许多研究结果揭示了在胰腺癌的发生和发展中circRNA发挥了重要的调控作用。本综述对circRNA在胰腺癌领域近几年来的研究进展进行总结归纳, 为胰腺癌的诊断与治疗提供新的见解。

关键词

胰腺癌, circRNA, 增殖, 耐药

Research Progress of circRNA in Pancreatic Cancer

Chuanxiong Wei¹, Hao Zhang^{2*}, Wenguang Xia¹, Jinzhe Bi¹, Shikai Xu¹, Weiming Xing¹

¹The First Clinical College, Hainan Medical University, Haikou Hainan

²General Surgery Department, The First Affiliated Hospital, Hainan Medical University, Haikou Hainan

Received: Jun. 18th, 2023; accepted: Jul. 13th, 2023; published: Jul. 19th, 2023

Abstract

Pancreatic cancer is a highly lethal malignant tumor, and the current therapeutic approaches for

*通讯作者。

pancreatic cancer have very limited effects, and its prognosis is usually poor, therefore, it is crucial to find new therapeutic strategies to improve the overall survival of pancreatic cancer patients. In recent years, circRNA, as a relatively new class of RNA molecules, has the characteristics of stability and wide expression, and diverse functions. Numerous studies have shown that circRNA is aberrantly expressed between tumors and normal tissues, and plays an important role in the biological processes of tumor cell proliferation, metastasis, drug resistance, and immunity by regulating gene expression and various signaling pathways. It has become one of the hotspots of research in the field of oncology. In the study of pancreatic cancer, some progress has been made on circRNA-related studies, and many findings have revealed that circRNA plays an important regulatory role in the development and progression of pancreatic cancer. This review summarizes the research progress of circRNA in the field of pancreatic cancer in recent years and provides new insights for the diagnosis and treatment of pancreatic cancer.

Keywords

Pancreatic Cancer, Circular RNA, Proliferation, Drug Resistance

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

胰腺癌是一种在全球范围内发病率和致死率都相对较高的恶性肿瘤，其发病率在不同国家有明显的差异，尤其是在发达国家，胰腺癌的发病率普遍高于发展中国家[1]。据全球癌症数据统计显示，2020年胰腺癌在全球范围内新诊断病例数约为49万，在所有恶性肿瘤新诊断病例中占比约2.6%，因胰腺癌死亡的人数约46万，在所有因恶性肿瘤死亡病例数中占比4.7%，胰腺癌发病率在全球恶性肿瘤发病率中排行在第12位，但其死亡率高居于全球恶性肿瘤死亡率的第7位[2]。胰腺癌的发病率逐年以0.5%~1%的速度逐渐增加，预计到2030年，胰腺癌将成为美国癌症相关死亡的第二大原因[3]。在中国，每年胰腺癌的发病率和致死率也在逐年增长，2016年我国新发胰腺癌病例数在我国常见癌症发病率中排第11位，死亡率早常见癌症中排名第7位[4]。胰腺癌的高死亡率给全世界国家带来了巨大的社会和经济负担。由于胰腺癌的早期症状隐匿，临床中还没有能用于胰腺癌早期筛查和诊断的方法[5]，早期常常可能被忽视或误诊，大部分患者在出现临床症状后被确诊时，疾病已处于晚期阶段，常伴随着淋巴结、血管、神经、远处器官的转移[6]，因而失去手术时机。然而，手术切除目前仍是胰腺癌主要治疗方法[7]，虽然，随着医学的发展开发了很多新的辅助治疗方法，其预后仍没有明显改善，总体5年存活率仍然只有8%左右[8]。因此，胰腺癌的早期诊断和有效治疗是提高胰腺癌生存率的关键，也是一直以来困扰众多研究人员和临床医生的世界难题。

近年来，随着分子生物学技术的发展，开发出很多高新技术，如高通量测序和大数据分析技术，越来越多的研究开始关注基因组学方面的作用。近10年来，有大量的研究揭示了基因与各种疾病之间的关系以及它们之间相互作用，尤其是在肿瘤领域方面[9]，随着RNA测序技术和生物信息学的进步，各类非编码RNA逐渐出现在各个领域发挥了各种作用，特别在肿瘤领域中，异常表达的非编码RNA参与肿瘤发生、发展等生物学过程中的各种重要信号通路的调节，被认为是潜在的癌症驱动因子和肿瘤抑制因子，具有成为癌症新的诊断标志物和治疗靶点的潜能[10]，引起了众多研究人员的注意，成为生物医学领域的热门话题之一。非编码RNA的种类繁多，微小RNA(miRNA)、长链RNA(lncRNA)、转运RNA

