

DOI: 10.13376/j.cblls/2023029

文章编号: 1004-0374(2023)02-0220-13

环状RNA作为潜在治疗靶点在子宫内膜异位症中的调控机制

夏芳丹¹, 连方^{2*}, 魏超峰¹

(1 山东中医药大学, 济南 250014; 2 山东中医药大学附属医院, 济南 250014)

摘要: 环状 RNA (circular RNAs, circRNAs) 属结构稳定的非编码 RNA, 具有 miRNA 海绵、与蛋白质互作等生物学功能。近年, 子宫内膜异位症 (endometriosis, EMs; 简称内异症) 中的 circRNAs 逐渐得到广泛研究。诸多学者通过多种生物信息学方法预测分析出 EMs 中差异表达的 circRNAs、miRNAs 及相关信号通路, 并对已知的差异表达的 circRNA 进行敲除或过表达来探究其在上皮-间质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT)、雌激素介导细胞侵袭、细胞自噬与凋亡、缺氧等生物学过程中的具体调控作用。该文以差异表达的 circRNAs 为起点, 从 ceRNA 轴出发, 在 circRNA-miRNA-mRNA 网络中对参与 EMs 发病的相关信号通路进行全面综述, 强调了 circRNAs 作为子宫内膜异位症潜在治疗靶点的作用, 以期对内异症临床治疗提供新思路。

关键词: 子宫内膜异位症; 环状 RNA; 治疗靶点; 上皮-间质转化; 雌激素

中图分类号: R711.71 **文献标志码:** A

The regulatory mechanism of circRNAs in endometriosis as potential therapeutic targets

XIA Fang-Dan¹, LIAN Fang^{2*}, WEI Chao-Feng¹

(1 Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250014, China; 2 Affiliated Hospital of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250014, China)

Abstract: Circular RNAs (circRNAs) are a class of non-coding RNAs with stable structure which have many biological functions such as miRNA sponge and protein interaction. In recent years, circRNAs have been studied extensively in endometriosis (EMs). Many scholars predicted and analyzed differentially expressed circRNAs and miRNAs and the related signaling pathways in EMs via a variety of bioinformatics methods. In addition, knock-out or overexpression of individual circRNA which has known differential expression also reveal its specific regulation of epithelial mesenchymal transition (EMT), estrogen-mediated invasion, autophagy and apoptosis, hypoxia, etc. We take differentially expressed circRNAs as starting points and from the perspective of ceRNA axis, comprehensively review the relevant signaling pathways involved in the pathogenesis of EMs in the circRNA-miRNA-mRNA network. Based on the above, we highlight the roles of circRNAs as potential therapeutic targets in endometriosis in order to provide new ideas for clinical treatment of endometriosis.

Key words: endometriosis; circular RNA; therapeutic targets; EMT; oestrogen

收稿日期: 2022-04-28; 修回日期: 2022-10-20

基金项目: 山东省自然科学基金面上项目(ZR2021022-80473); 国家自然科学基金面上项目(82174429)

*通信作者: E-mail: lianfangbangong@163.com

子宫内膜异位症 (endometriosis, EMs; 简称内异症) 是指子宫内膜腺体和间质种植在子宫内膜以外 (主要是卵巢内) 的一种疾病。其以肿瘤样生物学行为为特征, 但病因及发病机制尚未完全阐明。全世界约有 10% 的育龄期女性患有该疾病, 其中以 25~35 岁年龄段女性发病率最高。在不孕症中合并 EMs 的患者约占 20%~50%, 而慢性盆腔痛合并有该病的患者更高达 71%~87%^[1]。EMs 所引发的疼痛 (痛经、性交痛、慢性盆腔痛等) 和不孕的症状严重损害了女性的生活质量^[2-3]。

