

环状 RNA 在眼部疾病中的研究进展

邹丽荣, 王欣玲

引用: 邹丽荣, 王欣玲. 环状 RNA 在眼部疾病中的研究进展. 国际眼科杂志 2022;22(2):215-219

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (No.81570838)

作者单位: (110000) 中国辽宁省沈阳市, 中国医科大学附属第四医院眼科 中国医科大学眼科医院 辽宁省晶体重点实验室

作者简介: 邹丽荣, 中国医科大学在读硕士研究生, 研究方向: 神经眼科。

通讯作者: 王欣玲, 博士, 教授, 主任医师, 博士研究生导师, 研究方向: 神经眼科. wxinling@126.com

收稿日期: 2021-06-20 修回日期: 2021-12-22

摘要

环状 RNA (circRNA) 是由反向剪接过程产生的单链共价封闭的 RNA 分子, 是进化保守且稳定的转录物, 广泛存在于各种真核细胞中。与线性转录物相比, circRNA 缺乏 5' 末端帽子和 3' 末端尾巴, 该结构赋予其更高的稳定性和保守性。circRNA 广泛调控细胞分化、增殖、血管生成与凋亡等多种生物活性过程, 已被证明是各种疾病, 尤其是癌症、神经退行性疾病与心血管疾病的关键调节因子。最近, 随着 RNA 高通量测序技术的快速发展, 越来越多的证据表明 circRNA 在眼部组织中表达有明显差异, 与白内障、青光眼、视网膜病变以及眼部肿瘤和免疫性相关眼病等多种眼科疾病的发生、发展和转归密切相关。本文就近几年 circRNA 与眼部疾病关系的研究作简要概述, 旨在为眼部疾病的临床诊疗和预后提供参考。

关键词: 非编码 RNA; 环状 RNA; 眼部疾病

DOI: 10.3980/j.issn.1672-5123.2022.2.08

Research progress on the role of circular RNA in eye diseases

Li-Rong Zou, Xin-Ling Wang

Foundation item: National Natural Science Foundation of China (No. 81570838)

Department of Ophthalmology, the Fourth Affiliated Hospital of China Medical University; Eye Hospital of China Medical University; Key Laboratory of Lens Research of Liaoning Province, Shenyang 110000, Liaoning Province, China

Correspondence to: Xin - Ling Wang. Department of Ophthalmology, the Fourth Affiliated Hospital of China Medical University; Eye Hospital of China Medical University; Key Laboratory of Lens Research of Liaoning Province, Shenyang 110000, Liaoning Province, China. wxinling@126.com

Received: 2021-06-20 Accepted: 2021-12-22

Abstract

• Circular RNA (circRNA) is a single-stranded covalently closed RNA molecule produced by reverse splicing, which is an evolutionarily conserved and stable transcript, and widely exists in various eukaryotic cells. CircRNA is more stable and conserved than linear transcripts because of the absence of 5' cap and 3' polyadenylation tail in circRNA. A variety of bioactive processes are regulated by circRNA, such as cell differentiation, proliferation, angiogenesis and cell apoptosis. CircRNAs were shown to be key regulators of various diseases, especially cancers, neurodegenerative and cardiovascular. Recently, with the rapid development of RNA high-throughput sequencing technology, accumulating evidence shows that there are multiple differentially expressed circRNAs in ocular tissues and they play important roles in initiation, progression, and prognosis of diverse ocular diseases, such as glaucoma, cataract, retinopathy, ocular tumors and ocular immunologic diseases. In this article, the research on the relationship between circRNA and ophthalmic diseases in the recent years is briefly reviewed, and the purpose is to provide reference for its clinical treatment and prognosis.