(tRNA)、环状 RNA (circRNA)、与 PIWI 相互作用 RNA (piRNA)、假基因等[11]。最近几年,大量的研究发现 circRNA 在各类肿瘤中异常表达,并通过不同的分子机制和调节各种信号通路来影响肿瘤的生物过程,如肿瘤细胞增殖、凋亡、迁移、侵袭以及血管生成等[12]。多项研究结果也表明了 circRNA 在胰腺癌中产生重要影响,其通过不同的分子机制与多种信号通路的调节参与胰腺癌细胞增殖、细胞凋亡、肿瘤侵袭、化疗耐药性和免疫逃逸等生物学过程[13]。circRNA 多样且强大的功能受到广泛关注,是研究胰腺癌分子机制的热点之一。本文将对 circRNA 及其在胰腺癌领域的研究进展进行简要综述。

2. circRNA 的概述

环状 RNA (circRNA)是一类较晚出现及被认识的非编码 RNA 分子。是它们的 5'端和 3'端通过共价键连接,形成环状分子结构而不是常见的线性结构[14],由于这种独特的结构,不易被核酸内切酶降解,使 circRNA 具有高度的稳定性和相对较长的半衰期[15]。最开始于在 20 世纪 70 年代初在研究植物病毒时被作为类病毒报道[16],最初被认为是错误剪切过程中产生的无功能产物[17],后来随着 RNA 研究技术提升,大量的 circRNA 在各种生物体内被发现[18],包括在哺乳动物、植物、原核生物、病毒等体内广泛存在。大多数 circRNA 是来源于前体 mRNA (pre-mRNA)通过反向剪切而形成[19],circRNA 的形成机制尚未完全清楚,现有的研究揭示了三种主要成环机制:1) 外显子跳跃或套索驱动的环化、2) 直接反向剪接或内含子配对驱动的环化、3) RNA 结合蛋白(RBP)介导的环化[20] [21] [22]。根据来源及组成不同主要分为 3 种:外显子 circRNA (exonic circRNA, ecircRNA)、内含子 circRNA (circular intronic RNA, ciRNA) 和外显子-内含子 circRNA (EIciRNA) [14]。circRNA 的功能多样,目前对它的了解还处于探索阶段,先有的研究揭示了它的主要的功能有:1) 作为 miRNA 的“海绵”,充当竞争性内源性 RNA (ceRNA)来调节 miRNA [23],这是最为经典且被多数研究所证实的一种功能。有很多 circRNA 存在不同类型和数量的 miRNA 反应元件(MREs),通过 MREs 与 miRNA 特异性结合,从而降低 miRNA 的生物活性,从而解除 miRNA 对下游靶基因的抑制,使靶基因表达上调[24]。例如: Hansen 等[24],观察到的 circRNACDR1as 含有 miR-7 的多个结合位点,通过影响 miR-7 的活性来发挥作用。2) 调控基因转录,有一些 circRNA 可以直接或间接的参与转录过程的调节,如外显子-内含子来源得 circRNA (EIciPAIP2 和 EIciEIF3J),可与 U1 小核糖核蛋白(snRNP)结合,然后进一步与 RNA 聚合酶 II (RNA pol II)相互作用来影响亲本基因的转录[25]。3) 与蛋白质相关作用,circRNA 与 RNA 结合蛋白(PBP)结合而发挥作用,如 cir-Foxo3 可以与 P21、CDK2 结合形成 circ-Foxo3-p21-CDK2 三元复合物诱导细胞周期停滞[26]。有多项研究发现 circRNA 对蛋白质具有多种不同调节的作用,如改变蛋白质与蛋白质之间作用,招募蛋白质到染色质中、约束和隔离蛋白质等[18]。3) 在早前,通常认为 circRNA 缺乏 5'端帽和 polyA 尾结构是一种没有翻译功能的非编码 RNA,但最近有研究证据表明,circRNA 可以不依赖帽结构进行蛋白质或多肽的翻译[27],可通过内部核糖体进入位点(IRES)、m6 内部核糖体进入位点(MIRES)或通过滚环扩增(RCA)等机制进行启动翻译[28]。总之,circRNA 的功能丰富多样,尽管有部分 circRNA 及其生物学功能被揭示,但仍有大量的 circRNA 及其复杂多样作用仍然未知。目前的很多研究已揭示了 circRNA 在各种疾病中产生了重要的影响,特别在肿瘤方面,包括胰腺癌在内,circRNA 影响肿瘤增殖、侵袭、凋亡以及化疗耐药性等各种生物学过程[29],在胰腺癌的诊断和治疗以及预后评估等方面也有很大的潜能。

