

胶质瘤中 hsa_circ_0021350 的表达情况及临床意义研究

邹小琼, 薛春红, 王 平, 王燕靖, 李 鑫, 刘 畅, 农蔚霞,
李 枫, 陈 芳, 张庆梅, 罗 彬, 谢小薰

基金项目: 国家自然科学基金项目(编号:81960453); 广西自然科学基金项目(编号:2022GXNSFAA035639)

作者单位: 530021 南宁, 广西医科大学基础医学院组织学与胚胎学教研室(邹小琼, 薛春红, 王 平, 王燕靖, 李 鑫, 农蔚霞, 李 枫, 陈 芳, 张庆梅, 罗 彬, 谢小薰), 广西高校基础医学重点实验室(张庆梅, 罗 彬, 谢小薰); 530021 南宁, 广西医科大学第一附属医院神经外科(刘 畅)

作者简介: 邹小琼, 在读硕士研究生, 研究方向: 肿瘤免疫和肿瘤分子生物学。E-mail:577329801@qq.com

通信作者: 谢小薰, 医学博士, 教授, 博士研究生导师, 研究方向: 肿瘤免疫和肿瘤分子生物学。E-mail:1695261181@qq.com

[摘要] **目的** 探讨 hsa_circ_0021350 在胶质瘤中的表达及临床意义, 初步评价其应用于胶质瘤诊断和治疗的潜力。**方法** 选择 2016 年 1 月至 2022 年 5 月在广西医科大学第一附属医院神经外科经手术获取的胶质瘤组织标本 40 例(高级别胶质瘤 22 例, 低级别胶质瘤 18 例), 正常脑组织标本 10 例。通过 RNase R 消化联合逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)验证 hsa_circ_0021350 的环状特性。通过 TA 克隆测序法鉴定实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)扩增产物。比较高级别胶质瘤、低级别胶质瘤和正常脑组织 hsa_circ_0021350 的表达水平。分析 hsa_circ_0021350 表达与胶质瘤患者临床病理指标的关联性。**结果** 该研究所设计的发散引物可有效特异扩增 hsa_circ_0021350。经验证, hsa_circ_0021350 呈环状, 且能耐受 RNase R 消化。qRT-PCR 实验结果显示, 高级别胶质瘤和低级别胶质瘤 hsa_circ_0021350 的表达水平均高于正常脑组织, 且高级别胶质瘤 hsa_circ_0021350 的表达水平较低级别胶质瘤更高, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。hsa_circ_0021350 的表达与胶质瘤分级和 ki67 阳性率具有显著关联性($P < 0.05$)。**结论** hsa_circ_0021350 在胶质瘤, 尤其是高级别胶质瘤中呈高表达, 且与肿瘤增殖因子 ki67 相关, 是胶质瘤诊断和治疗的潜在分子靶点。

[关键词] 环状 RNA; Hsa_circ_0021350; 胶质瘤; 分子靶点
[中图分类号] R 739.41 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2022)12-1135-05
doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2022.12.07

A study on the expression of hsa_circ_0021350 in glioma and its clinical significance ZOU Xiao-qiong, XUE Chun-hong, WANG Ping, et al. Department of Histology and Embryology, School of Basic Medical Sciences, Guangxi Medical University, Nanning 530021, China

[Abstract] **Objective** To investigate the expression of hsa_circ_0021350 in glioma and its clinical significance, and to preliminarily evaluate its potential application in the diagnosis and treatment of glioma. **Methods** Forty glioma tissue specimens(including 22 cases of high-grade gliomas and 18 cases of low-grade gliomas) and 10 normal brain tissue specimens were collected in Department of Neurosurgery, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, from January 2016 to May 2022. The ring-like properties of hsa_circ_0021350 were verified by RNase R digestion combined with reverse transcription-polymerase chain reaction(RT-PCR). The amplification products of quantitative real-time PCR(qRT-PCR) were identified by TA clone sequencing. The expression levels of hsa_circ_0021350 were compared among the high-grade gliomas, the low-grade gliomas and the normal brain tissues. The correlation between hsa_circ_0021350 expression and clinicopathological indicators was analyzed in the glioma patients. **Results** The divergent primers designed in this study could effectively and specifically amplify hsa_circ_0021350, and hsa_circ_0021350 was ring-shaped and tolerant to RNase R digestion. The experimental results of qRT-PCR showed that the expression levels of hsa_circ_0021350 in the high-grade gliomas and the low-grade gliomas were higher than those in the normal brain tissues, and the expression