• KEYWORDS: non - coding RNA; circular RNA; ophthalmic disease

Citation: Zou LR, Wang XL. Research progress on the role of circular RNA in eye diseases. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2022; 22(2):215-219

0 引言

长久以来, 非编码 RNA (non-coding RNA, ncRNA) 一直在基因组学上扮演着“垃圾冗余”的角色, 直到 2001 年人类基因组测序技术的出现, 人们发现, 基因组中只有 2% 基因编码蛋白质, 其余则只转录成 RNA, 不再继续翻译成蛋白质。有趣的是, 在较低等的生物中编码蛋白的基因比例很高, ncRNA 比例较低; 高等生物则相反, 如人类基因组中 ncRNA 比例高达 98%, 证实了进化的水平和 ncRNA 息息相关, 进一步的研究揭示了 ncRNA 在转录和转录后水平调控基因表达方面的重要功能。环状 RNA (circular RNA, circRNA) 是一类具有共价闭环结构的 ncRNA, 主要类型包括外显子 circRNA、内含子 circRNA、外显子-内含子 circRNA, 其中外显子 circRNA 是由 mRNA 前体 (pre-mRNA) 通过反向剪接进行处理, 以 3' -5' 磷酸二酯键的方式形成环状结构, 无 5' 的帽子结构和 3' 的多聚腺苷酸尾结构。与同源线性 RNA 相比, circRNA 不易被核酸外切酶 (Ribonuclease R, RNase R) 分解, 具有更稳定的功能与性质, 在疾病病理方面有巨大潜在的作用。目前研究中最经典的功能是充当微小 RNA (microRNA,

miRNA)海绵,其次还有翻译蛋白质、与RNA结合蛋白结合和调控表观遗传学等。circRNA在眼科领域^[1]展现了其独有的特性,半衰期长且丰度高,多在细胞质及外泌体中富集,且具有进化保守性,为其稳定发挥生物学功能奠定基础。本文就近年来circRNA在眼部疾病中的研究进展进行综述。

1 circRNA与糖尿病视网膜病变

研究表明,至2030年,糖尿病可能成为人类的第七位主要死因^[2]。糖尿病视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)是糖尿病的一种微血管并发症,会导致视力丧失甚至失明。研究人员通过对DR患者和对照受试者的血液^[3]及玻璃体液^[4]等体液样本进行表达谱测序分析,鉴定差异基因后寻找与miRNA的相互作用关系,构建基于候选circRNA的circRNA-miRNA-mRNA网络从而验证了circRNA有望成为DR的新型诊断标志物和治疗靶标。基膜的增厚、周细胞的丢失、内皮细胞的增生、微血管瘤及新生血管的形成是DR主要的病理改变。越来越多的DR相关研究表明,circRNA参与周细胞和内皮细胞(endothelial cell, ECs)的调节。Jiang等^[5]研究发现,circRNA-ZNF532调节糖尿病诱导的视网膜周细胞变性和血管功能障碍。Wei等^[6]发现在高糖诱导的ECs凋亡中circVEGFC上调,通过circVEGFC/miR-338-3p/HIF-1 α /VEGFA轴发挥促进作用,为糖尿病的ECs损伤提供潜在的治疗策略。

众所周知,视网膜血管细胞主要包括周细胞和ECs,二者的正常串扰对视网膜脉管系统的发育和稳态起着至关重要的作用,而异常串扰则可导致血管渗漏和新生血管形成等严重病变。Liu等^[7]揭示了糖尿病微血管异常的机制,主要涉及周细胞上cPWWP2A、miR-579和angiopoietin1/occludin/SIRT1的相互调控。体外研究表明,cPWWP2A通过直接作用调控周细胞生物活性,而通过携带cPWWP2A外泌体的间接作用调控ECs生物活性。在此基础上研究者进一步^[8]构建了低氧周细胞与高糖诱导下ECs的共培养模型,探讨周细胞和ECs的串扰作用对视视网膜血管的影响,circEhmt1在周细胞中被上调,随后通过外泌体从周细胞转移到ECs,circEhmt1介导的NFIA/NLRP3途径在周细胞外泌体中激活HIF信号通路可能是影响皮内血管生成的周细胞-ECs串扰的关键机制,为DR的发病机制及治疗提供了新的见解。

