

环状 RNA 在眼部增生性疾病中的研究进展

杨天静, 沈 轶

引用: 杨天静, 沈轶. 环状 RNA 在眼部增生性疾病中的研究进展. 国际眼科杂志 2021;21(6):1029-1032

作者单位: (210000) 中国江苏省南京市, 南京医科大学眼科医院
作者简介: 杨天静, 毕业于河北医科大学, 在读硕士研究生, 研究方向: 眼底病。

通讯作者: 沈轶, 毕业于南京医科大学, 博士研究生, 副主任医师, 研究方向: 眼底病. shenyi1628@163.com

收稿日期: 2020-06-16 修回日期: 2021-04-23

摘要

环状 RNA (circRNA) 是一种在真核生物中广泛存在的非编码 RNA, 可参与细胞增殖、分化和凋亡等重要的生理过程。近年研究发现, circRNA 与多种眼部增生性疾病密切相关, 本文就 circRNA 的概念、分类、作用机制及其在增生性玻璃体视网膜病变、糖尿病视网膜病变、年龄相关性黄斑变性等眼部增生性疾病的研究进展进行综述。

关键词: 非编码 RNA; 环状 RNA; 眼部增生性疾病; 糖尿病视网膜病变; 年龄相关性黄斑变性

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2021.6.19

Research progress of circular RNAs in ocular proliferative diseases

Tian-Jing Yang, Yi Shen

Eye Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210000, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Yi Shen. Eye Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210000, Jiangsu Province, China. shenyi1628@163.com

Received: 2020-06-16 Accepted: 2021-04-23

Abstract

• Circular RNAs (circRNAs) comprise a novel class of non-coding RNAs that are found to be highly abundant in eukaryotic cells and have implicated in various cellular functions such as cell proliferation, differentiation, and apoptosis. Recent advances have suggested that dysregulated circRNAs play a critical role in the pathogenesis of several proliferative retinal diseases including proliferative vitreous retinopathy, diabetic retinopathy, age-related macular degeneration, retinopathy of prematurity, and corneal neovascularization. Here, we review current knowledge about circRNAs and summarize new insights into potential functions of some aberrantly expressed circRNAs and possible future directions in ocular proliferative diseases.

• **KEYWORDS:** non-coding RNAs; circular RNAs; ocular proliferative diseases; diabetic retinopathy; age-related macular degeneration

Citation: Yang TJ, Shen Y. Research progress of circular RNAs in ocular proliferative diseases. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2021; 21(6):1029-1032

0 引言

非编码 RNA (non-coding RNAs, ncRNAs) 是一类不参与编码蛋白质的 RNA, 此类 RNA 占据人类 RNA 序列的绝大多数^[1]。过去 ncRNAs 一直被视为转录过程中的垃圾分子, 但随着研究的进展和技术的革新, 研究人员对 ncRNAs 的认识逐步深入, 发现此类 RNA 可以通过参与表观遗传水平上的调控来调节生物体的生长发育, 因此其鉴定与功能也越来越受到广泛关注。环状 RNA (circular RNA, circRNA) 是一种在真核生物中广泛存在的内源性 ncRNAs。越来越多的研究表明, circRNA 具有重要的生理病理功能, 可以参与调节细胞增殖、分化和凋亡等过程, 也可以参与多种疾病的发生发展, 包括动脉粥样硬化、心肌肥厚与心力衰竭等心血管疾病及阿尔兹海默症^[2]、急性髓细胞性白血病^[3-4]、骨肉瘤^[5-6]、肺癌和结直肠癌^[7-9]等。近年研究发现, circRNA 可通过调节血管新生等病理过程参与多种眼部增生性疾病的发生发展。本文就 circRNA 的概念、分类、作用机制及其在多种眼部增生性疾病包括增生性玻璃体视网膜病变、糖尿病视网膜病变、年龄相关性黄斑变性等中的研究进展进行综述。