level of hsa_circ_0021350 in the high-grade gliomas was higher than that in the low-grade gliomas, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). The expression of hsa_circ_0021350 was significantly correlated with the grade of glioma and the positive rate of ki67 ($P < 0.05$). **Conclusion** Hsa_circ_0021350 is highly expressed in gliomas, especially in high-grade gliomas, and is related to tumor proliferation factor ki67. hsa_circ_0021350 can be used as a potential molecular target for diagnosis and treatment of gliomas.

[**Key words**] Circular ribonucleic acid(circRNA); Hsa_circ_0021350; Glioma; Molecular target

胶质瘤是常见的原发性中枢神经系统肿瘤,占中枢神经系统恶性肿瘤的 81%^[1]。根据世界卫生组织(World Health Organization,WHO)分级标准,胶质瘤分为四级,其中 I ~ II 级为低级别胶质瘤,III ~ IV 级为高级别胶质瘤^[2]。肿瘤发生是内外因素长期影响及多基因相互作用的结果^[3]。由于胶质瘤早期症状隐匿,病情进展快,多数患者在确诊时已错失最佳治疗时机^[4]。因此,进一步研究胶质瘤发病机理,探索潜在的特异性肿瘤标志物和有效治疗靶点,对胶质瘤的早期诊断和临床治疗具有重要意义。环状 RNA(circular RNA,circRNA)是近年来非编码 RNA 领域的研究热点。Kun-Peng 等^[5]的研究发现 hsa_circ_0081001 可作为骨肉瘤诊断和预后预测的生物标志物,且效能优于碱性磷酸酶和乳酸脱氢酶;还发现血清中该 circRNA 的表达水平可动态反映骨肉瘤患者的病情变化。另一研究显示,circ-LDLRAD3 联合癌抗原 19-9(cancer antigen 19-9,CA19-9)诊断胰腺癌具有良好的敏感性和特异性^[6]。还有研究显示胃癌患者血浆的 hsa_circ_0000419 表达水平与肿瘤分期、淋巴和远端转移、神经周围浸润显著相关,其有作为胃癌预后指标的潜质^[7]。circRNA 在胶质瘤方面的研究刚起步,有文献报道外泌体 hsa_circ_0072083 可通过增加 Nanog 同源盒转录因子促进替莫唑胺的耐药,这为改善替莫唑胺治疗胶质瘤的疗效提供了新思路^[8]。鉴定更多 circRNA 的功能作用将可为肿瘤诊断和靶向治疗提供更多选择。本课题组的前期研究发现 hsa_circ_0021350 在胶质母细胞瘤组织中表达上调。鉴此,本研究旨在探讨 hsa_circ_0021350 在胶质瘤诊断和治疗中的潜在价值。

1 资料与方法

1.1 组织标本来源 选择 2016 年 1 月至 2022 年 5 月在广西医科大学第一附属医院神经外科经手术获取的胶质瘤组织标本 40 例,正常脑组织标本 10 例。胶质瘤组织标本中高级别胶质瘤(WHO 分级为 III ~ IV 级)22 例,低级别胶质瘤(WHO 分级为 I ~ II 级)18 例。其中男性 22 例,女性 18 例,中位年龄为 42.5 岁。纳入标准:(1)术后病理检查证实为胶质瘤;(2)术前

未接受放疗或化疗;(3)临床资料完整。排除标准:(1)生命体征不稳定者;(2)合并其他肿瘤者;(3)合并严重的器质性疾病或凝血障碍者。正常脑组织标本来源于颅脑外伤行内减压手术患者。所有组织标本经手术切取后冻存于 -80 ℃ 液态氮。通过医院病历系统收集所有患者的一般临床资料以及病理检查结果。本研究经广西医科大学第一附属医院伦理委员会批准(编号:20220098),研究对象或家属均签署知情同意书。

