

消化系统疾病

DOI: 10.13406/j.cnki.cyxh.002186

调控食管胃结合部腺癌增殖、侵袭能力的关键环状 RNA 分子的筛选与初步鉴定

徐 钧¹, 赵宇翔², 莱智勇¹, 张 毓³

(1. 山西大医院普通外科, 太原 030032; 2. 太原市中心医院中心实验室, 太原 030009;

3. 北京大学基础医学院免疫教研室, 北京 100871)

【摘要】目的:利用 RNA 高通量测序和生物信息学分析筛选出调控食管胃结合部腺癌(adenocarcinoma of esophagogastric junction, AEG)增殖、侵袭能力的关键环状 RNA 分子, 并对其作用方式进行初步探究。**方法:**提取 22 对食管胃结合部腺癌组织及癌旁正常黏膜组织的 RNA。采用 RNA 高通量测序(测序深度 200×), 利用生物信息分析云平台进行差异基因筛选, 同时对差异表达的基因构建共表达网络和 circRNAs-miRNAs-mRNAs 间的内源性 RNA 竞争机制(ceRNA)网络; 利用 RNA 图谱共表达网络构建和内源性竞争 RNA 负相关分析, 筛选出在 AEG 发生过程中可能发挥关键作用的 circRNAs。并预测可与该 circRNA 存在 ceRNA 关系的 miRNAs 和 mRNAs; 通过 qRT-PCR 等方法对该 circRNA 在胃癌组织、癌旁组织中的表达进行验证。**结果:**通过 RNA 高通量测序, 共预测得到 46 553 个 circRNAs, 对测序数据进行严格质控, 得到 26 个差异表达的 circRNAs (fold change ≥ 2 或 fold change ≤ 0.5, false discovery rate < 0.05), 其中 10 个 circRNAs 表达上调, 16 个 circRNAs 表达下调。对组织样本进行 mRNA 和 miRNA 测序分析, 构建 circRNAs-miRNAs-mRNAs 间的 ceRNA 网络, RNA 图谱共表达网络和内源性竞争 RNA 负相关分析。结果表明, has_circ_0007766 在 AEG 肿瘤组织中特异性高表达, 可能在 AEG 发生发展过程中起关键作用; 同时发现, miR4492 与 circRNA0007766 和 MET mRNA 均有结合位点。**结论:**has_circ_0007766 可能通过 miR4492-circRNA0007766-MET mRNA 的 ceRNA 网调控食管胃结合部腺癌增殖、侵袭, 是 AEG 发生发展的关键 circRNA。

【关键词】食管胃结合部腺癌; circRNA0007766; ceRNA; 肿瘤发生**【中图分类号】**R735.1**【文献标志码】**A**【收稿日期】**2019-02-23

Screening and preliminary identification of key circRNAs that regulate the proliferation and invasion of adenocarcinoma of the esophagogastric junction

Xu Jun¹, Zhao Yuxiang², Lai Zhiyong¹, Zhang Yu³

(1. Department of General Surgery, Shanxi DAYI Hospital, Shanxi Academy of Medical Sciences;

2. Department of Central Laboratory, Taiyuan Central Hospital; 3. Teaching and Research Section of Immunology, Peking University School of Basic Medical Sciences)

【Abstract】Objective: To screen out the key circRNAs that regulate the proliferation and invasion of adenocarcinoma of the esophagogastric junction (AEG) by high-throughput RNA sequencing and bioinformatics analysis, and to preliminarily explore their modes of action. **Methods:** RNAs were extracted from 22 pairs of adenocarcinoma of the esophagogastric junction and adjacent normal mucosa tissues. Differentially expressed genes were screened out by high-throughput RNA sequencing (sequencing depth 200×) and bioinformatics cloud platform. Meanwhile, a co-expression network and an endogenous RNA competition mechanism (ceRNA) network among circRNAs-miRNAs-mRNAs were constructed for differentially expressed genes. The construction of co-expression network of RNA maps and the negative correlation analysis of endogenous competitive RNAs were used to screen for circRNAs that may play a key role in the development of AEG, and to predict the expression of miRNAs and mRNAs which have ceRNA relationship with the

circRNA. qRT-PCR and other methods were used to verify the expression of circRNA in gastric cancer tissues and adjacent tissues. **Results:** A total of 46553 circRNAs were predicted by high-throughput RNA sequencing, and 26 differentially expressed circRNAs were obtained after strict quality control of sequencing data (fold change ≥ 2 or fold change ≤ 0.5, false discovery rate < 0.05). Among them, 10 circRNAs were up-regulated and 16 circRNAs were down-regulated. Tissue samples were analyzed

作者简介:徐 钧, Email: junxutyg@163.com,

研究方向: 消化系统肿瘤发生、发展的分子机制。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(编号: 81172136); 山西省自然科学基金资助项目(编号: 2015011113); 山西省科技厅国际合作资助项目(编号: 2014081053-3); 山西省“136”兴医工程-领军临床专科建设资助项目。

优先出版: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.r.20190528.1718.006.html>

(2019-05-29)

by mRNA and miRNA sequencing, and the ceRNA network among circRNAs-miRNAs-mRNAs, co-expression network of RNA maps, and endogenous competitive RNA negative correlation analysis were constructed. The results showed that has_circ_0007766 was highly specifically expressed in AEG tumors, which may play a key role in the development and progression of AEG. Meanwhile, it was also found that miR4492 had binding sites with both circRNA0007766 and MET mRNA. **Conclusion:** The has_circ_0007766 may regulate the proliferation and invasion of adenocarcinoma of the esophagogastric junction through the ceRNA network of miR4492- and circRNA0007766-MET mRNA, which may be the key circRNA for the development and progression of AEG.