1 circRNA 的概述

1.1 circRNA 的概念 Coca-Prados 等首次在真核细胞中发现 circRNA^[10]。由于其表达丰度较低, 既往研究普遍认为 circRNA 是剪切或错误剪切过程的产物^[11]。随着对 circRNA 分子算法的改进和高通量测序等先进技术的出现, 越来越多的研究开始关注 circRNA 的鉴定及其功能。目前研究认为 circRNA 在哺乳动物体内广泛存在, 并参与多种生物学功能的调控^[12-13]。与线性 RNA 不同, circRNA 通过反向剪切形成单链共价闭环结构, 长度为 100nt ~ 4kb^[14-15]。此类 RNA 不存在 5' 帽子端和 3' 多聚腺苷酸 (Poly A) 尾, 更易抵抗核酸外切酶的降解作用, 因此结构更稳定。研究发现多数 circRNA 的半衰期比其同源线性 RNA 的半衰期更长^[16-18], 可达数小时至数天, 且在未分化细胞中尤为明显^[19-20]。多数 circRNA 具有时空特异性和高度保守性, 这些特性和特殊结构也提示了其可能在细胞分化、组织稳态及疾病的发生发展等过程中发挥重要作用。

1.2 circRNA 的分类 尽管多数 circRNA 由外显子组成, 但也有部分 circRNA 来源于内含子、基因间区、非编码 RNA 及其反义非编码 RNA 基因座^[21]。根据序列来源的

不同可将 circRNA 分为外显子环状 RNA (exonic circular RNA, ecircRNA)、内含子环状 RNA (intronic circular RNA, ciRNA) 以及外显子和内含子共同来源的环状 RNA (exonic circular RNA with introns, EIciRNA)。

1.3 circRNA 的作用机制

1.3.1 miRNA 分子海绵 与其他 ncRNAs 相似, circRNA 也含有微小 RNA (microRNA, miRNA) 结合位点, 许多 circRNA 含有单个或多个 miRNA 结合位点, 甚至参与调控整个 miRNA 家族的功能^[22]。此类 RNA 可以作为竞争性内源 RNA (ceRNA), 通过“海绵吸附”作用调控 miRNA 下游靶基因的表达。研究发现, 不是所有 circRNA 与 miRNA 的结合均能导致后者活性与功能的抑制, circRNA 也有可能充当 miRNA 的储存库, 促进 miRNA 的转运。CDR1as^[23] 是最典型的 circRNA, 具有明显的组织特异性, 主要在人和鼠的脑组织中表达, 其含有 72 个 miRNA 结合位点。Piewecka 等^[24] 发现在 CDR1as 敲除鼠的脑组织中, miR-7 的含量明显下降。而其他研究认为 CDR1as 与 miR-7 的表达水平呈负相关^[25], 这表明 CDR1as 对 miR-7 的调控作用可能与细胞及其所处外环境有关。

1.3.2 调控基因转录 研究表明, ecircRNA 主要位于细胞质中^[26], 其在核内剪切后转运至细胞质, 或在细胞分裂过程中从细胞核逃逸。与 ecircRNA 相比, ciRNA 的 miRNA 结合位点较少且主要位于细胞核内, 此类 circRNA 可与 RNA 聚合酶 II 结合, 从而参与顺式转录调控^[14]。部分 EIciRNA 除在转录位点附近聚集, 还可在其他区域点状富集, 提示 EIciRNA 可能参与反式调控过程。

1.3.3 与 RNA 结合蛋白相互作用 circRNA 可以吸附蛋白分子, 直接调控蛋白的功能。Ashwal-Fluss 等^[27] 发现 circMbl 及其侧翼内含子均含有盲肌样结合蛋白 (muscleblind-like protein, MBNL) 结合位点, MBNL1 可与 circMbl 蛋白结合, 促进后者的生成, 因此认为过量的 MBNL1 可以促进 circRNA 的生成进而抑制 mRNA 的生成。此外, 前文提到的 CDR1as 可依赖 miR-7 与 miRNA 效应分子 Argonaute (AGO) 结合, 参与基因的调控^[23]。

1.3.4 作为翻译模板 研究表明, 某些 circRNA 可被核糖体翻译并编码蛋白质, 但目前此功能只在少数内源性 circRNA 得到证实^[28-31], 如 circZNF609、circMbl、circ-FBXW7、circSHPRH 等。多数 circRNA 编码的多肽相关功能仍不清楚, 但研究人员认为此类多肽可能充当蛋白变体, 参与调节其他蛋白复合物的生成过程。

2 circRNA 与眼部增生性疾病

2.1 circRNA 与增生性玻璃体视网膜病变 增生性玻璃体视网膜病变 (proliferative vitreoretinopathy, PVR) 常发生于眼外伤及孔源性视网膜脱离, 是创伤后视网膜和玻璃体的异常愈合与修复反应。在此过程中, 黄斑前膜形成, 其收缩引起视网膜牵拉及褶皱, 再次引发视网膜脱离, 从而导致患者视功能下降甚至失明。