3. circRNA 在胰腺癌中的研究

3.1. circRNA 在胰腺癌细胞中的表达

有很多研究通过先进的 RNA 测序技术证实了 circRNA 在胰腺癌和正常组织中存在的显著的差异表达,且通过各种分子机制影响胰腺癌细胞的各种生物学过程。最早在 2016 年时, Li [30]研究团队通过

RNA 微阵列技术分析 6 例胰腺癌及癌旁组织样本, 发现了在胰腺癌中差异表达的 351 个 circRNA, 其中 209 个 circRNA 表达上调, 142 个 circRNA 表达下调, 并通过实时荧光定量聚合酶链反应技术(qRT-PCR)随机验证了 7 个 circRNA, 结果与微阵列芯片数据分析结果一致。微阵列芯片表达谱数据已上传登记在 Gene Expression Omnibus (GEO)数据库中(GEO 编号: GSE69362)。随后, Guo [31]利用 Arraystar Human circRNA 阵列分析了 20 例胰腺癌组织和相应的癌旁组织, 结果显示有 128 个上调的 circRNA 和 161 个下调的 circRNA, 其中有部分 circRNA 与 Li 的研究所得到的结果相同。芯片结果也提交到了 GEO 数据中, 编号为 GSE79634。在最近的研究中, Wong 等[32]通过高通量技术对非肿瘤人胰腺导管上皮细胞(HPDE)、PADC 细胞 PANC-1 和 SW1990 进行 circRNA 测序得到了它们之间差异表达的 circRNA, 在胰腺癌细胞和肿瘤之间有 169 个差异表达的 circRNA, 测序结果也保存于 GEO 数据库中, 编号(GSE135731)。此外, 该研究团队还通过进一步的实验探究了 circFOXK2 在胰腺癌中的作用, 他们发现 circRNA 通过 RNA 结合蛋白和吸附 miR-942 共同作用来促进胰腺癌的进展[32], 为胰腺癌的发生、发展的分子机制提供了新的见解。circRNA 在胰腺癌中的见解。这些研究结果表明了大量的 circRNA 存在于胰腺癌细胞中, 并发挥了重要的作用。

3.2. circRNA 促进胰腺细胞的增殖

circRNA 主要通过结合 miRNA 可以间接或直接影响下游靶基因或通过其他调控机制在胰腺癌中发挥作用。多数研究主要通过该经典机制进行了研究。Meng 团队[33]对 97 例胰腺癌和相对应的癌旁组织进行测序 circSTX6 (hsa_circ_0007905)在胰腺癌组织中表达显著上调, circSTX6 是来源于 STX6 基因外显子的 circRNA, 该团队通过进一步细胞及动物实验进行探究, 结果表明上调的 circSTX6 通过结合 miR-449b-5p 影响下游肌球蛋白或非肌肉肌球蛋白重链 9 (MYH9)的表达, 促进的胰腺癌细胞增殖、迁移和侵袭能力。同时在研究中发现 circSTX6 与 RNA 结合蛋白 CUL2 结合调控 HIF1A, 从而调节 MYH9 的转录, 进而影响癌细胞的增殖。在胰腺癌细胞中 circRNA ciRS-7 的上调, 导致 miR-7 活性下降, 导致下游 EGFR 基因和 STAT3 信号通路的激活进而促进胰腺癌增殖[34]。Guo 团队[35]在研究中发现了一种来源于 BFAR 外显子基因 2 的 circBFAR, 并通过实验证实了其在胰腺癌细胞中过度表达, 并吸附 miR-34b-5p 从而上调间充质上皮转化因子(MET)的表达, 进一步激活了 PI3K/Akt 通路从而促进了胰腺癌的进展。Su 等[36]通过体外细胞和动物实验证实了上调的 circSFMBT1 (hsa_circ_0066147)通过抑制 miR-330-5p 的表达水平, 继而使 PAK1 通路激活促进胰腺癌细胞增殖和侵袭能力。此外还有大量的研究表明多种 circRNA 通过不同的作用机制来调控胰腺癌细胞的生长。