1.2 细胞株及细胞培养 人胶质瘤细胞株 SF126 购于国家生物医学实验细胞资源库,并在本实验室传代保存。使用含 10% 胎牛血清(fetal bovine serum,FBS)和 1% 的青霉素/链霉素双抗的 DMEM 培养基进行培养,培养箱条件设置为:5% CO₂,95% 饱和湿度,37 ℃。

1.3 总 RNA 提取及 cDNA 合成 采用 Trizol 法提取组织标本总 RNA;采用 RNA 提取试剂盒(Vazyme,美国)提取细胞总 RNA。采用超微量分光光度计(OSE-260)测定 RNA 纯度,选择 260/280 OD 值为 1.8 ~ 2.0 的样本,经 HiScript II Q RT SuperMix for qPCR(Vazyme 公司,美国)试剂盒将其逆转录为 cDNA。

1.4 核糖核酸外切酶 RNase R 消化实验 应用核糖核酸外切酶 RNase R 验证 circRNA 的存在。提取胶质瘤细胞 SF126 总 RNA,并将其分为 2 份,一份用 RNase R 消化处理(RNase R +),将 1 μl 的 RNase R 加到 2.5 μg 的总 RNA 中,37 ℃ 孵育 20 min 后,70 ℃ 20 min 灭活酶;另一份不做任何处理(RNase R -)。

1.5 逆转录聚合酶链反应(reverse transcription-polymerase chain reaction,RT-PCR) 以上述(方法 1.4)经 RNase R + 和 RNase R - 处理的 RNA 逆转录为 cDNA,并以其为模板,应用发散引物(hsa_circ_0021350 的引物)和收敛引物(sox6 mRNA 的引物)分别进行 RT-PCR,所用引物由上海生物工程股份有限公司合成,引物序列见表 1。反应体系:2 × Rapid Tap Master Mix 12.5 μl,ddH₂O 9.5 μl,上、下游引物各 1 μl,cDNA 1 μl。反应条件为 95 ℃ 变性 3 min,95 ℃ 15 s,54 ℃ 15 s,72 ℃ 15 s,35 个循环,72 ℃ 5 min,最后延伸。将 RT-PCR 产物经琼脂糖凝胶电泳进行可视化检测。

表 1 引物序列	
名 称	序列(5'-3')
hsa_circ_0021350	正向:ACAGATTGCGAGACAACAGCA
	反向:TTCATCATGCGCTGCCAGTAG
sox6 mRNA	正向:TTTACGGGAGCAGCTACTGG
	反向:GTTCTTGCTGTTGGCGAGC
GAPDH	正向:GCACCGTCAAGGCTGAGAAC
	反向:TGGTGAAGACGCCAGTGA

1.6 实时荧光定量 PCR (quantitative real-time PCR, qRT-PCR) 应用 hsa_circ_0021350 的引物进行 qRT-PCR (试剂盒购自 Vazyme 公司)。反应体系:2 × ChamQ Universal SYBR qPCR Master Mix 10 μl, ddH₂O 7.2 μl, 上、下游引物各 0.4 μl, cDNA 2 μl。反应条件:95 ℃ 预变性 30 s, 95 ℃ 10 s, 60 ℃ 30 s, 40 个循环。以 GAPDH 为内参,采用 2^{-ΔΔCt} 法计算目标因子的相对表达量,均重复 3 次独立实验。

1.7 TA 克隆测序 将 qRT-PCR 扩增产物 hsa_circ_0021350 送上海生物工程股份有限公司进行 TA 克隆测序,检测产物的序列是否与 circBase (<http://www.circbase.org/>) 上的序列一致,以及确定 hsa_circ_0021350 中是否存在环化位点。