Yao 等^[32] 通过基因芯片微阵列分析发现, 在 30 例 PVR 患者的黄斑前膜样本中有 91 种异常表达的 circRNA。研究者经实时荧光定量 PCR (quantitative real-time PCR, qRT-PCR) 验证发现有 8 种表达下调和 7 种表达上调的 circRNA, 其中 circ_0043144 的异常表达水平最为明显。通过建立沉默载体干预人视网膜色素上皮细胞

(human retinal pigment epithelial cells, ARPE-19) 观察 circRNA 功能缺失对细胞功能的影响, 结果发现 circ_0043144 的表达沉默可减少 ARPE-19 细胞的增殖和迁移能力, 进一步表明 circ_0043144 的异常表达可能在 PVR 形成过程中起到关键作用。

2.2 circRNA 与糖尿病视网膜病变 糖尿病视网膜病变 (diabetic retinopathy, DR) 是最常见的糖尿病微血管并发症, 是全球青壮年人群视力丧失的最主要原因^[33]。DR 的基本病理变化包括血-视网膜屏障破坏、视网膜水肿和出血、继发性视网膜新生血管生成等。DR 的发病机制与氧化应激、炎症等密切相关。近年研究发现, 表观遗传修饰对 DR 的发生有重要影响, ncRNAs 作为表观遗传的调节机制之一, 也引起研究人员的广泛关注。

研究发现, 在 DR 患者的血清样本中有 30 种 circRNA 的表达明显上调^[34]。circ_0005015 在 DR 患者的血浆、玻璃体及视网膜纤维血管增殖膜样本中均有异常表达, circ_0005015 沉默可以明显抑制人视网膜微血管内皮细胞的出芽、迁移和成管能力^[35]。此外, 研究发现, circHIPK3 可以吸附 miR-519-3p 进而调控基质金属蛋白酶-2 (matrix metallo proteinase-2, MMP-2)、信号转导及转录激活蛋白 3 (signal transducer and activator of transcription 3, STAT3) 与 X 连锁凋亡抑制蛋白 (X-linked inhibitor of apoptosis protein, XIAP) 的表达影响细胞功能。在链脲佐菌素诱导的糖尿病小鼠模型中, circHIPK3 沉默可以减轻无细胞毛细血管的形成和血管渗漏等视网膜微血管功能障碍^[36], 为 circRNA 在血管生成和维持内皮细胞功能中的调控作用提供了依据。在视网膜毛细血管中, 周细胞和毛细血管内皮细胞共同参与维持微血管系统的稳定性, 两者由共同的基底膜包绕, 周细胞位于毛细血管外周, 其丢失为 DR 最早期的病理改变。Liu 等^[37] 研究发现, 在高糖或高氧胁迫刺激下, cPWWP2A 在周细胞内表达明显上调, 而在内皮细胞中的表达水平没有明显变化。沉默该 circRNA 可以抑制周细胞的增殖、迁移能力, 用高糖处理过的周细胞培养液与内皮细胞共培养可使内皮细胞的迁移和成管能力增强, 表明周细胞可能通过旁分泌的 cPWWP2A 调控内皮细胞的功能。在体实验中, cPWWP2A 沉默引起视网膜无细胞血管和血管渗漏增多, 炎症反应增强, 且周细胞在视网膜毛细血管系统中的覆盖率降低。该研究再次证实了内皮细胞与周细胞之间的相互作用关系, 并为 circRNA 对周细胞功能的调控以及其对内皮细胞功能的间接作用提供了新的研究思路。上述研究表明, circRNA 参与 DR 早期及晚期的发生发展过程, 因此可以作为诊断 DR 的潜在生物标记物和治疗 DR 的分子靶标。

2.3 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) 是中老年人中主要的致盲性眼病之一, 随着人口老龄化加剧, ARMD 的患病率呈明显上升趋势^[38]。ARMD 分为萎缩性和渗出性两种类型, 渗出性 ARMD 的特点为出现新生血管并渗入视网膜色素上皮层下。由于形成的脉络膜新生血管 (choroidal neovascularization, CNV) 尚不成熟, 结构不完整且易渗漏, 较易引起视网膜及视网膜下水肿、出血以及一系列瘢痕性改变, 因此该型更容易导致严重的视力损伤。