2 circRNA与青光眼

青光眼(glaucoma)是一组与眼压相关的、视神经进行性萎缩和视网膜神经节细胞(retinal ganglion cell, RGCs)丧失为标志的一组病理性疾病,是世界范围内引起视力丧失和不可逆性失明的主要原因。对于青光眼的发病机制以及治疗方法一直处于探索过程中。circRNA已被证明与诸多神经退行性疾病有关^[9],如帕金森病^[10]、肌萎缩性侧索硬化^[11]、阿尔兹海默症^[12]等。青光眼被认为是视网膜的神经退行性疾病,故circRNA与青光眼之间的关系一直处于热点状态。Wang等^[13]通过微珠注射法制作大鼠青光眼模型,评估了cZNRANB1在体内和体外的表达情况,以及与RGCs和视网膜反应性胶质细胞(如Müller细胞等)的相互作用关系。研究发现,cZNRANB1可在体外直接促进Müller细胞的活力而间接调控RGCs细胞的功能,在体内促进Müller细胞的增生及激活。同时发现,通过激活cZNRANB1/miR-217/RUNX2通路来调节Müller细胞的功能进而影响RGCs。原发性开角型青光眼(primary open

angle glaucoma, POAG)是最常见的青光眼类型,Shen等^[14]筛选了在氧化应激条件下人小梁网细胞(human trabecular meshwork cells, HTMCs)中差异表达的circRNA(命名为circHBEGF),circHBEGF在调节HTMCs中的miR-646/EGFR信号传导及对促进细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的产生起到了关键作用。这一发现使我们对POAG的发病机制有了进一步理解,候选circRNA及其下游信号可作为治疗POAG患者的新靶标。

3 circRNA与白内障

白内障(cataract)以晶状体混浊为特征,是世界范围内首位致盲性眼病。年龄相关性白内障(age-related cataract, ARC)是白内障最常见的类型,但ARC的确切病因及发病机制尚不清晰。紫外线B(UVB)辐射^[15]诱导的晶状体上皮细胞(lens epithelial cells, LECs)的DNA双链断裂被认为是ARC形成的重要原因之一。人毛细血管扩张性共济失调突变基因(ATM)在多个研究中^[16-17]被证明其与衰老的关系,ATM的过度激活广泛地促进了多种年龄相关疾病的发生。Liu等^[18]研究表明circMRE11A作为UBXN1的支架,通过ATM/p53/p21信号通路从而诱导ATM过度激活,促进LECs衰老。此研究还构建了circMRE11A-AAV2,并注射至癌症研究所(Institute of Cancer Research, ICR)小鼠玻璃体腔内,进一步证明circMRE11A-AAV2可进入ICR小鼠晶状体的LECs并表达,以此来更好的理解ARC的病理,进一步寻找新的、更有效的治疗靶点。手术治疗是目前为止白内障最主要的治疗方式,而后囊膜混浊(posterior capsular opacification, PCO)是白内障术后视力障碍的主要并发症,上皮-间充质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)是PCO的主要特征,TGF- β 2能显著诱导EMT过程,建立体外PCO模型^[19]。Liu等^[20]使用TGF- β 2刺激人晶状体上皮细胞系(SAR01/04)细胞,建立PCO细胞模型,Circ-CARD6在PCO组织中上调,且可海绵化miR-31调节TGF- β 2处理的SRA01/04细胞中FGF7的表达。Circ-CARD6基因敲低可抑制细胞增殖、转移和EMT过程,而anti-miR-31可逆转这一过程,此研究为circ-CARD6有助于PCO的分子靶向治疗提供有力证据。目前为止,已有诸多研究证实circRNA为预防和治疗ARC提供潜在靶点,但circRNA在ARC中的表达谱、调控作用和潜在机制等方面,很大程度上仍然未知。

4 circRNA与年龄相关性黄斑变性

年龄相关性黄斑变性(age-related macular degeneration, ARMD)是全球老年人失明的主要原因,该疾病主要影响视网膜色素上皮(retinal pigment epithelium, RPE)和脉络膜毛细血管。ARMD分为两种类型:萎缩性ARMD和渗出性ARMD。萎缩性ARMD的特征为RPE、脉络膜毛细血管和光感受器的萎缩。RPE分泌多种对视视网膜和脉络膜起着关键作用的生长因子和细胞因子^[21],并维持光感受器的存活与功能,因此RPE的正常功能是ARMD的核心驱动因素。研究发现circNR3C1在体内和体外均能保护正常的RPE功能并阻止ARMD的进展,circNR3C1通过充当miR-382-5p海绵和PTEN/AKT/mTOR信号通路调节剂来预防ARMD,成为萎缩性ARMD有希望的治疗选择^[22]。渗出性ARMD的特征为脉络膜新生血管(choroidal neovascularization, CNV)的形成,导致中心视力迅速恶化。血管ECs的活化产生多种血管生成相