【Key words】adenocarcinoma of the esophagogastric junction; circRNA0007766; ceRNA; tumorigenesis

食管胃结合部癌(adenocarcinoma of the esophagogastric junction, AEG)是胃癌的一种亚型,其发病率日趋上升。在我国传统食管癌高发地区,AEG 新发病例数量约占所有胃癌病例数量的 50%^[1]。食管胃结合部癌特点是普遍预后差,其重要原因之一是目前仍缺乏早期诊断的便捷可靠方法或敏感的生物学标志物,多数患者一旦就诊就被确诊为进展期胃癌,或已发生腹膜转移、肝转移等晚期癌的征象。同时,由于 AEG 发生发展的分子机制尚未完全阐明,仍然缺乏有效的治疗靶点。近年来,非编码 RNA (non-coding RNA, ncRNA)作为功能基因组学的一个重要研究领域,其参与调控肿瘤发生发展的研究日益增多。环状 RNA (Circular RNAs, circRNAs)是区别于传统线性 RNA 的一类新型非编码 RNA,具有 3'端和 5'端共价闭合环状结构,广泛且多样地存在于真核细胞中,是具有调控基因表达作用的内源性 RNA 分子。目前已有大量研究证实 circRNA 在食管癌、胃癌、肠癌等多种肿瘤组织中呈现异常表达,并与肿瘤细胞的增殖、侵袭转移、临床预后密切相关。例如, Xia 等^[2]发现 circ0067934 在食管癌组织中表达明显高于癌旁组织,并且与肿瘤分化差、分期晚密切相关。近日, Xie 等^[3]研究发现结肠癌中 circRNA001569 可以通过 ceRNA 机制,发挥海绵作用吸附 miR-145,从而上调 miR-145 靶基因 E2F5、BAG4 和 FMNL2 的表达。circRNA 能影响疾病的发生发展过程,可作为潜在的诊断和预后标志,其在肿瘤方面的作用也倍受关注。然而关于 circRNA 在 AEG 这一亚型胃癌的研究尚存在空白,本研究旨在筛选调控食管胃结合部腺癌(AEG)增殖、侵袭能力的关键环状 RNA 分子,并对其作用方式进行初步探究。

1 材料与方法

1.1 患者样本

22 例 AEG 组织及癌旁正常黏膜组织标本取自于山西省

肿瘤医院生物样本库。组织取样后立即在液氮中快速冷冻, -80℃保存,用于 RNA 提取。所有患者在采集样本前均提供书面知情同意书。本研究得到了山西医科大学研究伦理委员会的批准。

1.2 方法

1.2.1 患者组织样本 RNA 提取 用 TRIzol 试剂 (Invitrogen, 美国)从组织样本中提取总 RNA,使用 mirVana miRNA 分离试剂盒 (Ambion, Austin, TX, 美国)纯化提取的 RNA,之后用分光光度计 (Nano-Drop ND-1000)测定 RNA 的纯度和浓度,并采用 1%甲醛变性凝胶电泳法测定 RNA 的完整性。

1.2.2 RNA 测序 采用 Illumina HiSeq 测序平台 (测序深度 200×)对 22 例 AEG 肿瘤切除标本中配对的肿瘤组织及癌旁正常黏膜组织进行高通量 RNA (mRNA、circRNA、miRNA)测序,由深圳华大基因研究院承担测序工作。

1.2.3 基因功能富集分析 采用 GO 数据库和 KEGG 数据库的基因注释数据,使用上海烈冰公司的 NovelBio 生物信息分析云平台进行差异表达基因功能和信号通路富集分析。

1.2.4 RNA 图谱共表达网络的构建 基于 RNA 高通量测序结果,构建 circRNAs-mRNAs 共表达网络图,综合 degree 和 k-core 数值 (degree 值:网络中某一基因与周围基因的关系数量; k-core 值:在一个子图中,所有的点至少连接着 k 个点,其用以评估基因在网络位置的中心程度)^[4-6]。分析判断、筛选在 AEG 发生过程中发挥重要作用 circRNAs 分子。

1.2.5 内源性竞争 RNA 负相关分析 以差异表达的 mRNAs、circRNAs、miRNAs 为研究对象,运用国际公认的 miRNA 靶基因预测方法“miranda 算法”,对上述差异表达的 miRNAs、mRNAs、circRNAs 调控关系进行预测,根据测序数据提供的 circRNA、mRNAs 与 miRNA 结合的关系,进行负相关联合分析。并用 Cytoscape 作图软件绘制 circRNAs-miRNAs-mRNAs 之间的内源性 RNA 竞争 (ceRNA)网络^[4-5]。