Liu 等^[39] 研究发现, 在激光诱导的 CNV 小鼠模型的

脉络膜组织中,有2种异常高表达和4种异常低表达的circRNA。基因本体论(gene ontology,GO)分析显示,这些circRNA定位于细胞核,参与免疫应答和神经传递等生物过程,KEGG(kyoto encyclopedia of genes and genomes)通路分析表明信号富集于细胞外基质受体(extracellular matrix receptor,ECM-receptor)相互作用途径及趋化因子信号通路。这说明CNV的发生发展过程与众多circRNA的异常表达有关,这为渗出性ARMD的相关研究提供了新思路。此外,Zhou等^[40]研究发现,在激光诱导的CNV小鼠模型的脉络膜组织中,cZBTB44的表达水平明显上调,经体外实验证明cZBTB44表达沉默可以降低内皮细胞的活力,减少增殖,降低迁移和成管能力,在低氧胁迫情况下也表现出相同的结果。在体实验结果表明,在激光诱导的CNV小鼠模型中,沉默cZBTB44的表达可以抑制小鼠CNV的发生发展。该研究认为,cZBTB44可以充当miR-578海绵来抑制后者对CNV的负向调控作用从而参与血管内皮生长因子A(vascular endothelial growth factor,VEGFA)及血管细胞黏附分子-1(vascular cell adhesion molecule-1,VCAM-1)的表达调控,最终诱导CNV的发生和发展。因此,cZBTB44对CNV的形成和靶向治疗具有重要的参考价值。

2.4 circRNA与早产儿视网膜病变 早产儿视网膜病变(retinopathy of prematurity,ROP)是一种以视网膜缺血缺氧、新生血管增殖伴纤维化改变为特点的早产儿眼底疾病。随着医疗水平的发展,早产儿成活率增高,ROP已成为发达国家儿童失明的重要原因。随着对ROP研究的不断深入,近年关于ROP的相关临床与基础研究也越来越多。

Yang等^[41]通过生物信息学分析预测出两种可能参与ROP病理过程的circRNA。Cao等^[42]经基因芯片微阵列分析及qRT-PCR发现在氧诱导的小鼠视网膜病变模型的视网膜中有4种circRNA明显异常表达,并绘制了ceRNA调控网络,说明circRNA-miRNA-mRNA之间的相互作用具有复杂多样性。但circRNA在ROP中的研究还不多,而且以上两项研究样本量有限,可能会出现统计误差,因此仍需进一步探讨。

2.5 circRNA与角膜新生血管 角膜新生血管是指在感染性角膜炎、创伤、化学烧伤和自身免疫性疾病等病理情况下从角膜缘血管网生成并向角膜基质延伸的新生血管^[43]。角膜的无血管性是维持其生理功能的结构基础,过多的新生血管可能会严重影响患者的视功能。目前,角膜新生血管的治疗主要是应用糖皮质激素及非甾体抗炎药,但治疗效果欠佳,circRNA的研究可能会为角膜新生血管的治疗带来新的方向。

研究发现,在碱烧伤小鼠模型的角膜样本中有200多种异常表达的circRNA^[44],随机抽取其中20种通过qRT-PCR验证发现8种表达下调和8种表达上调的circRNA,其中cKifap3与cZFP609的异常表达最明显。此外,此研究还发现在化学烧伤及角膜炎患者的角膜样本中cKifap3的表达水平明显下调,cZFP609的表达水平明显上调。体外研究证实cKifap3表达沉默可以增强人脐静脉内皮细胞的增殖、迁移和成管能力,表明cKifap3与cZFP609可能参与调控角膜新生血管的形成。此外,研究表明,cZFP609

可以吸附miR-184通过干预Akt和VEGF信号通路参与角膜新生血管的形成^[45]。

3 总结与展望

ENCODE计划^[46]使得人们对ncRNAs有了新的认识,目前已知的circRNA已超过30000个^[47],但多数circRNA的起源、特征与生物学功能还未得到阐明。此类RNA是人体内重要的调控分子,可参与多种病理生理状态的复杂调节过程,因其结构稳定且具有高度保守性和组织特异性等特点,circRNA逐渐成为研究的热点。circRNA在肿瘤、心血管领域的研究已取得诸多进展,但与眼部疾病的相关研究还不多,且多局限于离体水平,因此亟需建立更多系统有效的研究方法与动物模型。随着circRNA数据库的建立、生化方法和二代深度测序的迅速发展,相信circRNA将为眼底新生血管及其他相关增生性眼病的病因学及治疗学提供新的研究方向及理论基础,并为开发治疗眼部增生性疾病提供新的药物治疗靶点和新思路。