关因子,通过布鲁赫膜(Bruch膜)和RPE层迁移和增殖,最终导致CNV的形成。Liu等^[23]证实CNV小鼠和对照组小鼠的circRNA存在显著差异,表明circRNA在CNV的发病机制中起着至关重要的作用。Zhou等^[24]又进一步揭示了cZBTB44的沉默抑制CNV的发展并抑制ECs的增殖迁移和管形成,cZBTB44作为内源性海绵通过结合miR-578并抑制其活性,导致血管内皮生长因子A(VEGFA)和血管细胞黏附分子-1(VCAM-1)表达增加,为了解CNV的发病机制提供了新的见解。衰老是该病重要的危险因素,circRNA的高稳定性导致其在衰老和年龄相关疾病方面也有较深的研究^[25],为circRNA是诊断和治疗ARMD的潜在靶标提供了有力的证据。

5 circRNA与眼部肿瘤

circRNA在全身肿瘤方面的研究一直是热点状态^[26],多项研究证明其可调节和控制人类肿瘤的发生发展。针对circRNA在眼部肿瘤的近期研究,总结如下。

5.1 视网膜母细胞瘤

视网膜母细胞瘤(retinoblastoma, RB)是一种最常见的小儿恶性肿瘤,占有儿童期恶性肿瘤的3%。多项研究表明,circRNAs在RB的发育中起着重要的作用。Lyu等^[27]首次报道人RB组织中circRNA表达谱,发现差异表达的circRNA宿主基因主要参与染色质修饰,这是一种可以通过诱导表观遗传学、转录组学和表型改变从而促进肿瘤发生的生物学过程。TET1-has_circ_0093996和程序性细胞死亡因子4(PDCD4)在RB组织中显著下调,综合数据和生物信息学分析TET1-has_circ_0093996的下调可能增加未结合的miR-183,从而降低PDCD4的表达,构建了一个完整的假定调节轴即TET1-has_circ_0093996-miR-183-PDCD4轴,为染色质修饰和RB发病机制提供了一个独特视角。但该研究中的假定调节轴仍需进一步验证。Wang等^[28]发现,与对照组相比,RB组织和细胞表现出更高水平的circDHDDS,circDHDDS的沉默抑制了细胞生长、迁移和侵袭,促进了RB细胞中G0/G1的细胞周期停滞。该研究进一步认为circDHDDS可能通过circDHDDS/miR-361-3p/WNT3A轴对RB的发生发展进行调控。S相激酶相关蛋白-2(SKIP2)在诸多癌症中作为致癌基因已被揭露^[29],Du等^[30]研究了SKIP2蛋白在RB中的分子机制,通过生物信息学预测及证明,circ_ODC1和miR-422a诱导的SKIP2促进RB增殖,此发现为RB提供新的预后标志物和治疗靶标。目前,RB的临床诊断仍需要侵入性操作,这可能会促进肿瘤细胞扩散。circRNA广泛且稳定的存在于外泌体、血液、泪液等体液中,且被证实可以参与RB发生中的染色质修饰,为染色质状态改变提供重要线索。有望成为更好地、无创地诊断RB和RB预后评估的方法。

5.2 葡萄膜黑色素瘤

葡萄膜黑色素瘤(uveal melanoma, UM)是一种成人最常见的原发性眼内肿瘤,起源于眼中黑色素细胞,是第二常见的黑色素类型。Liu等^[31]通过5个UM样本和5个正常葡萄膜组织样本进行微阵列分析,发现circRNA在二者间存在差异表达。进一步研究发现,一种新型circRNA(circ_0119872)在UM细胞系和组织中显著上调,circ_0119872的过表达可促进UM细胞恶性化,而沉默circ_0119872则可抑制UM细胞恶性化。在体外实验验证circ_0119872促进细胞增殖和加快血管生成,在体内实验验证其可促进肿瘤的生长,起到致癌基因的作用。与此同时,circ_0119872具有促进UM细胞转移的潜能,作