1.2.6 qRT-PCR 针对 circRNA 的反向剪切位点设计反向引物用于 qRT-PCR 实验。circRNA 的逆转录实验采用 Invitrogen (美国)公司的逆转录试剂盒以及随机引物。qRT-PCR 反应体系采用 Bio-rad (美国)公司 iTaq™ Universal SYBR Green Supermix,采用 Bio-rad (美国)公司的 CFX96 实时荧光定量检测系统检测。

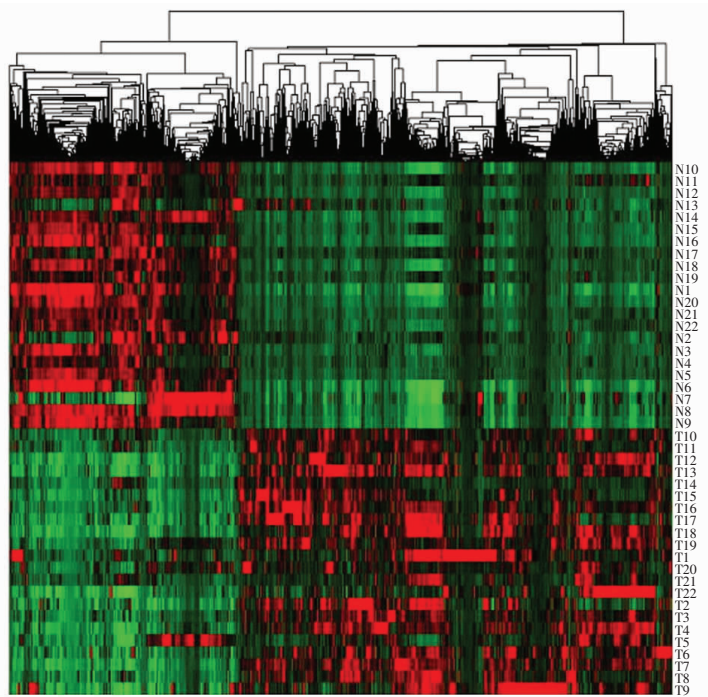
qRT-PCR 扩增程序设定: 95℃, 10 min; 40 个 PCR 循环 [95℃, 15 s; 60℃, 60 s (收集荧光)]。扩增反应结束后,建立 PCR 产物的熔解曲线。计算各组的基因间的相对表达量。

2 结 果

2.1 circRNA、mRNA 和 miRNA 的表达谱分析

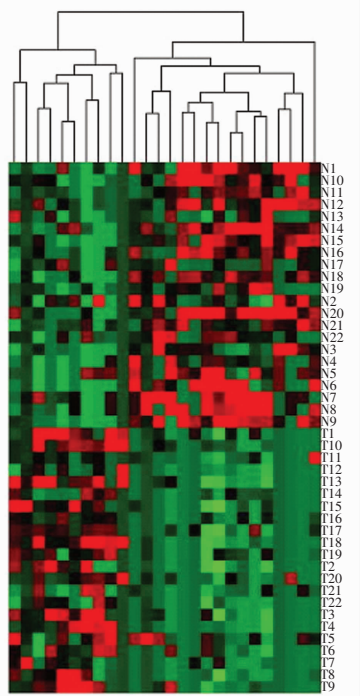
采用 Illumina HiSeq 测序平台 (Illumina, San Diego, CA) 对 22 例 AEG 肿瘤切除标本中配对的肿瘤组织及癌旁正常黏膜组织进行高通量 RNA 测序, 其中 5 例 miRNA 质检合格 AEG 肿瘤切除标本进行了 miRNA 测序。并对 22 对 AEG 组

织中特异性差异表达(肿瘤组 vs. 正常组)的 circRNA 进行鉴定, 共预测得到 46 553 个 circRNAs, 对测序数据进行严格质控, 并严格限定差异基因的筛选标准, 结果共发现 26 个差异表达的 circRNAs (fold change ≥ 2 或 fold change ≤ 0.5 , False Discovery Rate < 0.05), 其中 10 个 circRNAs 表达上调, 16 个 circRNAs 表达下调, 实验检测发现 3 311 个差异表达的 mRNA, 228 个差异表达的 miRNA (fold change ≥ 2 或 fold change ≤ 0.5 , False Discovery Rate < 0.05) (图 1)。



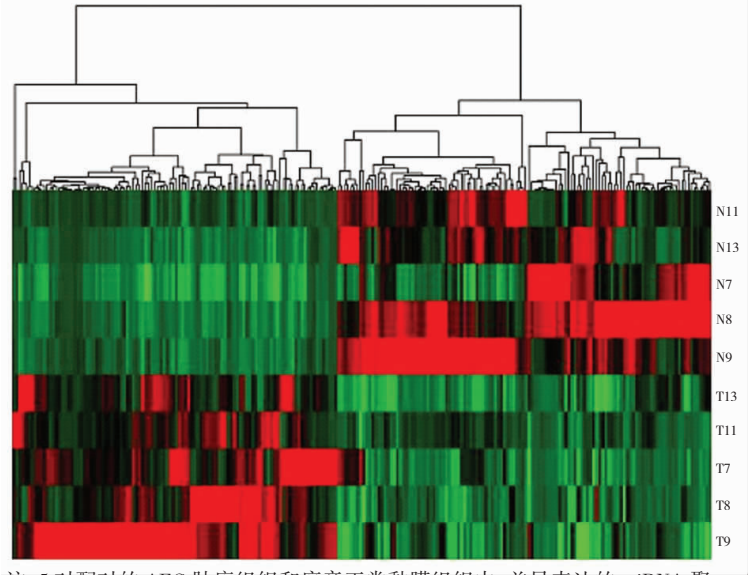
注: 22 对 AEG 肿瘤组织和癌旁正常黏膜组织中, 差异表达的 mRNA 聚类分析热图

