

## 外泌体circRNA在肿瘤微环境中的调控作用

申 萌, 冯永海\*, 王旻昱

(郑州大学第五附属医院呼吸与危重症医学科, 郑州 450052)

**摘要:** 肿瘤微环境是肿瘤细胞赖以生存的周围内环境, 被证明是影响肿瘤细胞增殖、转移、免疫逃避和放化疗抵抗的关键因素。外泌体环状RNA可通过招募和激活肿瘤微环境重要组成细胞, 如肿瘤细胞、成纤维细胞、巨噬细胞、淋巴细胞、内皮细胞和自然杀伤细胞等, 重塑肿瘤自身微环境, 对肿瘤的增殖、播散、耐药性的发展起到重要的调控作用。本文从不同细胞来源的外泌体环状RNA调控肿瘤微环境的角度, 综述了来自肿瘤及肿瘤基质细胞的外泌体环状RNA促进肿瘤转移、化疗抵抗的作用机制, 以及外泌体环状RNA作为肿瘤生物标志物、治疗利器应用于临床治疗的优势与应用前景。

**关键词:** 环状RNA; 外泌体; 肿瘤微环境; 耐药性; 生物标志物

## The regulatory role of exosomal circRNA in the tumor microenvironment

SHEN Meng, FENG Yonghai\*, WANG Minyu

(Department of Pulmonary and Critical Care Medicine, the Fifth Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China)

**Abstract:** The tumor microenvironment is the surrounding internal environment on which tumor cells depend and has been shown to be a key factor influencing tumor cell proliferation, metastasis and immune evasion and chemoradiotherapy. Exosomal circRNAs can play an important regulatory role in the development of tumor proliferation, dissemination, and drug resistance by recruiting and activating important constituent cells of the tumor microenvironment, such as tumor cells, fibroblasts, macrophages, lymphocytes, endothelial cells, and natural killer cells, to remodel the tumor's own microenvironment. This paper reviews the mechanism of exosomal circRNAs from tumor and tumor stromal cells to promote tumor metastasis and chemoresistance, and the advantages and application prospects of exosomal circRNAs as tumor biomarkers and therapeutic tools for clinical treatment from the perspective of tumor microenvironment regulation by exosomal circRNAs from different cell sources.

**Key Words:** circRNA; exosome; tumor microenvironment; drug resistance; biomarkers

肿瘤微环境由多种不同类型的细胞(包括肿瘤细胞)和分泌因子等组成, 其募集的肿瘤相关成纤维细胞、巨噬细胞、免疫细胞、内皮细胞和脂肪

细胞及细胞外基质、细胞分泌产物(生长因子、细胞趋化因子和蛋白水解酶)等, 是引起肿瘤发生发展和治疗抵抗的主要原因之一<sup>[1]</sup>。近年来, 大量研

收稿日期: 2022-10-28

基金项目: 河南省科技攻关项目(2018020243)

第一作者: E-mail: 18438611933@163.com

\*通信作者: E-mail: 13623712087@163.com

究证明,环状RNA(circular RNAs, circRNAs)可富集于外泌体中<sup>[2-4]</sup>,外泌体及其携带的circRNA在转移前生态位和肿瘤微环境的形成中起着关键作用,为肿瘤细胞增殖、分化、凋亡、血管发育等信号传输提供载体和途径<sup>[5]</sup>。因此,探讨外泌体circRNA对肿瘤微环境及相关细胞的影响,及其在肿瘤诊断及治疗中的作用,对于确定更多有效的精准抗癌策略至关重要。本文通过总结外泌体circRNA调控微环境细胞组分引起的抗肿瘤或促肿瘤作用,讨论了外泌体circRNA在肿瘤微环境重塑中的作用,以及作为肿瘤诊断、治疗标志物和靶点的优势及潜能,以期改善临床肿瘤治疗提供更多理论基础和新手段。