1.8 统计学方法 应用 SPSS26.0 和 GraphPadPrism 5 统计软件进行数据分析和绘图。计量资料以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,组间比较采用成组 *t* 检验。计数资料以例数 (百分率) [*n* (%)] 表示,组间比较采用 χ^2 检验。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 hsa_circ_0021350 鉴定结果 通过 circBase 获取 hsa_circ_0021350 的序列,查询显示 hsa_circ_0021350 来自人类第 11 号染色体上 sox6 基因的第 5 和第 6 个外显子的反向剪接 (NM_017508),长度为 242 bp (见图 1a)。将 hsa_circ_0021350 和 sox6 mRNA 的 qRT-PCR 扩增产物的测序结果分别与 circBase 上的对应序列进行比较,结果证实这两种扩增产物是 hsa_circ_0021350 和 sox6 mRNA,且 hsa_circ_0021350 存在 circRNA 专有的环化位点 (见图 1b)。

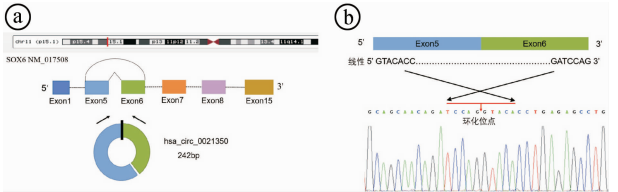
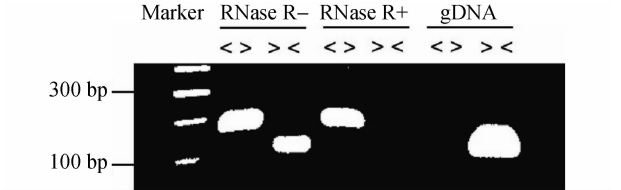


图 1 hsa_circ_0021350 在基因组及基因 sox6 的定位及环化位点确定图

2.2 circRNA 的环状特性鉴定结果 RNase R 消化实验联合 RT-PCR 实验结果显示,在 RNase R - 组,发散引物和收敛引物均能扩增出目的基因,分别为 hsa_circ_0021350 (171 bp) 和 sox6 (107 bp),其琼脂糖凝胶电泳条带清晰明亮。在 RNase R + 组,仅发散引物可扩增出清晰的凝胶电泳条带,收敛引物扩增产物的凝胶电泳条带消失,提示线性 sox6 mRNA 被 RNase R 消化。进一步对比发现 RNase R 消化前后,hsa_circ_0021350 的电泳条带无明显变化,提示 hsa_circ_0021350 对 RNase R 的抵抗性高。此外,基因组 DNA (genomic DNA, gDNA) 仅收敛引物可扩增出电泳条带,排除 hsa_circ_0021350 是基因重组产物的可能。见图 2。



< > 表示 hsa_circ_0021350; > < 表示 sox6 mRNA
图 2 RNase R - 组、RNase R + 组、gDNA 组中 hsa_circ_0021350 与 sox6 的表达情况图

2.3 胶质瘤组织和正常脑组织的 hsa_circ_0021350 表达水平比较 高级别胶质瘤和低级别胶质瘤 hsa_circ_0021350 的表达水平均高于正常脑组织,差异有统计学意义 (*F* = 15.368, *P* < 0.001),且高级别胶质瘤 hsa_circ_0021350 的表达水平较低级别胶质瘤更高,差异有统计学意义 (*P* < 0.05)。见图 3。

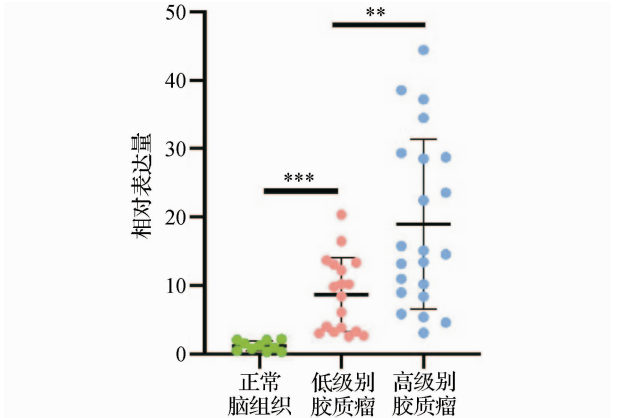


图 3 低级别胶质瘤、高级别胶质瘤和正常脑组织 hsa_circ_0021350 表达水平比较图

2.4 胶质瘤组织 hsa_circ_0021350 表达水平与临床病理指标的关联性分析结果 以 hsa_circ_0021350 表达水平的中位数将胶质瘤患者分为高表达组和低表达组,分析结果显示,hsa_circ_0021350 的表达与胶质瘤分级、ki67 阳性率具有显著关联性 (*P* < 0.05),