3.3. circRNA 作为胰腺癌的新型诊断标志物

circRNA 相比较线性 RNA, 具有较好的稳定性、组织特异性且高度保守等特点[37], 由于这些特性, circRNA 可能成为新的胰腺癌生物的标志物。例如 circ-LDLRAD3 (hsa_circ_000698)在胰腺癌组织和血浆中显著增高, 其表达水平与胰腺癌的静脉浸润、淋巴转移显著相关, 若联合 CA19-9 可以提高诊断的特异性和敏感性[38], 具有作为胰腺癌早期诊断以及反映肿瘤侵袭力的新型生物标志物的潜力。在一项研究中, 研究者通过 RNA 测序对大量的胰腺癌组织样本进行测序和分析, 新发现了一个来源于 12 号染色体的 circRNA, 命名为 circPDAC, 通过实验发现, circPDAC 在胰腺癌患者组织细胞和血清中表达上调, 在正常细胞和血清中几乎不表达[39]。circ_0030235 在胰腺癌细胞株和胰腺癌组织中明显上调, 且与临床分期、淋巴结转移相关, 通过 Kaplan-Meier 法对 circ_0030235 高表达组和低表达组的胰腺癌病例进行生存分析, 发现 circ_0030235 表达越高的胰腺癌患者总体生存时间越短, 通过多变量 COX 回归分析后结果表明 circ_0030235 可作为评估患者总体生存期不佳的独立预后指标[40]。最近的一个纳入了 48 篇关于

circRNA 与胰腺癌相关文献的 meta 分析, 这项研究的目的在于探究有哪些 circRNA 在胰腺癌中具有临床意义, 如预后相关、诊断标记等, 通过分析发现, 一组由 6 个上调的 circRNA 的组合对胰腺癌预后评估有较大的价值, 在这些上调 circRNA 的胰腺癌病例中预后较差, 且这些 circRNA 的表达水平与临床特征相关, 如: 肿瘤分化差、神经、血管侵犯, 淋巴结转移、TMN 分期较晚等[41]。

3.4. circRNA 影响胰腺癌细胞化疗耐药性

一直以来, 吉西他滨药物(GEM)是胰腺癌的一线化疗药物, 但由于耐药率高, 使胰腺癌的治疗效果受到很大的限制。有多项研究表明, 有多种 circRNA 与胰腺癌对滨耐药性有着密切的联系。有研究通过分析 GEM 耐药细胞株和 GEM 敏感性细胞株中得 circRNA 微阵列表达谱, 分别有 26 个上调的 circRNA 和 55 个下调的 circRNA, 进一步分析发现这些 circRNA 可能与 MAPK 和 mTOR 信号通路相关[42]。在 Liu [43]等人通过研究发现 CircHIPK3 (hsa_circ_0000284)在 GEM 耐药的胰腺癌组织和 2 两种 GEM 耐药细胞株中显著表达, 上调的 CircHIPK3 通过抑制 mir-330-5p 调节靶基因 RASSF1 的上调影响了胰腺癌细胞对 GEM 的耐药性。另外一项研究中[44], 研究者联合了来自临床样本的测序数据和 GEO 数据进行交叉分析后筛选到了一种未报道的 circRNA (hsa_circ_0078297), 并命名为 circMTHFD1L, 通过进一步实验研究, 发现 circMTHFD1L 作为海绵吸附 miR-615-3p, 上调 RPN6 的表达, 从而增强 DNA 损伤修复机制导致胰腺癌细胞对 GEM 的耐药性增加。此外, 在该研究还观察到若下调 circMTHFD1L, 联合 GEM 和奥拉帕尼(olaparib)两种化学药物, 可以使肿瘤细胞对药物的敏感性增加。最近的研究中, Hu 等[45]研究了一种来源于癌症相关成纤维细胞(CAF)中的 circFARP1 (hsa_circ_0002557), 发现过表达的 circFARP1 通过结合 CAV1 和吸附 miR-660-3p 两种分子途径共同上调了白血病抑制因子(LIF)的表达从而增强胰腺癌细胞的耐药性, 也是首次发现 circRNA 通过协同作用影响 LIF 的生物学现象。