## 1 外泌体与circRNA

外泌体是一种机体内大多数细胞主动分泌的、直径为30~150 nm的微小囊泡。外泌体可携带母细胞内多种活性分子,如核酸、脂质、蛋白质等进出细胞,是介导细胞间交流的重要介质<sup>[6,7]</sup>。环状RNA是一类主要由宿主mRNA前体经可变反向剪切产生的共价闭合非编码RNA分子。与其他RNA相比, circRNA缺乏5'端帽子结构和3'端poly(A)尾部,具有不受核酸酶影响的高稳定性,其表达量甚至可达到对应的线性RNA表达量的10倍以上,有助于实现体内的高丰度表达和蓄积<sup>[8,9]</sup>。不同亚型的circRNA在细胞内定位不同,其中,外显子环化形成的环状RNA约占circRNA的80%,主要存在于细胞质中<sup>[10]</sup>,少量内含子环化形成的环状RNA<sup>[11]</sup>和外显子-内含子环状RNA主要定位于细胞核<sup>[12]</sup>。转入胞质的circRNA可通过竞争性抑制小RNA(microRNA, miRNA)、充当蛋白质支架、参与编码肽/蛋白质等,广泛参与多种癌症相关的生物学过程和途径,影响肿瘤细胞的增殖、转移、凋亡和化疗抵抗<sup>[13]</sup>。如在肺癌组织中, circAKT3、circ\_0007385、circPTK2、circ\_0008928等表达上调,可以促进非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)细胞的增殖、迁移和顺铂耐药性<sup>[14-16]</sup>。Circ-DENND2A可通过与miR-625-5p的竞争性结合来促进胶质瘤细胞的迁移和侵袭<sup>[17]</sup>。

近年来,大量研究表明, circRNA在外泌体中

表达丰富且稳定<sup>[2-4]</sup>。外泌体内circRNA表达丰度可达到细胞水平的2倍以上,远超过其相应线性RNA水平<sup>[18]</sup>。外泌体circRNA介导的肿瘤细胞与其微环境细胞组分/非细胞组分之间的双向通信可广泛参与组织稳态维持和肿瘤生长、侵袭转移、耐药性发展的过程,具有成为肿瘤高效诊断、监测标志物和治疗靶标的潜质。

## 2 不同细胞来源外泌体circRNA对肿瘤/肿瘤微环境的影响

### 2.1 外泌体circRNA对肿瘤增殖、凋亡的影响

外泌体circRNA在肿瘤细胞和肿瘤微环境之间的转移,可参与调控肿瘤细胞增殖和凋亡过程中的信号通路。Xu等<sup>[19]</sup>报道, hsa\_circ\_0014235在NSCLC细胞及外泌体中高表达,可通过海绵miR-520a-5p上调细胞周期蛋白依赖性激酶4的表达,促进细胞增殖及恶性进程。Zhang等<sup>[20]</sup>研究发现,脂肪来源的外泌体可将circ-DB递送到肝癌细胞,并通过抑制miR-34a激活下游的泛素特异蛋白酶-7/细胞周期蛋白信号通路,上调细胞周期蛋白A2的表达,促进肿瘤增殖并减少肝癌细胞中的DNA损伤。Chen等<sup>[21]</sup>研究表明,外泌体circ-0051443可自人正常肝细胞转运到肝癌细胞,通过竞争性结合miR-331-3p激活下游凋亡调节因子,促进癌细胞凋亡并抑制其增殖。以上研究提示,外泌体circRNA参与了肿瘤细胞的增殖和凋亡过程中的细胞间通讯,有助于推动肿瘤的发生发展。

### 2.2 外泌体circRNA对肿瘤转移的影响

#### 2.2.1 外泌体circRNA对肿瘤血管生成的影响

肿瘤血管是肿瘤营养获取及转移扩散的主要通道,肿瘤血管的生成是肿瘤快速增殖、浸润和转移极其重要的标志。Xu等<sup>[22]</sup>报道,胆管癌细胞来源的circ-CCAC1通过外泌体进入人脐静脉内皮细胞(human umbilical vein endothelial cells, HUVECs)后,可显著降低其细胞间紧密连接蛋白occludin和闭锁小带蛋白-1(zonula occludens protein 1, ZO-1)的表达水平,破坏血管内膜屏障完整性,促进胆管癌的发生和转移。Li等<sup>[23]</sup>研究显示, circ-IARS在胰腺癌中高表达,与肿瘤转移呈正相关, circ-IARS经外泌体传递至HUVECs后,可通过miR-122/Rho家族成员A(ras homolog gene family,

member A, RhoA)信号通路调节血管内皮通透性的变化。通过上调RhoA活性和F-肌动蛋白表达,降低ZO-1表达,促进内皮细胞收缩并破坏内皮之间的紧密连接,导致血管内皮通透性的增加,促进肿瘤侵袭和转移。Huang等<sup>[24]</sup>研究发现,外泌体circRNA-100338促进了内皮细胞的生长、迁移和血管形成,并通过降低HUEVC细胞中血管内皮钙黏蛋白和ZO-1表达水平增强了血管通透性和肝癌细胞的迁移。综上所述,肿瘤细胞来源的外泌体circRNA可通过促进肿瘤血管生成来加速肿瘤的转移进程,靶向外泌体circRNA可能是减少肿瘤转移、改善化疗敏感性有希望的策略。