A. 差异表达的 mRNA 聚类分析热图



注: 22 对 AEG 肿瘤组织和癌旁正常黏膜组织中, 差异表达的 circRNA 聚类分析热图

B. 差异表达的 circRNA 聚类分析热图



注: 5 对配对的 AEG 肿瘤组织和癌旁正常黏膜组织中, 差异表达的 miRNA 聚类分析热图 (fold change ≥ 2 或 fold change ≤ 0.5 , $P < 0.05$)

C. 差异表达的 miRNA 聚类分析热图

图 1 AEG 肿瘤组织与癌旁正常组织中 mRNA、circRNA 和 miRNA 的差异表达谱

2.2 差异表达的基因功能注释

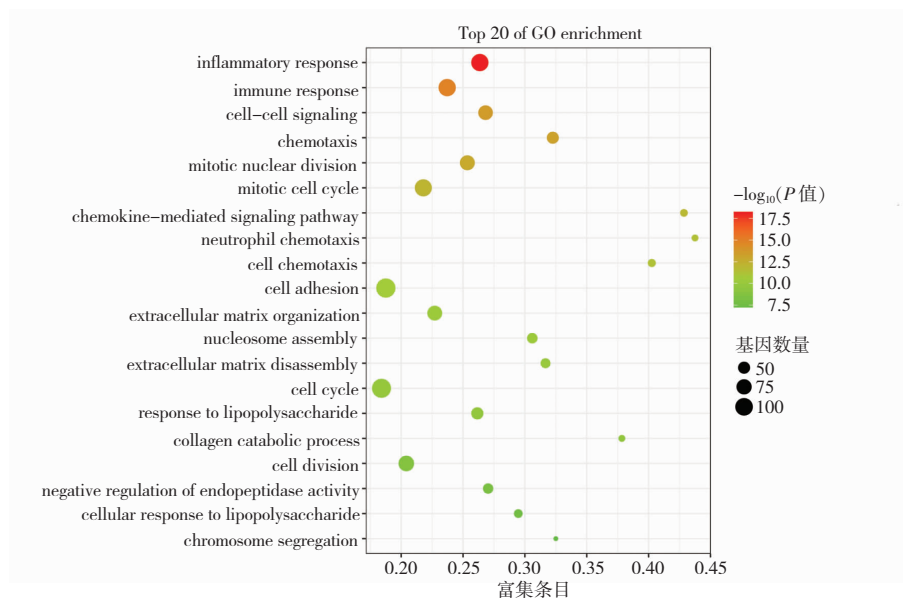
对 RNA 测序检测得到的差异表达 mRNA 数据 (AEG Tumor vs. Normal tissue, fold change ≥ 2 或 fold change ≤ 0.5) 映射到 GO 数据库中, 确定其潜在功能。结果显示: 在肿瘤组织中表达上调的基因功能主要富集在炎症反应、免疫反应、细胞间信号传导、趋化作用、细胞有丝分裂等重要的生物学过程 (biological process) (图 2A)。此外, 在肿瘤组织中表达下调的基因功能主要富集在消化、突触传导、离子跨膜转运调节、离子跨膜运输、谷氨酸受体信号转导通路以及胃酸分泌

等生物学过程 (图 2B)。

KEGG 细胞信号通路富集分析提示: 在肿瘤组织中表达上调的基因参与细胞因子受体相互作用、系统性红斑狼疮、酒精中毒、风湿性关节炎、阿米巴原虫感染、细胞周期等重要信号通路 (图 3A); 在肿瘤组织中表达下调的基因参与胃酸分泌、神经活性配体-受体相互作用、蛋白消化与吸收、胰腺分泌、钙离子信号通路、矿物质吸收等重要信号通路 (图 3B)。