3.5. circRNA 在胰腺癌治疗中的研究

目前 circRNA 作为 RNA 分子被应用于胰腺癌治疗的研究尚处于空白, 但有多项研究结果表明 circRNA 可能是胰腺癌潜在的治疗靶点, 在治疗方面有着巨大的潜力。Shi 等[46]通过胰腺癌细胞和动物模型实验研究发现 circANAPC7 是一种新的肿瘤抑制因子, circANAPC7 可以通过结合 miR-373 上调下游靶基因 PHLPP2, PHLPP2 可以介导 AKT 去磷酸化而被激活, 然后下调细胞周期蛋白 D1 (CyclinD1)的表达, 可以抑制胰腺癌细胞的增殖。CyclinD1 是调控细胞周期中重要的因子, 可以促进细胞的增殖, 在各种类型的肿瘤中常常过度表达, 促进肿瘤的进展[47]。该研究的成果为开发胰腺癌新的治疗方法提供了新靶点和思路。此外, circNFIB1 (hsa_circ_0086375)在胰腺癌组织中表达降低, 在正常组织中高表达, circNFIB1 作为吸附 miR-486-5p 海绵, 使 PIK3R1 上调, 从而限制了 PI3K/Akt 通路的激活进而导致 VEGF-C 的表达降低, 最终抑制胰腺癌的淋巴转移[48], 总而言之, circNFIB1 上调可以抑制胰腺癌的淋巴转移。此前已有研究证实了 Circ-MBOAT2 (hsa_circ_0007334)在胰腺癌组织和细胞中表达上调[49], Zhou 等[50]进一步研究了 Circ-MBOAT2 在胰腺癌中的作用, 通过他们的细胞实验发现若下调 Circ-MBOAT2 可以让与它结合的靶 miR-433-3p 上调(miR-433-3p 是一种可以抑制多种癌细胞的生长的抗癌基因[51])进而阻碍谷氨酸 - 草酰乙酸转氨酶 1 (GOT1)的活性, 进而抑制胰腺癌细胞的增殖、侵袭和谷氨酰胺的代谢。总之, 这些研究证据表明 circRNA 在胰腺癌的发生和发展中有着重要的影响, 通过调控 circRNA 分子的表达水平, 可以在一定程度上影响胰腺癌的发生和发展, circRNA 可能成为胰腺癌治疗的新靶点。

4. 总结与展望

circRNA 的功能十分广泛, 其中最重要的功能之一是作为 miRNA 的海绵吸附 miRNA 调控下游靶基因的表达, 从而影响细胞增殖和凋亡, 调节细胞迁移和侵袭等生物学过程。circRNA 在胰腺癌中的研究

已经取得了一些进展,有些研究结果揭示了 circRNA 在胰腺癌中的作用机制,大多数上调 circRNA 通过各种调控机制作用促进胰腺癌细胞的增殖,导致胰腺癌的进展,如能开发出在体内靶向 circRNA 的方法使其改变活性,可以逆转它促进肿瘤细胞增殖或耐药等作用,从而改善胰腺癌的预后。尽管有部分 circRNA 的功能和作用在研究中被证实,但 circRNA 的数量庞大且功能复杂多样,目前对 circRNA 的认识仍只是冰山一角,仍然有大量的 circRNA 的功能和其与疾病之间相互作用的机制还未知,因此,深入研究 circRNA 在胰腺癌发生和发展中的具体作用机制,可以为胰腺癌的治疗和早期诊断提供更为有效的策略和方法,具有巨大的应用价值。