### 2.2.2 外泌体circRNA对上皮-间质转化的影响

上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)是癌细胞转移的关键过程,通过该过程,上皮细胞失去细胞间的黏附能力并获得间充质迁移表型<sup>[25]</sup>。外泌体circRNA作为原发性肿瘤细胞和肿瘤微环境之间通讯的介质,在EMT的调控中发挥关键作用。Liu等<sup>[26]</sup>报道,高转移性肝癌细胞(97H/LM3细胞)递送的外泌体circ\_MMP2,赋予正常肝细胞和非转移性HepG2细胞EMT特性,其通过海绵miR-136-5p上调基质金属蛋白酶-2的表达,降解细胞间及细胞外基质间多种蛋白质成分以加速肝癌转移。Chen等<sup>[27]</sup>报道, circFARSA表达的上调与EMT和转移增加有关。NSCLC细胞来源的外泌体circFARSA可通过磷酸酯酶与张力蛋白同源物/PI3K/AKT通路诱导巨噬细胞极化为M2型,导致N-钙黏蛋白表达的增加和E-钙黏蛋白的减少以促进NSCLC细胞转移。Chen等<sup>[28]</sup>表明,肿瘤相关巨噬细胞分泌的外泌体circ\_0020256可以通过诱导E-钙黏蛋白表达下调和N-钙黏蛋白上调而诱导胆管癌细胞中的EMT过程,促进胆管癌细胞的体外增殖、迁移和侵袭。由此可见,高转移表型的肿瘤细胞可通过外泌体递送的circRNA调控EMT过程,在肿瘤的生长和转移中发挥重要作用。

### 2.3 外泌体circRNA对肿瘤免疫调节的影响

研究表明,外泌体circRNA可以参与调控肿瘤细胞及免疫细胞中程序性细胞死亡配体-1(programmed cell death ligand 1, PD-L1)/程序性细胞死亡受体-1(programmed cell death 1, PD-1)表

达,从而影响免疫细胞对抗肿瘤的能力<sup>[29]</sup>。Yang等<sup>[30]</sup>研究发现,在缺氧环境中,肿瘤相关成纤维细胞来源的外泌体circEIF3K可通过吸附miR-214上调PD-L1的表达,促进结直肠癌细胞的增殖、侵袭和转移,提示缺氧诱导的外泌体circEIF3K可能是促进肿瘤免疫逃逸的重要因素。Zhang等<sup>[31]</sup>报道,血浆外泌体内高表达的circUHRF1与NK细胞比例降低和NK细胞肿瘤浸润减少有关。肝癌细胞分泌的外泌体circUHRF1通过海绵miR-449c-5p上调重组人T细胞免疫球蛋白黏蛋白-3的表达,抑制NK细胞的肿瘤坏死因子- $\alpha$ 和 $\gamma$ -干扰素分泌并诱导NK细胞衰竭,导致肝癌细胞的PD-1抑制剂耐药。Yang等<sup>[32]</sup>研究表明,膀胱癌细胞外泌体衍生的circTRPS1可以通过circTRPS1/miR141-3p/谷氨酰胺酶-1轴调节谷氨酰胺代谢,诱导膀胱癌的肿瘤微环境中的氧化还原平衡失调以及T细胞耗竭,促进膀胱癌细胞增殖、迁移和侵袭,有潜力成为干预膀胱癌治疗和预后的潜在靶点。以上研究也证明,外泌体circRNA可通过干预免疫细胞的活化及免疫检查点的表达来调节免疫应答,靶向外泌体circRNA有潜力成为提高免疫疗法敏感性的有效方法。

### 2.4 外泌体circRNA对肿瘤耐药性的影响

据报道,外泌体circRNA可以介导细胞间信号转导,并可能促进药物敏感细胞到耐药细胞的改变<sup>[33]</sup>。Wang等<sup>[33]</sup>报道,来自奥沙利铂耐药细胞的外泌体可以跨细胞转移ciRS-122,提高敏感细胞中ciRS-122和M2型丙酮酸激酶的表达水平,增强结直肠癌细胞的糖酵解和奥沙利铂耐药性。Zhou等<sup>[34]</sup>研究发现,肿瘤相关成纤维细胞衍生的外泌体可将circZFR递送到肝癌细胞,并抑制STAT3/NF- $\kappa$ B途径,增强肝癌细胞的顺铂耐药性。Geng等<sup>[35]</sup>报道,外泌体介导的circWDR62递送可以通过靶向体外和体内胶质瘤中的miR-370-3p/MGMT轴来促进胶质瘤替莫唑胺耐药和恶性进展。此外,Gu等<sup>[36]</sup>研究发现,在苦参碱治疗过程中,外泌体circSLC7A6表达明显减少,苦参碱通过阻断肿瘤相关成纤维细胞的外泌体circSLC7A6释放来抑制结直肠癌发生,提示外泌体circRNA可能会影响抗癌药物发挥的抗癌作用。综上所述,外泌体可以递送circRNA以促进或抑制癌症发展(表1),具