但与患者年龄、性别、肿瘤大小、Karnofsky 评分,以及 P53、上皮膜抗原(epithelial membrane antigen,EMA)、胶质纤维酸性蛋白(glial fibrillary acidic protein,GFAP)、O6-甲基鸟嘌呤-DNA 甲基转移酶(recombinant O-6-methylguanine DNA methyltransferase,MGMT)等相关分子的表达情况无显著关联性($P>0.05$)。见表 2。

表 2 hsa_circ_0021350 表达水平与胶质瘤患者临床病理指标的关联性分析结果[$(\bar{x}\pm s)$, $n(\%)$]

组 别	例数	性别		年龄 (岁)	胶质瘤分级		肿瘤大小(cm)		Karnofsky 评分(分)	
		男	女		低级别	高级别	<5.0	≥5.0	<70	≥70
高表达组	20	12(60.00)	8(40.00)	40.10±17.95	5(25.00)	15(75.00)	10(50.00)	10(50.00)	6(30.00)	14(70.00)
低表达组	20	9(45.00)	11(55.00)	42.25±15.38	13(65.00)	7(35.00)	9(45.00)	11(55.00)	8(40.00)	12(60.00)
χ^2	-	0.902		0.407	6.465		0.100		0.440	
P	-	0.342		0.686	0.011		0.752		0.507	

组 别	例数	P53		EMA		GFAP		MGMT		ki67(%)	
		-/+	++/+++	-	+	-	+	-	+	<20	≥20
高表达组	20	11(55.00)	9(45.00)	17(85.00)	3(15.00)	2(10.00)	18(90.00)	7(35.00)	13(65.00)	7(35.00)	13(65.00)
低表达组	20	10(50.00)	10(50.00)	13(65.00)	7(35.00)	1(5.00)	19(95.00)	7(35.00)	13(65.00)	16(80.00)	4(20.00)
χ^2	-	0.100		2.133		0.360		0.000		8.286	
P	-	0.752		0.144		0.548		1.000		0.004	

3 讨论

3.1 目前,临床上对于胶质瘤的治疗主要以手术治疗为主,辅以放射治疗和化学药物治疗,近年来这些治疗方式都取得了一定进展。然而,由于中枢神经系统肿瘤位置的特殊性,临床上常出现外科手术不能完全切除肿瘤情况。另外,术后残留的肿瘤细胞对放射治疗和化学药物治疗存在抵抗性,这使得胶质瘤的治疗效果不佳,患者的病死率和复发率仍然较高^[9]。鉴此,近年来越来越多的研究提出通过靶向治疗提高胶质瘤患者的生存率,而目前一些靶向药物在胶质瘤治疗中初显良好的应用前景^[10-11]。开发胶质瘤的靶向药物需要特异性的靶分子,寻找和鉴定潜在的靶分子,分析它们表达的特性及临床意义,可为胶质瘤的靶向治疗及诊断带来新思路。