基金项目

海南省卫生健康行业科研项目(编号: 20A200204)。

参考文献

- [1] Wong, M.C.S., Jiang, J.Y., Liang, M., *et al.* (2017) Global Temporal Patterns of Pancreatic Cancer and Association with Socioeconomic Development. *Scientific Reports*, **7**, Article No. 3165. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-02997-2>
- [2] Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R.L., *et al.* (2021) Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, **71**, 209-249. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>
- [3] Rahib, L., Smith, B.D., Aizenberg, R., *et al.* (2014) Projecting Cancer Incidence and Deaths to 2030: The Unexpected Burden of Thyroid, Liver, and Pancreas Cancers in the United States. *Cancer Research*, **74**, 2913-2921. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-14-0155>
- [4] Zheng, R., Zhang, S., Zeng, H., *et al.* (2022) Cancer Incidence and Mortality in China, 2016. *Journal of the National Cancer Center*, **2**, 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.jncc.2022.02.002>
- [5] Neoptolemos, J.P., Kleeff, J., Michl, P., *et al.* (2018) Therapeutic Developments in Pancreatic Cancer: Current and Future Perspectives. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, **15**, 333-348. <https://doi.org/10.1038/s41575-018-0005-x>
- [6] Tempero, M.A. (2019) NCCN Guidelines Updates: Pancreatic Cancer. *Journal of the National Comprehensive Cancer Network: JNCCN*, **17**, 603-605.
- [7] McGuigan, A., Kelly, P., Turkington, R.C., *et al.* (2018) Pancreatic Cancer: A Review of Clinical Diagnosis, Epidemiology, Treatment and Outcomes. *World Journal of Gastroenterology*, **24**, 4846-4861. <https://doi.org/10.3748/wjg.v24.i43.4846>
- [8] Siegel, R.L., Miller, K.D. and Jemal, A. (2019) Cancer Statistics, 2019. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, **69**, 7-34. <https://doi.org/10.3322/caac.21551>
- [9] Rupaimoole, R. and Slack, F.J. (2017) MicroRNA Therapeutics: Towards a New Era for the Management of Cancer and Other Diseases. *Nature Reviews Drug Discovery*, **16**, 203-222. <https://doi.org/10.1038/nrd.2016.246>
- [10] Toden, S., Zumwalt, T.J. and Goel, A. (2021) Non-Coding RNAs and Potential Therapeutic Targeting in Cancer. *Biochimica et Biophysica Acta Reviews on Cancer*, **1875**, Article ID: 188491. <https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2020.188491>
- [11] Slack, F.J. and Chinnaiyan, A.M. (2019) The Role of Non-Coding RNAs in Oncology. *Cell*, **179**, 1033-1055. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.10.017>
- [12] Shang, Q., Yang, Z., Jia, R., *et al.* (2019) The Novel Roles of circRNAs in Human Cancer. *Molecular Cancer*, **18**, Article No. 6. <https://doi.org/10.1186/s12943-018-0934-6>
- [13] Chen, S., Chen, C., Hu, Y., *et al.* (2021) The Diverse Roles of Circular RNAs in Pancreatic Cancer. *Pharmacology & Therapeutics*, **226**, Article ID: 107869. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2021.107869>
- [14] Kristensen, L.S. andersen, M.S., Stagsted, L.V.W., *et al.* (2019) The Biogenesis, Biology and Characterization of Circular RNAs. *Nature Reviews Genetics*, **20**, 675-691. <https://doi.org/10.1038/s41576-019-0158-7>
- [15] Jeck, W.R. and Sharpless, N.E. (2014) Detecting and Characterizing Circular RNAs. *Nature Biotechnology*, **32**, 453-461. <https://doi.org/10.1038/nbt.2890>
- [16] Sanger, H.L., Klotz, G., Riesner, D., *et al.* (1976) Viroids Are Single-Stranded Covalently Closed Circular RNA Molecules Existing as Highly Base-Paired Rod-Like Structures. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **73**, 3852-3856. <https://doi.org/10.1073/pnas.73.11.3852>