为miR622的分子海绵竞争性减弱对下游靶基因G3BP1的抑制作用,激活Wnt/ β -catenin和mTOR信号通路发挥作用。

5.3 结膜黑色素瘤

结膜黑色素瘤(conjunctival melanoma, CM)是一种罕见的威胁视力和生命的眼部恶性肿瘤,由结膜上皮基底层的非典型黑素细胞引起。Shang等^[32]通过RNA技术在CM组织和邻近的正常组织中鉴定出9300种不同的circRNA,其中circMTUS1在CM组织上调,并证实其在体内外分别促进CM异种移植瘤的生长和CM细胞增殖。circMTUS1通过与hsa-miR-622和hsa-miR-1208相互作用对某些与肿瘤密切相关的途径进行调节,从而可称之为一个致癌基因。

综上,circRNA在眼部肿瘤方面的探索正在增加,使致盲率和致死率都相当高的眼部肿瘤在临床无创诊断和肿瘤的转移播散等方面有了崭新的思路。为未来攻克眼部肿瘤这一难题提供有力依据。

6 circRNA与免疫性眼病

circRNA在免疫性相关疾病的研究^[33]越来越引起人们的关注。自身免疫性结膜炎是一类主要的免疫性眼病,主要包括Sjögren综合征(SS)、结膜类天疱疮、Stevens-Johnson综合征等疾病。Sjögren综合征在眼部表现为球结膜血管扩张、睑裂区结膜充血、角膜上皮缺损等。Su等^[34]通过微阵列分析,评估了原发性干燥综合征(primary Sjögren syndrome, pSS)患者中circRNA的表达,且证明hsa_circRNA_001264、hsa_circRNA_104121和hsa_circRNA_045355可能是pSS的生物标志物。Li等^[35]研究证实circ-IQGAP2和circ-ZC3H6作为非侵入性生物标志物在pSS诊断中具有潜在的作用,但在Sjögren综合征眼部标本如泪液等的circRNA研究还尚未足够完善,有待进一步研究。

干眼是最常见的眼病,全球发病率为5%~34%,较为严重的干眼主要发生在与自身免疫相关的干眼中。水通道蛋白5(AQP5)是一种位于细胞膜上的跨膜蛋白,在角膜上皮和泪腺中高表达,与眼部疾病密切相关。有研究将AQP5的水平视为基础研究中干眼的指标^[36],认为干眼的发生伴随AQP5的下降。Liu等^[37]发现水通道蛋白5敲除(AQP5^{-/-})小鼠从出生即伴随干眼症状,对其进行苏木精伊红染色确认小鼠泪腺的结构变化。从AQP5敲除小鼠和正常小鼠中获得泪腺,进行高通量测序,确定腺体中circRNA表达谱。进一步预测并验证了一个与吞噬体相关的circRNA-miRNA-mRNA调控网络,表明circRNA可以通过该调控网络的相互作用参与干眼发病机制相关的AQP5的表达进而为干眼的发生和预防提供新的理论基础。但值得注意的是,AQP5缺乏是否会导致干眼尚未得到证实。

葡萄膜炎(uveitis)是一种眼内炎症,可能由于感染或自身免疫等因素导致,是发病率较高的眼免疫性疾病。在以往的研究中葡萄膜炎与相关的circRNA的研究记录较少,而有较多研究论证了miRNA作为葡萄膜炎的生物学标志物^[38]。circRNA可作为miRNA海绵发挥作用且具有高度稳定和保守性的独特优势,值得研究者在葡萄膜炎相关的circRNA方面进行深入研究,有望提出对葡萄膜炎的发病机制和预防诊治突破性的见解。巨噬细胞广泛分布于全身血液和组织中,既是重要的非特异性免疫细胞,也是先天免疫的重要组成部分。circRNAs在巨噬细胞的发

育、激活和功能中起着重要的作用。在以往的研究中,巨噬细胞与眼部^[39]疾病的研究数量较多,但与 circRNA 联系起来的研究少之又少,可以分析 circRNA 与巨噬细胞及眼部疾病之间的关系,以进一步探讨相关免疫性眼病的发病机制。