表1 不同细胞来源外泌体circRNA在肿瘤微环境中的作用

| 外泌体circRNA       | 外泌体来源        | 受体细胞   | 靶标或通路                          | 对肿瘤/肿瘤微环境的作用       | 参考文献 |
|------------------|--------------|--------|--------------------------------|--------------------|------|
| Hsa_circ_0014235 | 肺癌细胞         | 肺癌细胞   | 抑制miR-520a-5p, 上调细胞周期蛋白依赖激酶4   | 促进肿瘤细胞增殖           | [19] |
| Circ-DB          | 脂肪细胞         | 肝癌细胞   | 竞争性抑制miR-34a, 上调细胞周期蛋白A2       | 促进肿瘤细胞增殖           | [20] |
| Circ-0051443     | 正常肝细胞        | 肝癌细胞   | 竞争性抑制miR-331-3p, 上调凋亡因子BAK1    | 促进癌细胞凋亡并抑制其增殖      | [21] |
| Circ-CCAC1       | 胆管癌细胞        | 内皮细胞   | 降低细胞间连接蛋白ZO-1表达                | 诱导肿瘤血管生成和肿瘤转移      | [22] |
| Circ-IARS        | 胰腺癌细胞        | 内皮细胞   | 上调RhoA活性和F-肌动蛋白表达, 降低ZO-1表达    | 诱导肿瘤血管生成和肿瘤转移      | [23] |
| CircRNA-100338   | 肝癌细胞         | 内皮细胞   | 降低HUEVC细胞中血管内皮钙黏蛋白和ZO-1表达      | 诱导肿瘤血管生成和肿瘤转移      | [24] |
| Circ-MMP2        | 高转移性肝癌细胞     | 肝癌细胞   | 竞争性抑制miR-136-5p, 上调基质金属蛋白酶-2表达 | 降解黏附成分, 促进EMT和肿瘤转移 | [26] |
| CircFARSA        | 肺癌细胞         | 巨噬细胞   | 激活PTEN/PI3K/AKT途径              | 促进EMT和肿瘤转移         | [27] |
| Circ_0020256     | 肿瘤相关巨噬细胞     | 胆管癌细胞  | 竞争性抑制miR-432-5p, 上调E2F3        | 促进EMT和肿瘤转移         | [28] |
| CircEIF3K        | 肿瘤相关成纤维细胞    | 结直肠癌细胞 | 竞争性抑制miR-214, 上调PD-L1          | 诱导免疫逃逸             | [30] |
| CircUHRF1        | 肝癌细胞         | NK细胞   | 竞争性抑制miR-449c-5p, 诱导NK细胞衰竭     | 诱导免疫逃逸             | [31] |
| CircTRPS1        | 膀胱癌细胞        | T细胞    | 竞争性抑制miR-141-3p/GLS1, 诱导T细胞衰竭  | 诱导免疫逃逸             | [32] |
| CiRS-122         | 奥沙利铂耐药结直肠癌细胞 | 结直肠癌细胞 | 上调M2型丙酮酸激酶的表达                  | 介导对奥沙利铂的敏感性        | [33] |
| CircZFR          | 肿瘤相关成纤维细胞    | 肝癌细胞   | 抑制STAT3/NF-κB途径                | 介导对顺铂的敏感性          | [34] |
| CircWDR62        | 替莫唑胺耐药胶质瘤细胞  | 胶质瘤细胞  | 竞争性抑制miR-370-3p, 上调MGMT        | 介导对替莫唑胺的敏感性        | [35] |
| CircSLC7A6       | 肿瘤相关成纤维细胞    | 结直肠癌细胞 | 下调下游靶标趋化因子受体表达                 | 介导苦参碱治疗效果          | [36] |