- [17] Cocquerelle, C., Mascrez, B., Héтуin, D., *et al.* (1993) Mis-Splicing Yields Circular RNA Molecules. *FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, **7**, 155-160. <https://doi.org/10.1096/fasebj.7.1.7678559>
- [18] Zhou, W.Y., Cai, Z.R., Liu, J., *et al.* (2020) Circular RNA: Metabolism, Functions and Interactions with Proteins. *Molecular Cancer*, **19**, Article No. 172. <https://doi.org/10.1186/s12943-020-01286-3>
- [19] Ashwal-Fluss, R., Meyer, M., Pamudurti, N.R., *et al.* (2014) circRNA Biogenesis Competes with pre-mRNA Splicing. *Molecular Cell*, **56**, 55-66. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2014.08.019>
- [20] Zhang, X.O., Wang, H.B., Zhang, Y., *et al.* (2014) Complementary Sequence-Mediated Exon Circularization. *Cell*, **159**, 134-147. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.09.001>
- [21] Liang, D. and Wilusz, J.E. (2014) Short Intronic Repeat Sequences Facilitate Circular RNA Production. *Genes & Development*, **28**, 2233-2247. <https://doi.org/10.1101/gad.251926.114>
- [22] Conn, S.J., Pillman, K.A., Toubia, J., *et al.* (2015) The RNA Binding Protein Quaking Regulates Formation of circRNAs. *Cell*, **160**, 1125-1134. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.02.014>
- [23] Panda, A.C. (2018) Circular RNAs Act as miRNA Sponges. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, **1087**, 67-79. https://doi.org/10.1007/978-981-13-1426-1_6
- [24] Hansen, T.B., Jensen, T.I., Clausen, B.H., *et al.* (2013) Natural RNA Circles Function as Efficient microRNA Sponges. *Nature*, **495**, 384-388. <https://doi.org/10.1038/nature11993>
- [25] Li, Z., Huang, C., Bao, C., *et al.* (2015) Exon-Intron Circular RNAs Regulate Transcription in the Nucleus. *Nature Structural & Molecular Biology*, **22**, 256-264. <https://doi.org/10.1038/nsmb.2959>
- [26] Du, W.W., Yang, W., Liu, E., *et al.* (2016) Foxo3 Circular RNA Retards Cell Cycle Progression via Forming Ternary Complexes with p21 and CDK2. *Nucleic Acids Research*, **44**, 2846-2858. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw027>
- [27] Tatomer, D.C. and Wilusz, J.E. (2017) An Uncharted Journey for Ribosomes: Circumnavigating Circular RNAs to Produce Proteins. *Molecular Cell*, **66**, 1-2. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2017.03.011>
- [28] Wang, Y., Wu, C., Du, Y., *et al.* (2022) Expanding Uncapped Translation and Emerging Function of Circular RNA in Carcinomas and Noncarcinomas. *Molecular Cancer*, **21**, Article No. 13. <https://doi.org/10.1186/s12943-021-01484-7>
- [29] Rong, D., Tang, W., Li, Z., *et al.* (2017) Novel Insights into Circular RNAs in Clinical Application of Carcinomas. *Oncotargets and Therapy*, **10**, 2183-2188. <https://doi.org/10.2147/OTT.S134403>
- [30] Li, H., Hao, X., Wang, H., *et al.* (2016) Circular RNA Expression Profile of Pancreatic Ductal Adenocarcinoma Revealed by Microarray. *Cellular Physiology and Biochemistry: International Journal of Experimental Cellular Physiology, Biochemistry, and Pharmacology*, **40**, 1334-1344. <https://doi.org/10.1159/000453186>
- [31] Guo, S., Xu, X., Ouyang, Y., *et al.* (2018) Microarray Expression Profile Analysis of Circular RNAs in Pancreatic Cancer. *Molecular Medicine Reports*, **17**, 7661-7671. <https://doi.org/10.3892/mmr.2018.8827>
- [32] Wong, C.H., Lou, U.K., Li, Y., *et al.* (2020) CircFOXK2 Promotes Growth and Metastasis of Pancreatic Ductal Adenocarcinoma by Complexing with RNA-Binding Proteins and Sponging MiR-942. *Cancer Research*, **80**, 2138-2149. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-19-3268>
- [33] Meng, L., Zhang, Y., Wu, P., *et al.* (2022) CircSTX6 Promotes Pancreatic Ductal Adenocarcinoma Progression by Sponging miR-449b-5p and Interacting with CUL2. *Molecular Cancer*, **21**, Article No. 121. <https://doi.org/10.1186/s12943-022-01599-5>
- [34] Liu, L., Liu, F.B., Huang, M., *et al.* (2019) Circular RNA ciRS-7 Promotes the Proliferation and Metastasis of Pancreatic Cancer by Regulating miR-7-Mediated EGFR/STAT3 Signaling Pathway. *Hepatobiliary & Pancreatic Diseases International*, **18**, 580-586. <https://doi.org/10.1016/j.hbpd.2019.03.003>
- [35] Guo, X., Zhou, Q., Su, D., *et al.* (2020) Circular RNA circBFAR Promotes the Progression of Pancreatic Ductal Adenocarcinoma via the miR-34b-5p/MET/Akt Axis. *Molecular Cancer*, **19**, Article No. 83. <https://doi.org/10.1186/s12943-020-01196-4>
- [36] Xu, S., Lei, S.L., Liu, K.J., *et al.* (2021) circSFMBT1 Promotes Pancreatic Cancer Growth and Metastasis via Targeting miR-330-5p/PAK1 Axis. *Cancer Gene Therapy*, **28**, 234-249. <https://doi.org/10.1038/s41417-020-00215-2>
- [37] Rybak-Wolf, A., Stottmeister, C., Glažar, P., *et al.* (2015) Circular RNAs in the Mammalian Brain Are Highly Abundant, Conserved, and Dynamically Expressed. *Molecular Cell*, **58**, 870-885. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2015.03.027>
- [38] Yang, F., Liu, D.Y., Guo, J.T., *et al.* (2017) Circular RNA circ-LDLRAD3 as a Biomarker in Diagnosis of Pancreatic Cancer. *World Journal of Gastroenterology*, **23**, 8345-8354. <https://doi.org/10.3748/wjg.v23.i47.8345>
- [39] Seimiya, T., Otsuka, M., Iwata, T., *et al.* (2021) Aberrant Expression of a Novel Circular RNA in Pancreatic Cancer. *Journal of Human Genetics*, **66**, 181-191. <https://doi.org/10.1038/s10038-020-00826-5>
- [40] Xu, Y., Yao, Y., Gao, P., *et al.* (2019) Upregulated Circular RNA circ_0030235 Predicts Unfavorable Prognosis in