7 circRNA 与其他眼部疾病

7.1 近视 近视是最常见的眼病,全球约有 19.5 亿人(占全球人口的 28.3%)患有近视,已成为全球公共卫生负担,但其发病机制仍不清晰。脉络膜血管功能障碍被认为是近视眼中严重威胁视力的并发症。Li 等^[40]发现近视眼患者脉络膜中 circFoxO1 的水平显著上调,脉络膜 ECs 的增殖、迁移和血管生成可被 circFoxO1 的沉默所抑制,并减轻体内和离体的脉络膜血管功能障碍。研究证明 circFoxO1 沉默可以减少细胞外基质重塑和眼轴伸长,从而抑制近视发生的进展,此研究为预防和管理近视提供了一种潜在策略。

7.2 翼状胬肉 翼状胬肉是一种常见的眼表纤维血管病变,结膜过度生长进入角膜会影响病例的视觉功能,其发生发展与肿瘤相似,Liu 等^[41]通过翼状胬肉与正常结膜组织相比,发现多个差异表达的 circRNA,其中 hsa_circ_0007482 和 hsa_circ_001730 等几个 circRNA 被认为参与了翼状胬肉的发育。成纤维细胞是翼状胬肉的重要组成部分,上皮细胞与翼状胬肉的侵袭性与复发性相关,Li 等^[42]发现 circ_0085020(circ-LAPTM4B)可调节翼状胬肉成纤维细胞的功能,及上皮细胞的活力、迁移和凋亡,可成为潜在的生物标记物。翼状胬肉是一种多因素疾病,circRNA 有望成为一种新型的眼表疾病标记物,需在未来研究中进一步阐明其相关机制。

7.3 甲状腺相关性眼病 甲状腺相关性眼病(thyroid associated ophthalmopathy, TAO)是由于多因素导致的、涉及上面部和眼部周围组织的自身免疫性疾病,是成人最常见的眼眶疾病之一。Wu 等^[43]收集了配对的 TAO 和对照患者的眼眶脂肪以及结缔组织样本,以确定 circRNA 在 TAO 发病机制中的作用。研究结果表明,circRNA_14936、circRNA_14940 和 circRNA_12367 可能参与 TAO 的发病,推断 circRNA_14940-CCND1-Wnt 这一重要的调控轴可能是 TAO 作用机制的信号通路。目前,circRNA 在甲状腺癌等研究较为成熟,但在 TAO 方面的研究有限,有待进一步深入探讨。

8 小结

circRNA 作为重要的基因表达调控因子,在 ncRNA 调控领域正冉冉升起,研究 circRNA 在许多眼病的生理和病理过程中发挥的关键作用,将有助于人们了解疾病的发病机制、诊断、预后与转归,并对眼部疾病的药物开发及临床治疗提供新策略。现已存在多个有关 circRNA 的数据库,为我们提供生物信息学,有助于对 circRNA 的进一步理解与研究,但是我们仍需将这些数据库结合分析,以达到研究的正确性和准确性。目前,眼部疾病中 circRNA 的研究仍处于起步阶段,待挖掘的潜力巨大,随着 RNA 技术的稳步发展,未来会有更多的研究阐明其生物学功能和机制,为指导临床诊疗提供新的靶标。

参考文献

1 Zhang C, Hu J, Yu Y. CircRNA Is a Rising Star in Researches of Ocular Diseases. *Front Cell Dev Biol* 2020;8:850
2 Roifman I, Ghugre N, Zia MI, et al. Diabetes is an independent

predictor of right ventricular dysfunction post ST-elevation myocardial infarction. *Cardiovasc Diabetol* 2016;15:34

3 Wu Z, Liu B, Ma Y, et al. Discovery and validation of hsa_circ_0001953 as a potential biomarker for proliferative diabetic retinopathy in human blood. *Acta Ophthalmol* 2021;99(3):306-313

4 He M, Wang W, Yu H, et al. Comparison of expression profiling of circular RNAs in vitreous humour between diabetic retinopathy and non-diabetes mellitus patients. *Acta Diabetol* 2020;57(4):479-489

5 Jiang Q, Liu C, Li CP, et al. Circular RNA - ZNF532 regulates diabetes-induced retinal pericyte degeneration and vascular dysfunction. *J Clin Invest* 2020;130(7):3833-3847