有作为预测化疗反应和治疗效果的监测标志物的潜力。

3 外泌体circRNA在肿瘤中的临床应用

3.1 作为新型肿瘤生物标志物

研究表明, 外泌体circRNA符合作为肿瘤标志物的基本特征, 具有诊断、监测癌症进展的临床潜力, 其具体特征如下。(1)敏感性。血清外泌体内circRNA含量较线性RNA更丰富, 更易被特异性检测到<sup>[37]</sup>。相关研究表明, 人血清外泌体中至少存在1 000种不同的circRNAs, 外泌体circRNA的表达丰度及剪接率较细胞内水平至少增高了2倍和6倍, 经血清外泌体circRNA检测可以有效分辨健康和癌症患者<sup>[18,38]</sup>。(2)特异性。血清外泌体内circRNA的量随组织及生长阶段的不同而变化, 具有组织和时间特异性<sup>[39]</sup>。(3)稳定性。CircRNA呈首尾相接的闭合环状结构, 不受核酸酶影响, 能

广泛且稳定地存在于外泌体<sup>[40-42]</sup>。(4)保守性。在不同物种的进化历程中, circRNA一直保持高度保守的特性<sup>[43]</sup>。如人类和小鼠circRNA的总体同源性水平可高达20%, 人类和小鼠circ-Foxo3约有91%同源序列<sup>[44]</sup>。(5)可重复性。CircRNA富集于外泌体中, 外泌体可广泛且稳定地存在于尿液、唾液、胸腔积液等人体体液中<sup>[45]</sup>。可根据癌症类型选择不同部位的体液进行外泌体检测, 无创取材, 简单方便。(6)临床效用。已经有多项研究证实circRNA可作为肿瘤的敏感标志物, 具有极高诊断价值。如Pan等<sup>[46]</sup>在结直肠癌患者血清中发现, 外泌体has-0004771水平显著升高, 其诊断价值显著。同样的, Xie等<sup>[47]</sup>通过对结直肠癌患者的血清进行RNA测序分析, 发现外泌体circ-PNN(hsa\_circ\_0101802)表达量明显增多, 在结直肠癌的诊断中具有显著价值, 准确性可高达0.826(95%CI=0.745~0.890, 敏感性=89.7%, 特异性=69.0%)。

Lyu等<sup>[48]</sup>发现, 外泌体circ\_0070396在肝细胞癌患者血浆中显著上调, 且在区分HCC患者与健康供体方面比 $\alpha$ 胎蛋白更好。综上所述, 可根据癌症类型选择不同部位的体液进行外泌体检测, 无创取材, 简单方便。外泌体circRNA是一个很有前景的“液体活检”生物标志物, 在癌症患者的管理中具有巨大的潜力, 可用作癌症诊断和进展、预后评估的标志物。

### 3.2 作为潜在靶向治疗利器

相较于纳米聚合物、慢病毒等载体, 外泌体装载递送circRNA可以降低免疫原性和非靶向细胞毒性, 并具有更强的靶向释放性<sup>[49]</sup>。其优势在于: (1)与正常组织相比, 外泌体在新生血管异常丰富的肿瘤组织及酸性微环境中积聚更多<sup>[50]</sup>; (2)外泌体的纳米尺寸和柔韧性使其容易穿过血脑屏障, 将circRNA定向输送到脑组织<sup>[51]</sup>; (3)外泌体可借助自身跨膜与锚定蛋白加强内吞效用, 进一步增强特异性, 实现精确靶向给药<sup>[52,53]</sup>; (4)部分外泌体含有表面膜蛋白如CD47, 能与巨噬细胞表面SIRP $\alpha$ 结合(释放“不能杀我”信息), 减少吞噬细胞的清除作用<sup>[54]</sup>。目前, 关于外泌体装载递送circRNA的研究已经取得了重要进展。如Yang等<sup>[55]</sup>研究发现, circSCMH1在急性缺血性卒中患者血浆中的水平显著降低, 通过体外构建狂犬病毒糖蛋白-circSCMH1-细胞外囊泡, 可有效地将外泌体circSCMH1输送到大脑中, 促进啮齿动物和非人灵长类动物缺血性中风模型的功能恢复。Yu等<sup>[53]</sup>研究发现, circDYM可通过与转录因子TAF1结合抑制下游靶基因表达, 从而抑制小胶质细胞活化、神经炎症反应来减轻抑郁样行为。通过构建靶向中枢神经系统的含circDYM的细胞外囊泡, 将外泌体circDYM输送到大脑, 可以有效减轻慢性应激导致的抑郁样行为障碍, 成功将外泌体circRNA开发为靶向药物。这些例子表明细胞外囊泡(尤其是外泌体)介导的circRNA传递对于缺血性脑卒中及抑郁症治疗有效, 有助于提高circRNA靶向治疗的效率, 并有望用于临床应用。