- Pancreatic Ductal Adenocarcinoma and Facilitates Cell Progression by Sponging miR-1253 and miR-1294. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **509**, 138-142. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2018.12.088>
- [41] Li, J., Ye, Z., Hu, X., *et al.* (2022) Prognostic, Diagnostic, and Clinicopathological Significance of Circular RNAs in Pancreatic Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Cancers*, **14**, Article No. 6187. <https://doi.org/10.3390/cancers14246187>
- [42] Xu, C., Yu, Y. and Ding, F. (2018) Microarray Analysis of Circular RNA Expression Profiles Associated with Gemcitabine Resistance in Pancreatic Cancer Cells. *Oncology Reports*, **40**, 395-404. <https://doi.org/10.3892/or.2018.6450>
- [43] Liu, Y., Xia, L., Dong, L., *et al.* (2020) CircHIPK3 Promotes Gemcitabine (GEM) Resistance in Pancreatic Cancer Cells by Sponging miR-330-5p and Targets RASSF1. *Cancer Management and Research*, **12**, 921-929. <https://doi.org/10.2147/CMAR.S239326>
- [44] Chen, Z.W., Hu, J.F., Wang, Z.W., *et al.* (2022) Circular RNA circ-MTHFD1L Induces HR Repair to Promote Gemcitabine Resistance via the miR-615-3p/RPN6 Axis in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research: CR*, **41**, Article No. 153. <https://doi.org/10.1186/s13046-022-02343-z>
- [45] Hu, C., Xia, R., Zhang, X., *et al.* (2022) circFARP1 Enables Cancer-Associated Fibroblasts to Promote Gemcitabine Resistance in Pancreatic Cancer via the LIF/STAT3 Axis. *Molecular Cancer*, **21**, Article No. 24. <https://doi.org/10.1186/s12943-022-01501-3>
- [46] Shi, X., Yang, J., Liu, M., *et al.* (2022) Circular RNA ANAPC7 Inhibits Tumor Growth and Muscle Wasting via PHLPP2-AKT-TGF- β Signaling Axis in Pancreatic Cancer. *Gastroenterology*, **162**, 2004-2017.e2002. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2022.02.017>
- [47] Tchakarska, G. and Sola, B. (2020) The Double Dealing of Cyclin D1. *Cell Cycle (Georgetown, Tex)*, **19**, 163-178. <https://doi.org/10.1080/15384101.2019.1706903>
- [48] Kong, Y., Li, Y., Luo, Y., *et al.* (2020) circNFIB1 Inhibits Lymphangiogenesis and Lymphatic Metastasis via the miR-486-5p/PIK3R1/VEGF-C Axis in Pancreatic Cancer. *Molecular Cancer*, **19**, Article No. 82. <https://doi.org/10.1186/s12943-020-01205-6>
- [49] Yang, J., Cong, X., Ren, M., *et al.* (2019) Circular RNA hsa_circRNA_0007334 Is Predicted to Promote MMP7 and COL1A1 Expression by Functioning as a miRNA Sponge in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. *Journal of Oncology*, **2019**, Article ID: 7630894. <https://doi.org/10.1155/2019/7630894>
- [50] Zhou, X., Liu, K., Cui, J., *et al.* (2021) Circ-MBOAT2 Knockdown Represses Tumor Progression and Glutamine Catabolism by miR-433-3p/GOT1 Axis in Pancreatic Cancer. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research: CR*, **40**, Article No. 124. <https://doi.org/10.1186/s13046-021-01894-x>
- [51] Shi, Q., Wang, Y., Mu, Y., *et al.* (2018) MiR-433-3p Inhibits Proliferation and Invasion of Esophageal Squamous Cell Carcinoma by Targeting GRB2. *Cellular Physiology and Biochemistry: International Journal of Experimental Cellular Physiology, Biochemistry, and Pharmacology*, **46**, 2187-2196. <https://doi.org/10.1159/000489548>