6 Wei H, Cao C, Wei X, et al. Circular RNA circVEGFC accelerates high glucose-induced vascular endothelial cells apoptosis through miR-338-3p/HIF-1 α /VEGFA axis. *Aging (Albany NY)* 2020;12(14):14365-14375

7 Liu C, Ge HM, Liu BH, et al. Targeting pericyte-endothelial cell crosstalk by circular RNA - cPWWP2A inhibition aggravates diabetes-induced microvascular dysfunction. *Proc Natl Acad Sci USA* 2019;116(15):7455-7464

8 Ye L, Guo H, Wang Y, et al. Exosomal circEhmt1 Released from Hypoxia - Pretreated Pericytes Regulates High Glucose - Induced Microvascular Dysfunction via the NFIA/NLRP3 Pathway. *Oxid Med Cell Longev* 2021;2021:8833098

9 D'Ambra E, Capauto D, Morlando M. Exploring the Regulatory Role of Circular RNAs in Neurodegenerative Disorders. *Int J Mol Sci* 2019;20(21):5477

10 Zhang M, Bian Z. The Emerging Role of Circular RNAs in Alzheimer's Disease and Parkinson's Disease. *Front Aging Neurosci* 2021;13:691512

11 Hosaka T, Yamashita T, Tamaoka A, et al. Extracellular RNAs as Biomarkers of Sporadic Amyotrophic Lateral Sclerosis and Other Neurodegenerative Diseases. *Int J Mol Sci* 2019;20(13):3148

12 Huang JL, Su M, Wu DP. Functional roles of circular RNAs in Alzheimer's disease. *Ageing Res Rev* 2020;60:101058

13 Wang JJ, Shan K, Liu BH, et al. Targeting circular RNA-ZRANB1 for therapeutic intervention in retinal neurodegeneration. *Cell Death Dis* 2018;9(5):540

14 Shen W, Wang C, Huang B. Oxidative Stress-Induced circHBEGF Promotes Extracellular Matrix Production via Regulating miR-646/EGFR in Human Trabecular Meshwork Cells. *Oxid Med Cell Longev* 2020;2020:4692034

15 Ivanov IV, Mappes T, Schaupp P, et al. Ultraviolet radiation oxidative stress affects eye health. *J Biophotonics* 2018;11(7):e201700377

16 Kang HT, Park JT, Choi K, et al. Chemical screening identifies ATM as a target for alleviating senescence. *Nat Chem Biol* 2017;13(6):616-623

17 Stagni V, Ferri A, Cirotti C, et al. ATM Kinase - Dependent Regulation of Autophagy: A Key Player in Senescence? *Front Cell Dev Biol* 2021;8:599048

18 Liu J, Zhang J, Zhang G, et al. CircMRE11A_013 binds to UBXN1 and integrates ATM activation enhancing lens epithelial cells senescence in age-related cataract. *Aging (Albany NY)* 2021;13(4):5383-5402

19 Sun Y, Xiong L, Wang X, et al. Autophagy inhibition attenuates TGF- β 2-induced epithelial-mesenchymal transition in lens epithelial cells. *Life Sci* 2021;265:118741

20 Liu Y, Chen T, Zheng G. Exosome-transmitted circ-CARD6 facilitates posterior capsule opacification development by miR-31/FGF7 axis. *Exp Eye Res* 2021;207:108572