## 4 总结与展望

近年来, circRNA以高表达、高稳定性和高特异性的特点, 逐渐成为RNA领域最突出的靶点之

一。外泌体中的circRNA更是集合了外泌体和circRNA的双重优势, 为肿瘤早期无创检测提供了良好的应用前景。本文总结了目前外泌体circRNA调控微环境的机制及其在临床治疗中的作用, 突出了外泌体circRNA集诊断、治疗、预后靶点于一身的潜力。外泌体circRNA可能是细胞之间、细胞与微环境之间的重要沟通桥梁及潜在的“液体活检”生物标志物。然而, 目前外泌体circRNA研究更多注重于对其表达量和功能的验证, 对于外泌体circRNA临床转化研究尚少, 我们未来需要更大规模的多中心临床试验, 来验证其作为诊断和治疗靶点的优越性。此外, 外泌体的分离与纯化等相关技术有限, 不足以应对大规模临床应用, 我们仍需要探索更高效的外泌体提纯和鉴定技术<sup>[56]</sup>。而目前外泌体circRNA发展所面临的困境, 也是外泌体和circRNA研究领域的热点, 值得更进一步研究, 这也将有助于未来外泌体circRNA在临床上有更广阔的运用, 为更多患者带来福音。

## 参考文献

- [1] Roma-Rodrigues C, Mendes R, Baptista P, et al. Targeting tumor microenvironment for cancer therapy. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(4): 840
- [2] Xu Y, Kong S, Qin S, et al. Exosomal circRNAs: sorting mechanisms, roles and clinical applications in tumors. *Front Cell Dev Biol*, 2020, 8: 581558
- [3] Chen C, Yu H, Han F, et al. Tumor-suppressive circRHOTB3 is excreted out of cells via exosome to sustain colorectal cancer cell fitness. *Mol Cancer*, 2022, 21(1): 46
- [4] Li P, Xu Z, Liu T, et al. Circular RNA sequencing reveals serum exosome circular RNA panel for high-grade astrocytoma diagnosis. *Clin Chem*, 2022, 68(2): 332-343
- [5] Li J, Gao N, Gao Z, et al. The emerging role of exosomes in cancer chemoresistance. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 737962
- [6] Wang Y, Liu J, Ma J, et al. Exosomal circRNAs: biogenesis, effect and application in human diseases. *Mol Cancer*, 2019, 18(1): 116
- [7] Tian T, Zhu YL, Hu FH, et al. Dynamics of exosome internalization and trafficking. *J Cell Physiol*, 2013, 228(7): 1487-1495
- [8] Jeck WR, Sorrentino JA, Wang K, et al. Circular RNAs are abundant, conserved, and associated with ALU repeats. *RNA*, 2013, 19(2): 141-157