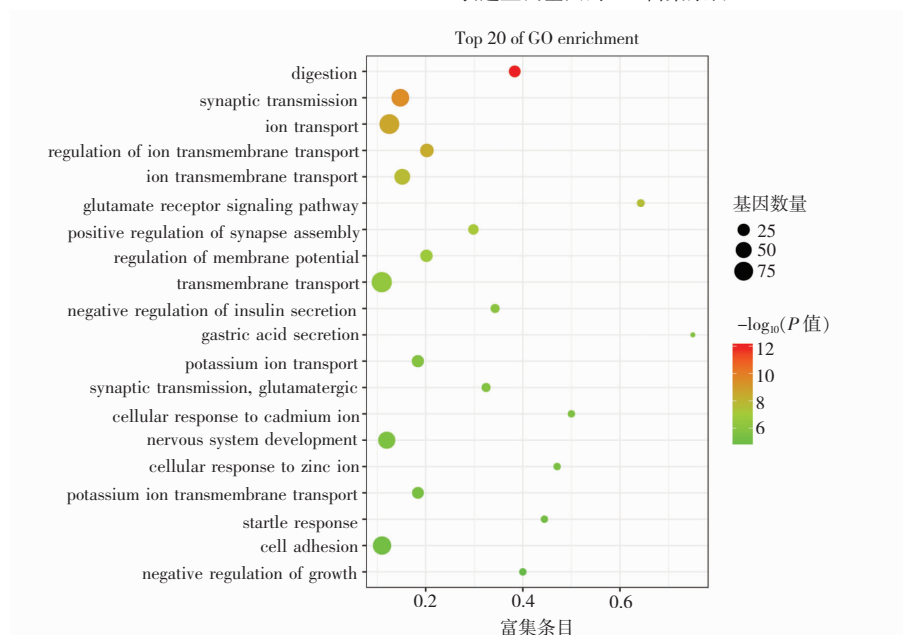
2.3 AEG 肿瘤组织中 circRNAs-mRNAs 共表达网络

共表达网络分析构建过程中, 对 AEG 组织和配对正常



注: 差异表达基因中, 表达上调基因 (AEG 肿瘤组织 vs. 癌旁正常黏膜组织, Fold change ≥ 2) 的 GO 富集条目

A. 表达上调基因的 GO 富集条目



注: 差异表达基因中, 表达下调基因 (AEG 肿瘤组织 vs. 癌旁正常黏膜组织, fold change ≤ 0.5) 的 GO 富集条目

B. 表达下调基因的 GO 富集条目

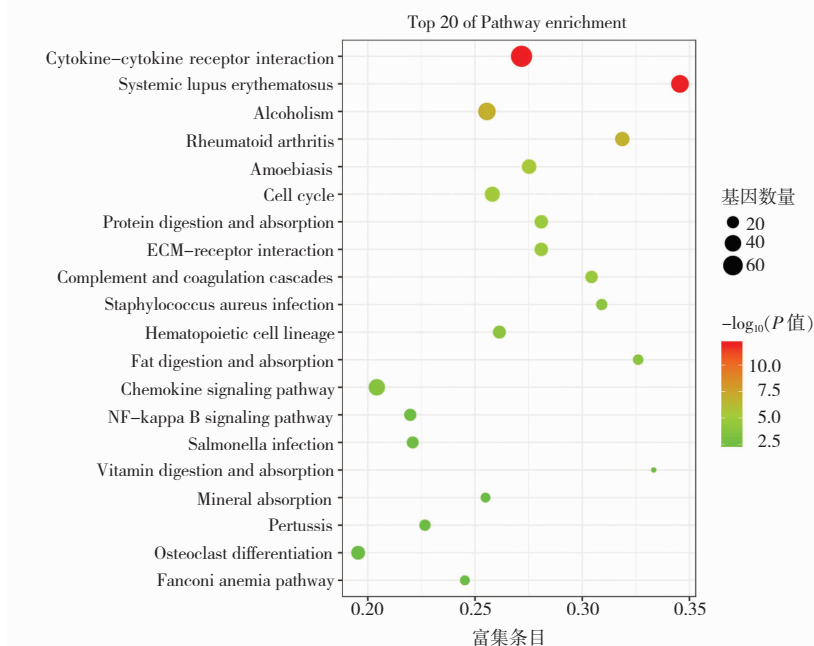
图 2 AEG 组织与正常胃黏膜组织间 GO 富集条目

黏膜组织之间差异表达的数量庞大的 mRNAs 进行严格质控(fold change ≥ 16 或 fold change ≤ 0.0625 , $P < 0.05$), 共获得 295 个符合质控标准的 mRNA 分子与差异表达的 26 个 circRNA 分子进行共表达网络分析。以 $|r(\text{Pearson 相关系数})| \geq 0.4$, 且 $\text{FDR} < 0.05$ 为共表达关系筛选标准, 共有 299 个 RNAs 分子(4 个 circRNA 和 295 个 mRNA)构成了 AEG 肿瘤组的共表达网络关系图(图 4), 形成了 3 702 条“相关关系”。参与构建共表达网络的 circRNA 分子: has_circ_0000417、