参考文献

- 1 Beermann J, Piccoli MT, Viereck J, et al. Non-coding RNAs in development and disease: background, mechanisms, and therapeutic approaches. *Physiol Rev* 2016; 96(4): 1297-1325
- 2 Akhter R. Circular RNA and Alzheimer's disease. *Adv Exp Med Biol* 2018; 1087: 239-243
- 3 Guarnerio J, Bezzi M, Jeong JC, et al. Oncogenic role of fusion-circRNAs derived from cancer-associated chromosomal translocations. *Cell* 2016; 166(4): 1055-1056
- 4 Li W, Zhong CQ, Jiao J, et al. Characterization of hsa_circ_0004277 as a new biomarker for acute myeloid leukemia via circular RNA profile and bioinformatics analysis. *Int J Mol Sci* 2017; 18(3): E597
- 5 Wu Z, Shi W, Jiang C. Overexpressing circular RNA hsa_circ_0002052 impairs osteosarcoma progression via inhibiting Wnt/ β -catenin pathway by regulating miR-1205/APC₂ axis. *Biochem Biophys Res Commun* 2018; 502(4): 465-471
- 6 Zhang Y, Li JL, Wang YS, et al. The roles of circular RNAs in osteosarcoma. *Med Sci Monit* 2019; 25: 6378-6382
- 7 Guo JN, Li J, Zhu CL, et al. Comprehensive profile of differentially expressed circular RNAs reveals that hsa_circ_0000069 is upregulated and promotes cell proliferation, migration, and invasion in colorectal cancer. *Oncotargets Ther* 2016; 9: 7451-7458
- 8 Wan L, Zhang L, Fan K, et al. Circular RNA-ITCH suppresses lung cancer proliferation via inhibiting the wnt/ β -catenin pathway. *Biomed Res Int* 2016; 2016: 1579490
- 9 Zhu XL, Wang XY, Wei SZ, et al. hsa_circ_0013958: a circular RNA and potential novel biomarker for lung adenocarcinoma. *FEBS J* 2017; 284(14): 2170-2182
- 10 Hsu MT, Coca-Prados M. Electron microscopic evidence for the circular form of RNA in the cytoplasm of eukaryotic cells. *Nature* 1979; 280(5720): 339-340
- 11 Cocquerelle C, Mascrez B, Hétiuin D, et al. Mis-splicing yields circular RNA molecules. *FASEB J* 1993; 7(1): 155-160
- 12 Liu J, Liu T, Wang XM, et al. Circles reshaping the RNA world: from waste to treasure. *Mol Cancer* 2017; 16(1): 58
- 13 Vicens Q, Westhof E. Biogenesis of circular RNAs. *Cell* 2014; 159(1): 13-14
- 14 Zhang Y, Zhang XO, Chen T, et al. Circular intronic long noncoding RNAs. *Mol Cell* 2013; 51(6): 792-806
- 15 Salzman J, Gawad C, Wang PL, et al. Circular RNAs are the predominant transcript isoform from hundreds of human genes in diverse cell types. *PLoS One* 2012; 7(2): e30733
- 16 Enuka Y, Lauriola M, Feldman ME, et al. Circular RNAs are long-

lived and display only minimal early alterations in response to a growth factor. *Nucleic Acids Res* 2016; 44(3): 1370-1383

17 Liang D, Tatomer DC, Luo Z, et al. The output of protein-coding genes shifts to circular RNAs when the pre-mRNA processing machinery is limiting. *Mol Cell* 2017; 68(5): 940-954

18 Zheng QP, Bao CY, Guo WJ, et al. Circular RNA profiling reveals an abundant circHIPK₃ that regulates cell growth by sponging multiple miRNAs. *Nat Commun* 2016; 7: 11215

19 Bachmayr-Heyda A, Reiner AT, Auer K, et al. Correlation of circular RNA abundance with proliferation—exemplified with colorectal and ovarian cancer, idiopathic lung fibrosis, and normal human tissues. *Sci Rep* 2015; 5: 8057

20 Patop IL, Wüst S, Kadener S. Past, present, and future of circRNAs. *Embo J* 2019; 38(16): e100836

21 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

22 Kristensen LS, Hansen TB, Venø MT, et al. Circular RNAs in cancer: opportunities and challenges in the field. *Oncogene* 2018; 37(5): 555-565