- [9] Li X, Yang L, Chen LL. The biogenesis, functions, and challenges of circular RNAs. *Mol Cell*, 2018, 71(3): 428-442
- [10] Zhang XO, Wang HB, Zhang Y, et al. Complementary sequence-mediated exon circularization. *Cell*, 2014, 159(1): 134-147
- [11] Zhang Y, Zhang XO, Chen T, et al. Circular intronic long noncoding RNAs. *Mol Cell*, 2013, 51(6): 792-806
- [12] Li Z, Huang C, Bao C, et al. Exon-intron circular RNAs regulate transcription in the nucleus. *Nat Struct Mol Biol*, 2015, 22(3): 256-264
- [13] Rong D, Sun H, Li Z, et al. An emerging function of circRNA-miRNAs-mRNA axis in human diseases. *Oncotarget*, 2017, 8(42): 73271-73281
- [14] Ye Y, Zhao L, Li Q, et al. Circ\_0007385 served as competing endogenous RNA for miR-519d-3p to suppress malignant behaviors and cisplatin resistance of non-small cell lung cancer cells. *Thorac Cancer*, 2020, 11(8): 2196-2208
- [15] Wang Y, Wu Y, Xie S. CircPTK2 inhibits cell cisplatin (CDDP) resistance by targeting miR-942/TRIM16 axis in non-small cell lung cancer (NSCLC). *Bioengineered*, 2022, 13(2): 3651-3664
- [16] Xu Y, Jiang T, Wu C, et al. CircAKT3 inhibits glycolysis balance in lung cancer cells by regulating miR-516b-5p/STAT3 to inhibit cisplatin sensitivity. *Biotechnol Lett*, 2020, 42(7): 1123-1135
- [17] Su H, Zou D, Sun Y, et al. Hypoxia-associated circDENND2A promotes glioma aggressiveness by sponging miR-625-5p. *Cell Mol Biol Lett*, 2019, 24: 24
- [18] Bao C, Lyu D, Huang S. Circular RNA expands its territory. *Mol Cell Oncol*, 2015, 3(2): e1084443
- [19] Xu X, Tao R, Sun L, et al. Exosome-transferred hsa\_circ\_0014235 promotes DDP chemoresistance and deteriorates the development of non-small cell lung cancer by mediating the miR-520a-5p/CDK4 pathway. *Cancer Cell Int*, 2020, 20(1): 552
- [20] Zhang H, Deng T, Ge S, et al. Exosome circRNA secreted from adipocytes promotes the growth of hepatocellular carcinoma by targeting deubiquitination-related USP7. *Oncogene*, 2019, 38(15): 2844-2859
- [21] Chen W, Quan Y, Fan S, et al. Exosome-transmitted circular RNA hsa\_circ\_0051443 suppresses hepatocellular carcinoma progression. *Cancer Lett*, 2020, 475: 119-128
- [22] Xu Y, Leng K, Yao Y, et al. A Circular RNA, Cholangiocarcinoma-associated circular RNA 1, contributes to cholangiocarcinoma progression, induces angiogenesis, and disrupts vascular endothelial barriers. *Hepatology*, 2021, 73(4): 1419-1435
- [23] Li J, Li Z, Jiang P, et al. Circular RNA IARS (circ-IARS) secreted by pancreatic cancer cells and located within exosomes regulates endothelial monolayer permeability to promote tumor metastasis. *J Exp Clin Cancer Res*, 2018, 37(1): 177
- [24] Huang XY, Huang ZL, Huang J, et al. Exosomal circRNA-100338 promotes hepatocellular carcinoma metastasis via enhancing invasiveness and angiogenesis. *J Exp Clin Cancer Res*, 2020, 39(1): 20
- [25] Amicone L, Marchetti A, Cicchini C. Exosome-associated circRNAs as key regulators of EMT in cancer. *Cells*, 2022, 11(10): 1716
- [26] Liu D, Kang H, Gao M, et al. Exosome-transmitted circ\_MMP2 promotes hepatocellular carcinoma metastasis by upregulating MMP2. *Mol Oncol*, 2020, 14(6): 1365-1380
- [27] Chen T, Liu Y, Li C, et al. Tumor-derived exosomal circFARSA mediates M2 macrophage polarization via the PTEN/PI3K/AKT pathway to promote non-small cell lung cancer metastasis. *Cancer Treatment Res Commun*, 2021, 28: 100412
- [28] Chen S, Chen Z, Li Z, et al. Tumor-associated macrophages promote cholangiocarcinoma progression via exosomal circ\_0020256. *Cell Death Dis*, 2022, 13(1): 94
- [29] Tuo B, Chen Z, Dang Q, et al. Roles of exosomal circRNAs in tumour immunity and cancer progression. *Cell Death Dis*, 2022, 13(6): 539
- [30] Yang K, Zhang J, Bao C. Exosomal circEIF3K from cancer-associated fibroblast promotes colorectal cancer (CRC) progression via miR-214/PD-L1 axis. *BMC Cancer*, 2021, 21(1): 933
- [31] Zhang PF, Gao C, Huang XY, et al. Cancer cell-derived exosomal circUHRF1 induces natural killer cell exhaustion and may cause resistance to anti-PD1 therapy in hepatocellular carcinoma. *Mol Cancer*, 2020, 19(1): 110
- [32] Yang C, Wu S, Mou Z, et al. Exosome-derived circTRPS1 promotes malignant phenotype and CD8<sup>+</sup> T cell exhaustion in bladder cancer microenvironments. *Mol Ther*, 2022, 30(3): 1054-1070
- [33] Wang X, Zhang H, Yang H, et al. Exosome-delivered circRNA promotes glycolysis to induce chemoresistance through the miR-122-PKM2 axis in colorectal cancer. *Mol Oncol*, 2020, 14(3): 539-555
- [34] Zhou Y, Tang W, Zhuo H, et al. Cancer-associated fibroblast exosomes promote chemoresistance to cisplatin in hepatocellular carcinoma through circZFR targeting signal transducers and activators of transcription (STAT3)/nuclear factor-kappa B (NF-κB) pathway. *Bioengineered*, 2022, 13(3): 4786-4797
- [35] Geng X, Zhang Y, Lin X, et al. Exosomal circWDR62 promotes temozolomide resistance and malignant progres-