3.2 circRNA 是一类在临床诊疗中具有应用前景的分子,早在 20 世纪 70 年代研究人员就在病毒中发现了 circRNA,但当时认为这是一种错误的剪切产物^[12]。近年来,随着高通量测序技术的发展,众多的 circRNA 被发现。circRNA 的 5'和 3'端共价结合形成闭环结构,不受 RNA 外切酶影响,不易降解,比线性 RNA 更加稳定^[13]。有研究显示,circRNA 的半衰期中位值为 18.8~23.7 h,而它们的同源线性 RNA 的半衰期中位值为 4.0~7.4 h^[14]。circRNA 除了在生物体细胞内的稳定性之外,其在不同物种之间也显示出高度保守性,因此具有作为疾病诊断生物学标志物的巨大潜力。现已有许多 circRNA 呈现组织特异性表达,主要通过可变剪接、转录调控、编码蛋白、抗病毒免疫反应和微小 RNA(micro RNA,miRNA)海绵作用等方式在肿瘤的发生、发展中发挥重要的调控作用^[15-17]。目前越来越多的研究表明,circRNA 与神经系统肿瘤的发生和发展密切相关。Zhou 等^[18]发现 hsa_circ_01844 能促进胶质母细胞瘤细胞增殖和迁移,而上调 hsa_circ_01844 能诱导凋亡,对胶质瘤起抑制作用。还有研究显示,hsa_circ_0082375 可通过调节 Wnt7B 促进胶质瘤的发展^[19]。hsa_circ_CLIP2 可通过 miR-195-5p/高迁移率组盒 3(high mobility group box 3,HMGB3)轴调控胶质瘤生长^[20]。

3.3 本课题组前期对 5 例正常脑组织和 5 例胶质母细胞瘤中进行了高通量测序,共筛选出了 879 个差异表达的 circRNA,包括 224 个高表达的 circRNA 和 655 个差异性低表达的 circRNA,其中 hsa_circ_0021350 是差异性高表达的 circRNA,且目前国内外均未见有相关文献报道。故本研究采用 qRT-PCR 检测 hsa_circ_0021350 在胶质瘤中的表达,并分析其临床意义,以探究其在胶质瘤临床诊断和治疗方面的作用。对于 qRT-PCR 技术而言,引物特异性至关重要,因此本课题组首先通过克隆测序确认了所采用的发散引物所扩增的 qRT-PCR 产物为 hsa_circ_0021350。鉴于 circRNA 与普通的线性 RNA 有不同特性,我们进一步通过 RNase R 消化联合 RT-PCR 实验证实了 hsa_circ_0021350 的环状特性及其稳定性。以上这两项鉴定确保了 qRT-PCR 法测定胶质瘤中 hsa_circ_0021350 表达结果的准确性和可靠性。本研究 qRT-PCR 结果显示,hsa_circ_0021350 在胶质瘤组织中呈现高表达,提示 hsa_circ_0021350

可能与胶质瘤的发生、发展相关;进一步分析发现,hsa_circ_0021350 的表达水平与胶质瘤分级、ki67 阳性率具有显著关联性。ki67 被广泛认为是一种潜在的增殖预后标志,有成为癌症诊断标志物的应用潜力^[21-22]。ki67 的阳性率越高,提示肿瘤恶性程度越高,患者预后越差^[23]。这也提示 hsa_circ_0021350 可能与胶质瘤的增殖相关,可能是判断胶质瘤恶性程度和预后的潜在标志物。

3.4 本研究也存在一些不足:(1)纳入样本量较少,未能分析患者的生存预后;(2)未能分析胶质瘤患者血液中 hsa_circ_0021350 的表达情况;(3)研究结果尚不够深入,hsa_circ_0021350 的具体作用机制仍有待进一步探讨。

综上所述,hsa_circ_0021350 在胶质瘤中高表达,且可能与胶质瘤的恶性进展相关,可能成为胶质瘤患者的有价值的诊断标志物及治疗靶标,但结论及具体机制尚需进一步验证。