23 Hansen TB, Jensen TI, Clausen BH, et al. Natural RNA circles function as efficient microRNA sponges. *Nature* 2013; 495(7441): 384-388

24 Piwecka M, Glažar P, Hernandez-Miranda LR, et al. Loss of a mammalian circular RNA locus causes miRNA deregulation and affects brain function. *Science* 2017; 357(6357): eaam8526

25 Weng WH, Wei Q, Toden S, et al. Circular RNA ciRS-7 - A promising prognostic biomarker and a potential therapeutic target in colorectal cancer. *Clin Cancer Res* 2017; 23(14): 3918-3928

26 Lasda E, Parker R. Circular RNAs: diversity of form and function. *RNA* 2014; 20(12): 1829-1842

27 Ashwal-Fluss R, Meyer M, Pamudurti NR, et al. circRNA biogenesis competes with pre-mRNA splicing. *Mol Cell* 2014; 56(1): 55-66

28 Legnini I, Di Timoteo G, Rossi F, et al. Circ-ZNF609 is a circular RNA that can be translated and functions in myogenesis. *Mol Cell* 2017; 66(1): 22-37

29 Pamudurti NR, Bartok O, Jens M, et al. Translation of CircRNAs. *Mol Cell* 2017; 66(1): 9-21

30 Yang Y, Gao X, Zhang M, et al. Novel role of FBXW7 circular RNA in repressing glioma tumorigenesis. *J Natl Cancer Inst* 2018; 110(3): 304-315

31 Zhang M, Huang N, Yang X, et al. A novel protein encoded by the circular form of the SHPRH gene suppresses glioma tumorigenesis. *Oncogene* 2018; 37(13): 1805-1814

32 Yao J, Hu LL, Li XM, et al. Comprehensive circular RNA profiling of

proliferative vitreoretinopathy and its clinical significance. *Biomed Pharmacother* 2019; 111: 548-554

33 Moura J, Børshheim E, Carvalho E. The role of MicroRNAs in diabetic complications—special emphasis on wound healing. *Genes (Basel)* 2014; 5(4): 926-956

34 Gu YH, Ke GJ, Wang L, et al. Altered expression profile of circular RNAs in the serum of patients with diabetic retinopathy revealed by microarray. *Ophthalmic Res* 2017; 58(3): 176-184

35 Zhang SJ, Chen X, Li CP, et al. Identification and characterization of circular RNAs as a new class of putative biomarkers in diabetes retinopathy. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2017; 58(14): 6500-6509

36 Shan K, Liu C, Liu BH, et al. Circular noncoding RNA HIPK₃ mediates retinal vascular dysfunction in diabetes mellitus. *Circulation* 2017; 136(17): 1629-1642

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

38 Brandl C, Stark KJ, Wintergerst M, et al. Epidemiology of age-related macular degeneration. *Ophthalmologe* 2016; 113(9): 735-745

39 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

40 Zhou RM, Shi LJ, Shan K, et al. Circular RNA-ZBTB44 regulates the development of choroidal neovascularization. *Theranostics* 2020; 10(7): 3293-3307

41 Yang Y, Pan JJ, Zhou XG, et al. Differentially expressed miRNAs in premature infants with retinopathy - a bioinformatics analysis. *Int J Ophthalmol* 2018; 11(5): 773-779

42 Cao M, Zhang L, Wang JH, et al. Identifying circRNA-associated-CeRNA networks in retinal neovascularization in mice. *Int J Med Sci* 2019; 16(10): 1356-1365

43 Sharif Z, Sharif W. Corneal neovascularization: updates on pathophysiology, investigations & management. *Rom J Ophthalmol* 2019; 63(1): 15-22

44 Zhou YF, Shi LJ, Yao J, et al. Microarray analysis of circRNA expression pattern in corneal neovascularization. *Cornea* 2019; 38(11): 1443-1449

45 Wu P, Zhang D, Geng Y, et al. Circular RNA-ZNF609 regulates corneal neovascularization by acting as a sponge of miR-184. *Exp Eye Res* 2020; 192: 107937

46 Diehl AG, Boyle AP. Deciphering ENCODE. *Trends Genet* 2016; 32(4): 238-249

47 Hansen TB, Venø MT, Damgaard CK, et al. Comparison of circular RNA prediction tools. *Nucleic Acids Res* 2016; 44(6): e58