has_circ_0007766、has_circ_0069152、has_circ_0006859。

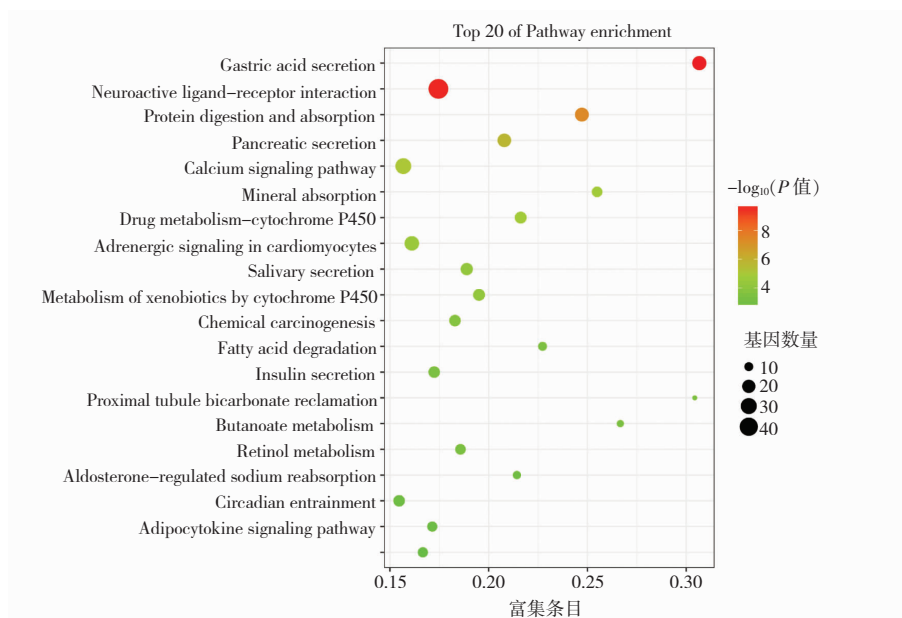
2.4 差异表达 circRNA-miRNA-mRNA 竞争内源性 RNA 负相关分析

从差异表达的 mRNAs、miRNA 和 circRNAs, 提取 3 种 RNA 分子间对应的 ceRNA 关系结果, 并将 ceRNA 分析结果中 circRNAs 的差异倍数卡值到 2 倍(fold change ≥ 2 或 fold change ≤ 0.5 , $P < 0.05$), mRNAs 和 miRNAs 的差异倍数适当放宽卡值到 1.2 倍(fold change ≥ 1.2 或 fold change ≤ 0.833 , $P <$