21 Binder S, Stanzel BV, Krebs I, et al. Transplantation of the RPE in AMD. *Prog Retin Eye Res* 2007;26(5):516-554

- 22 Chen X, Jiang C, Sun R, *et al.* Circular Noncoding RNA NR3C1 Acts as a miR-382-5p Sponge to Protect RPE Functions via Regulating PTEN/AKT/mTOR Signaling Pathway. *Mol Ther* 2020;28(3):929-945
- 23 Liu X, Zhang L, Wang JH, *et al.* Investigation of circRNA Expression Profiles and Analysis of circRNA-miRNA-mRNA Networks in an Animal (Mouse) Model of Age-Related Macular Degeneration. *Curr Eye Res* 2020;45(9):1173-1180
- 24 Zhou RM, Shi LJ, Shan K, *et al.* Circular RNA-ZBTB44 regulates the development of choroidal neovascularization. *Theranostics* 2020;10(7):3293-3307
- 25 Cai H, Li Y, Niringiyumukiza JD, *et al.* Circular RNA involvement in aging: An emerging player with great potential. *Mech Ageing Dev* 2019;178:16-24
- 26 Zhong Y, Du Y, Yang X, *et al.* Circular RNAs function as ceRNAs to regulate and control human cancer progression. *Mol Cancer* 2018;17(1):79
- 27 Lyu J, Wang Y, Zheng Q, *et al.* Reduction of circular RNA expression associated with human retinoblastoma. *Exp Eye Res* 2019;184:278-285
- 28 Wang H, Li M, Cui H, *et al.* CircDHDDS/miR-361-3p/WNT3A Axis Promotes the Development of Retinoblastoma by Regulating Proliferation, Cell Cycle, Migration, and Invasion of Retinoblastoma Cells. *Neurochem Res* 2020;45(11):2691-2702
- 29 Cai Z, Moten A, Peng D, *et al.* The Skp2 Pathway: A Critical Target for Cancer Therapy. *Semin Cancer Biol* 2020;67(Pt 2):16-33
- 30 Du S, Wang S, Zhang F, *et al.* SKP2, positively regulated by circ_ODC1/miR-422a axis, promotes the proliferation of retinoblastoma. *J Cell Biochem* 2020;121(1):322-331
- 31 Liu S, Chen L, Chen H, *et al.* Circ_0119872 promotes uveal melanoma development by regulating the miR-622/G3BP1 axis and downstream signalling pathways. *J Exp Clin Cancer Res* 2021;40(1):66
- 32 Shang Q, Li Y, Wang H, *et al.* Altered expression profile of circular RNAs in conjunctival melanoma. *Epigenomics* 2019;11(7):787-804
- 33 Xie R, Zhang Y, Zhang J, *et al.* The Role of Circular RNAs in Immune-Related Diseases. *Front Immunol* 2020;11:545
- 34 Su LC, Xu WD, Liu XY, *et al.* Altered expression of circular RNA in primary Sjögren's syndrome. *Clin Rheumatol* 2019;38(12):3425-3433
- 35 Li F, Liu Z, Zhang B, *et al.* Circular RNA sequencing indicates circ-IQGAP2 and circ-ZC3H6 as noninvasive biomarkers of primary Sjögren's syndrome. *Rheumatology (Oxford)* 2020;59(9):2603-2615
- 36 Lin H, Liu Y, Yiu S. Three Dimensional Culture of Potential Epithelial Progenitor Cells in Human Lacrimal Gland. *Transl Vis Sci Technol* 2019;8(4):32
- 37 Liu Y, Di G, Hu S, *et al.* Expression Profiles of CircRNA and mRNA in Lacrimal Glands of AQP5^{-/-} Mice With Primary Dry Eye. *Front Physiol* 2020;11:1010
- 38 Pockar S, Globocnik PM, Peterlin B, *et al.* MiRNA as biomarker for uveitis - A systematic review of the literature. *Gene* 2019;696:162-175
- 39 Wang Z, Koenig AL, Lavine KJ, *et al.* Macrophage Plasticity and Function in the Eye and Heart. *Trends Immunol* 2019;40(9):825-841
- 40 Li D, Liu C, Sun YN, *et al.* Targeting choroidal vascular dysfunction via inhibition of circRNA-FoxO1 for prevention and management of myopic pathology. *Mol Ther* 2021;S1525-0016(21)00128-3
- 41 Liu X, Zhang J, Nie D, *et al.* Comparative Transcriptomic Analysis to Identify the Important Coding and Non-coding RNAs Involved in the Pathogenesis of Pterygium. *Front Genet* 2021;12:646550
- 42 Li XM, Ge HM, Yao J, *et al.* Genome-Wide Identification of Circular RNAs as a Novel Class of Putative Biomarkers for an Ocular Surface Disease. *Cell Physiol Biochem* 2018;47(4):1630-1642
- 43 Wu L, Zhou R, Diao J, *et al.* Differentially expressed circular RNAs in orbital adipose/connective tissue from patients with thyroid-associated ophthalmopathy. *Exp Eye Res* 2020;196:108036