参考文献

- [1] Xu S, Tang L, Li X, et al. Immunotherapy for glioma: current management and future application[J]. *Cancer Lett*, 2020,476:1-12.
- [2] Louis DN, Perry A, Wesseling P, et al. The 2021 WHO classification of tumors of the central nervous system: a summary[J]. *Neuro Oncol*, 2021,23(8):1231-1251.
- [3] 谢欢,张庆梅,张鹏博,等.人脑胶质瘤中 MAGE-D4 和 CANX mRNA 的表达及其相关性分析[J]. *中国临床新医学*,2022,15(2):114-119.
- [4] Reni M, Mazza E, Zanon S, et al. Central nervous system gliomas[J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2017,113:213-234.
- [5] Kun-Peng Z, Chun-Lin Z, Jian-Ping H, et al. A novel circulating hsa_circ_0081001 act as a potential biomarker for diagnosis and prognosis of osteosarcoma[J]. *Int J Biol Sci*, 2018,14(11):1513-1520.
- [6] Yang F, Liu DY, Guo JT, et al. Circular RNA circ-LDLRAD3 as a biomarker in diagnosis of pancreatic cancer[J]. *World J Gastroenterol*, 2017,23(47):8345-8354.
- [7] Tao X, Shao Y, Lu R, et al. Clinical significance of hsa_circ_0000419 in gastric cancer screening and prognosis estimation[J]. *Pathol Res Pract*, 2020,216(1):152763.
- [8] Ding C, Yi X, Chen X, et al. Warburg effect-promoted exosomal circ_0072083 releasing up-regulates NANGO expression through multiple pathways and enhances temozolomide resistance in glioma[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2021,40(1):164.

- [9] 刘臣,李根华,李想.脑胶质瘤综合治疗的研究进展[J]. *中国微侵袭神经外科杂志*,2019,24(4):182-185.
- [10] Lin L, Cai J, Jiang C. Recent advances in targeted therapy for glioma[J]. *Curr Med Chem*, 2017,24(13):1365-1381.
- [11] Hamza MA, Gilbert M. Targeted therapy in gliomas[J]. *Curr Oncol Rep*, 2014,16(4):379.
- [12] Diener TO. Potato spindle tuber "virus". IV. A replicating, low molecular weight RNA[J]. *Virology*, 1971,45(2):411-428.
- [13] Liu J, Zhao K, Huang N, et al. Circular RNAs and human glioma[J]. *Cancer Biol Med*, 2019,16(1):11-23.
- [14] Enuke Y, Lauriola M, Feldman ME, et al. Circular RNAs are long-lived and display only minimal early alterations in response to a growth factor[J]. *Nucleic Acids Res*, 2016,44(3):1370-1383.
- [15] 戚前生,赵红,刘建雄.环状 RNA 在神经胶质瘤中的研究进展[J]. *中国肿瘤外科杂志*,2019,11(1):60-64.
- [16] Hou LD, Zhang J. Circular RNAs: an emerging type of RNA in cancer[J]. *Int J Immunopathol Pharmacol*, 2017,30(1):1-6.
- [17] Fang S, Pan J, Zhou C, et al. Circular RNAs serve as novel biomarkers and therapeutic targets in cancers[J]. *Curr Gene Ther*, 2019,19(2):125-133.
- [18] Zhou JX, Chen KF, Hu S, et al. Up-regulation of circular RNA hsa_circ_01844 induces apoptosis and suppresses proliferation and migration of glioblastoma cells[J]. *Chin Med J (Engl)*, 2020,134(1):81-87.
- [19] Meng X, Tian H, Guo W, et al. circ_0082375 promotes the progression of glioma by regulating Wnt7B[J]. *Transl Neurosci*, 2021,12(1):456-468.
- [20] Chen LL. The expanding regulatory mechanisms and cellular functions of circular RNAs[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2020,21(8):475-490.
- [21] Klöppel G, La Rosa S. Ki67 labeling index: assessment and prognostic role in gastroenteropancreatic neuroendocrine neoplasms[J]. *Virchows Arch*, 2018,472(3):341-349.
- [22] de Gregorio A, Friedl TWP, Hering E, et al. Ki67 as proliferative marker in patients with early breast cancer and its association with clinicopathological factors[J]. *Oncology*, 2021,99(12):780-789.
- [23] Cai J, Yang P, Zhang C, et al. ATRX mRNA expression combined with IDH1/2 mutational status and Ki-67 expression refines the molecular classification of astrocytic tumors: evidence from the whole transcriptome sequencing of 169 samples[J]. *Oncotarget*, 2014,5(9):2551-2561.

[收稿日期 2022-08-12][本文编辑 余军 吕文娟]

本文引用格式

邹小琼,薛春红,王平,等.胶质瘤中 hsa_circ_0021350 的表达情况及临床意义研究[J]. *中国临床新医学*,2022,15(12):1135-1139.