注: 差异表达基因中, 表达上调基因(AEG 肿瘤组织 vs. 癌旁正常黏膜组织, fold change ≥ 2)的 KEGG 富集条目

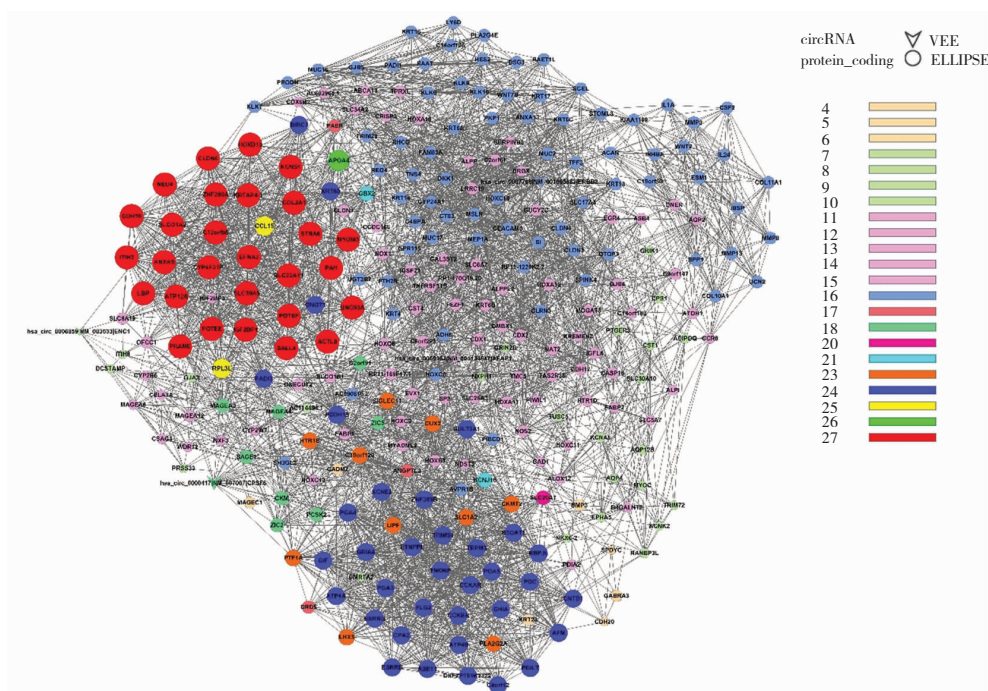
A. 表达上调基因的 KEGG 富集条目



注: 差异表达基因中, 表达下调基因(AEG 肿瘤组织 vs. 癌旁正常黏膜组织, fold change ≤ 0.5)的 KEGG 富集条目

B. 表达下调基因的 KEGG 富集条目

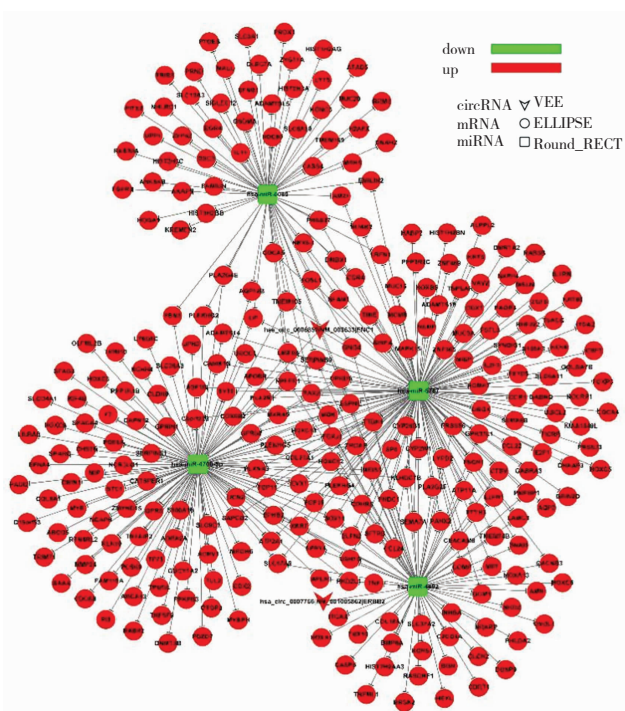
图 3 AEG 组织与正常胃黏膜组织间差异表达基因富集的信号通路



注:a. 共表达网络分析中共纳入 295 个差异表达的 mRNAs 和 4 个 circRNAs 分子;b. 圆形代表 mRNAs, 三角形代表 circRNAs;c. 实线表示基因之间存在正相关关系, 虚线表示基因之间存在负相关关系;d. 基因结构之间的关联紧密程度用不同的颜色代表, 红色表示关联程度最高

图 4 AEG 组织中 circRNAs-mRNAs 共表达网络分析图谱

0.05), 共获得 469 条可能存在的 circRNA-miRNA-mRNA 竞争内源性 RNA 调控关系; 构建 ceRNAs 网络图(图 5)。26 个差异表达的 circRNA 中, 可能存在 ceRNA 调控关系的 circRNA 分子有 2 个: has_circ_0006859, has_circ_0007766。



注:a. 圆形代表 mRNAs, 三角形代表 circRNAs, 正方形代表 miRNAs;
b. 实线表示基因之间存在 ceRNAs 竞争结合关系

图 5 AEG 组织与配对正常黏膜差异表达基因构建 ceRNAs (circRNAs-miRNAs-mRNAs) 网络

2.5 circRNA0007766 在 AEG 肿瘤组织中高表达及其诊断价值初步评估

在基因共表达网络分析和 ceRNA 机制分析中, 结果发现, has_circ_0007766 是 2 种分析策略结果所得到的交集分子; 提示 has_circ_0007766 可能在 AEG 发生过程中发挥关键的生物学作用。随后, 在 22 对配对的 AEG 肿瘤组织及癌旁黏膜组织中, 用 qRT-PCR 检测 circRNA0007766 的相对表达量。证实 AEG 肿瘤组织中 circRNA0007766 和表达量显著高于癌旁正常黏膜组织 ($P < 0.05$) (图 6); 通过计算 ROC 曲线和曲线下的面积 (area under the curve, AUC), 观察到 circRNA0007766 可以很好地区分肿瘤组织及正常胃黏膜组织 ($AUC = 0.729, P < 0.05$) (图 7)。提示其可能是一个潜在的诊断标志物。

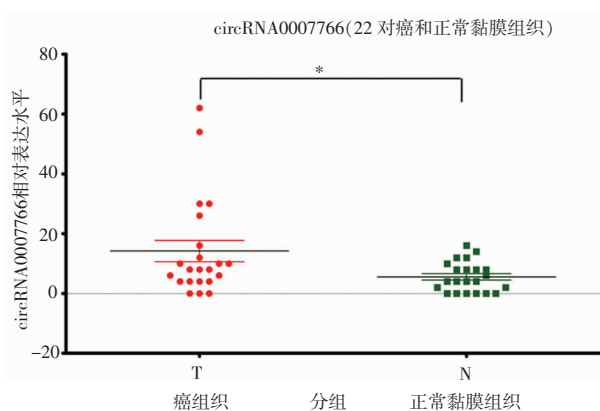


图 6 qRT-PCR 检测 circRNA0007766 在 AEG 组织中的表达量

差异 circRNAs 会存在表达类型正相关的关系。参与上述调控的 miRNAs、mRNAs、circRNAs 构成的网络即内源性 RNA 竞争网络^[7-12]。

本研究通过分析构建 circRNA-miRNA-mRNAs 3 种 RNAs 之间的 ceRNA 网络,分别预测可与 has_circ_0007766 结合的 miRNA 和 mRNA,结果发现 miRNA4492 与 has_circ_0007766 和癌基因 MET 均有结合位点。而 MET 基因编码产物为肝细胞生长因子受体属于蛋白质受体酪氨酸激酶家族成员 (RTK),具有酪氨酸激酶活性。MET 与多种癌基因产物和调节蛋白相关,参与细胞信息传导、细胞骨架重排的调控,是细胞增殖、分化和运动的重要因素。研究结果提示 has_circ_0007766 可能通过 ceRNA-miRNA-mRNA 的方式调控肿瘤相关基因 MET 的表达水平,进而影响 AEG 的恶性表型。此外,qRT-PCR 实验结果证实:has_circ_0007766 表达水平在 AEG 肿瘤组织的表达量高于癌旁黏膜组织,通过 ROC 曲线分析表明该 circRNA 分子的 AUC 值可达 0.729,有潜能作为胃癌分子诊断标志物。