- sion through regulation of the miR-370-3p/MGMT axis in glioma. *Cell Death Dis*, 2022, 13(7): 596
- [36] Gu C, Lu H, Qian Z. Matrine reduces the secretion of exosomal circSLC7A6 from cancer-associated fibroblast to inhibit tumorigenesis of colorectal cancer by regulating CXCR5. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, 527(3): 638-645
- [37] Wu Z, Yu X, Zhang S, et al. Mechanism underlying circRNA dysregulation in the TME of digestive system cancer. *Front Immunol*, 2022, 13: 951561
- [38] Li Y, Zheng Q, Bao C, et al. Circular RNA is enriched and stable in exosomes: a promising biomarker for cancer diagnosis. *Cell Res*, 2015, 25(8): 981-984
- [39] Memczak S, Jens M, Elefsinioti A, et al. Circular RNAs are a large class of animal RNAs with regulatory potency. *Nature*, 2013, 495(7441): 333-338
- [40] Patop IL, Wüst S, Kadener S. Past, present, and future of circRNAs. *EMBO J*, 2019, 38(16): e100836
- [41] Jeck WR, Sharpless NE. Detecting and characterizing circular RNAs. *Nat Biotechnol*, 2014, 32(5): 453-461
- [42] Knupp D and Miura P. CircRNA accumulation: a new hallmark of aging? *Mech Ageing Dev*, 2018, 173: 71-79
- [43] Du WW, Yang W, Liu E, et al. Foxo3 circular RNA retards cell cycle progression via forming ternary complexes with p21 and CDK2. *Nucleic Acids Res*, 2016, 44(6): 2846-2858
- [44] Guo JU, Agarwal V, Guo H, et al. Expanded identification and characterization of mammalian circular RNAs. *Genome Biol*, 2014, 15(7): 409
- [45] Motamedinia P, Scott AN, Bate KL, et al. Urine exosomes for non-invasive assessment of gene expression and mutations of prostate cancer. *PLoS One*, 2016, 11(5): e0154507
- [46] Pan B, Qin J, Liu X, et al. Identification of serum exosomal hsa-circ-0004771 as a novel diagnostic biomarker of colorectal cancer. *Front Genet*, 2019, 10: 1096
- [47] Xie Y, Li J, Li P, et al. RNA-seq profiling of serum exosomal circular RNAs reveals circ-PNN as a potential biomarker for human colorectal cancer. *Front Oncol*, 2020, 10: 982
- [48] Lyu L, Yang W, Yao J, et al. The diagnostic value of plasma exosomal hsa\_circ\_0070396 for hepatocellular carcinoma. *Biomark Med*, 2021, 15(5): 359-371
- [49] Srivastava A, Amreddy N, Razaq M, et al. Exosomes as theranostics for lung cancer. *Adv Cancer Res*, 2018, 139: 1-33
- [50] Ban JJ, Lee M, Im W, et al. Low pH increases the yield of exosome isolation. *Biochem Biophys Res Commun*, 2015, 461(1): 76-79
- [51] Yang T, Martin P, Fogarty B, et al. Exosome delivered anticancer drugs across the blood-brain barrier for brain cancer therapy in danio rerio. *Pharm Res*, 2015, 32(6): 2003-2014
- [52] Kamekar S, Lebleu VS, Sugimoto H, et al. Exosomes facilitate therapeutic targeting of oncogenic KRAS in pancreatic cancer. *Nature*, 2017, 546(7659): 498-503
- [53] Yu X, Bai Y, Han B, et al. Extracellular vesicle-mediated delivery of circDYM alleviates CUS-induced depressive-like behaviours. *J Extracell Vesicle*, 2022, 11(1): e12185
- [54] Pan S, Zhang Y, Huang M, et al. Urinary exosomes-based engineered nanovectors for homologously targeted chemo-chemodynamic prostate cancer therapy via abrogating EGFR/AKT/NF- $\kappa$ B/I $\kappa$ B signaling. *Biomaterials*, 2021, 275: 120946
- [55] Yang L, Han B, Zhang Z, et al. Extracellular Vesicle-mediated delivery of circular RNA SCMH1 promotes functional recovery in rodent and nonhuman primate ischemic stroke models. *Circulation*, 2020, 142(6): 556-574
- [56] Doyle L, Wang M. Overview of extracellular vesicles, their origin, composition, purpose, and methods for exosome isolation and analysis. *Cells*, 2019, 8(7): 727