后续将通过大样本的临床试验验证 AEG 原发灶和癌旁正常黏膜组织中 circRNA0007766、miRNA4492、METmRNA 的表达情况,明确三者之间相关性以及与 AEG 临床病理指标和预后的关系;通过 qRT-PCR、RNA pull down 等分子生物学手段进一步明确 circRNA0007766 通过 ceRNA-miRNA-mRNA 的方式调控肿瘤相关基因 MET 表达的分子机制;以较大样本的正常人群为对照,利用 ROC 曲线和 AUC 等统计学分析方法判断 circRNA0007766 作为胃癌分子诊断标志物的有效性。

4 结 论

本文通过 RNA 高通量测序,基因共表达网络分析和 ceRNA 负相关分析,结合 qRT-PCR 实验筛选出可能在 AEG 发生、发展中起关键作用的环状 RNA 即 has_circ_0007766,并通过 NovelBio 生物信息分析云平台(参考数据库:miRbase、miRanda 3.3、Targetsacan)分析构建了 circRNA-miRNA-mRNAs 三种 RNAs 之间的 ceRNA 网络,预测该环状 RNA 可能通过 miR4492-has_circ_0007766-METmRNA 的内源性 RNA 竞争机制调节 AEG 的发生发展。本研究为今后探究 AEG 发生发展机制奠定了基础,同时为 AEG 临床诊断提供了可能的新的诊断标志物。

参 考 文 献

- [1] 陈志峰,侯 浚,贺宇彤. 食管胃交界腺癌-食管癌高发区面临的新课题[J]. 肿瘤防治研究, 2007,34(11):883-885.
- [2] Xia W, Qiu M, Chen R, et al. Circular RNA has_circ_0067934 is upregulated in esophageal squamous cell carcinoma and promoted proliferation[J]. Sci Rep, 2016, 6:35576.
- [3] Xie H, Ren X, Xin S, et al. Emerging roles of circRNA_001569 targeting miR-145 in the proliferation and invasion of colorectal cancer[J]. Oncotarget, 2016, 7(18):26680-26691.
- [4] Liu Q, Zhang X, Hu X, et al. Circular RNA related to the chondrocyte ECM regulates MMP13 expression by functioning as a MiR-136 'Sponge' in human cartilage degradation[J]. Sci Rep, 2016, 6:22572.
- [5] Lai Z, Yang Y, Yan Y, et al. Analysis of co-expression networks for circular RNAs and mRNAs reveals that circular RNAs hsa_circ_0047905, hsa_circ_0138960 and has_circRNA7690-15 are candidate oncogenes in gastric cancer[J]. Cell Cycle, 2017, 16(23):2301-2311.
- [6] Barabasi AL, Oltvai ZN. Network biology: understanding the cell's functional organization[J]. Nat Rev Genet, 2004, 5(2):101-113.
- [7] Lasda E, Parker R. Circular RNAs: diversity of form and function[J]. RNA, 2014, 20(12):1829-1842.
- [8] Hansen TB, Jensen TI, Clausen BH, et al. Natural RNA circles function as efficient microRNA sponges[J]. Nature, 2013, 495(7441):384-388.
- [9] Zhao ZJ, Shen J. Circular RNA participates in the carcinogenesis and the malignant behavior of cancer[J]. Rna Biol, 2017, 14(5):514-521.
- [10] Chen Y, Li C, Tan C, Liu X. Circular RNAs: a new frontier in the study of human diseases[J]. J Med Genet, 2016, 53(6):359-365.
- [11] Qu S, Yang X, Li X, et al. Circular RNA: a new star of noncoding RNAs[J]. Cancer Lett, 2015, 365(2):141-148.
- [12] Zhong Y, Du Y, Yang X, et al. Circular RNAs function as ceRNAs to regulate and control human cancer progression[J]. Mol Cancer, 2018, 17(1):79.
- [13] Pujana MA, Han JD, Starita LM, et al. Network modeling links breast cancer susceptibility and centrosome dysfunction[J]. Nat Genet, 2007, 39(11):1338-1349.
- [14] Shi Z, Derow CK, Zhang B. Co-expression module analysis reveals biological processes, genomic gain, and regulatory mechanisms associated with breast cancer progression[J]. BMC Syst Biol, 2010, 4:74.
- [15] Carlson MR, Zhang B, Fang Z, et al. Gene connectivity, function, and sequence conservation: predictions from modular yeast co-expression networks[J]. BMC Genomics, 2006, 7:40.
- [16] Towfic F, VanderPlas S, Oliver CA, et al. Detection of gene orthology from gene co-expression and protein interaction networks[J]. BMC Bioinformatics, 2010, 11(S3):7.
- [17] Hansen TB, Jensen TI, Clausen BH, et al. Natural RNA circles function as efficient microRNA sponges[J]. NATURE, 2013, 495(7441):384-388.
- [18] Li Z, Huang C, Bao C, et al. Exon-intron circular RNAs regulate transcription in the nucleus[J]. Nat Struct Mol Biol, 2015, 22(3):256-264.

(责任编辑:唐秋姗)