据统计, 内异症患者从出现症状到被确诊的时间间隔平均为 6~7 年^[4]。目前, 内异症的诊断方法各存利弊, 为减少延迟、提高准确率, 大多需要联合诊断。例如, 腹腔镜检查虽被认为是诊断 EMs 的金标准, 但因侵入性使其应用受到限制, 且手术花费及术后复发率较高; 虽然影像学检查 (超声、磁共振成像等) 安全简便, 但其敏感性差异较大且诊断 EMs 还需依赖患者病史、症状、体征等进行综合评判^[5], 较适用于卵巢子宫内膜异位囊肿及深部内异症的诊断; 并且在外周血及经血中尚未发现任何一种能准确诊断 EMs 的标志物^[1]。在治疗方面, 因其极易复发、无法治愈的性质, 即使是保守性手术后的育龄期女性也需要进行长期的药物管理以预防复发^[6], 而药物也仅可暂缓疼痛, 无法根除异位病灶。这对于患者来说, 无论身心都是一场慢性消耗的持久战。子宫内膜异位症诊治指南 (第三版) 指出, 对 EMs 的早诊断、早治疗有助于控制疾病进展、保护生育力及避免不良结局。为尽可能将治疗关口前移, 尽快缓解患者痛苦, 临床医师应重视 EMs 的预防, 将预防与诊治并重^[7]。因此, 我们有必要尽早确定用于诊断和治疗 EMs 的潜在分子生物标志物及调控其进展的新因素。且有研究指出, 使用一组生物标记物可以减少误诊和假阳的可能性, 比使用单个生物标记物用于诊断和治疗的准确率更高^[8]。

非编码核糖核酸 (non-coding RNA, ncRNA) 如微小核糖核酸 (microRNA, miRNA)、长链非编码核糖核酸 (long non-coding RNA, lncRNA) 以及环状核糖核酸 (circular RNA, circRNA) 已被证明广泛参与各种分子病理生理学过程, 其中 circRNA 与线性 RNA 不同, 是一种没有 5' 帽或 3' 尾的封闭环状 RNA, 这使其结构非常稳定, 不易被核酸外切酶 RNaseR 降解, 且能吸附 microRNA 从而增强 mRNA 翻译。circRNA 作为一种序列保守的 RNA, 正在成为 RNA 领域研究的新热点。

1 circRNA概述

1.1 circRNA的分类与成环模式

根据基因组成不同, circRNA 可分为三种类型: 占比约 80% 的外显子环状 RNA (exonic circular RNA, ecircRNA), 主要存在于细胞质中; 内含子环状 RNA (circular intronic RNA, ciRNA) 和外显子-内含子环状 RNA (exonic-intronic circRNA, EircRNA) 均主要存在于细胞核中。不同的 circRNA 有不同的连接模式, 其成环大致有内含子配对、外显子跳跃和内含子套索、RNA 结合蛋白 (RNA-binding proteins, RBPs) 介导三种方式。

1.2 circRNA的生物学功能

circRNA 的生物学功能可概括为以下四种 (图 1): (1) miRNA 海绵: circRNA 是一类稳定性强的竞争性内源性 RNA (competing endogenous RNA, ceRNA)^[9], 具有 miRNA 应答元件 (microRNA response elements, MREs), 可作为内源性分子海绵竞争性结合 miRNA, 如 circDDX21^[10]、circHIPK3^[11]、circITCH^[12]、circZFR^[13]。(2) 调控基因转录: EircRNA 中的 circEIF3J、circPAIP2 与 U1 核小 RNA (U1 small nuclear RNA, U1snRNA) 结合形成复合体, 在基因启动子区与 RNA 聚合酶 II (RNA polymerase II, RNA-pol II) 相互作用并结合于母系基因转录起始位点上游, 顺式调控亲本基因的转录表达^[14]。(3) 与蛋白质相互作用: 除前文提到的 RBPs 调节 circRNA 的合成和降解, circRNA 也可影响蛋白质的表达和功能^[15]。一是充当蛋白质海绵, circMBL 是其中一个典型例子, 其含有 MBL 结合位点, 可竞争性与 MBL 蛋白结合从而影响蛋白功能; 二是参与蛋白质翻译, 若起始密码子上游含有内部核糖体进入位点 (internal ribosome entry site, IRES) 和开放阅读框 (open reading frame, ORF), 则 circRNA 可以被翻译成蛋白质, 如 circFBXW7^[16]、circAKT3^[17]; 三是蛋白诱捕陷阱, circPABPN1 可以隔离 HuR, 显著抑制 HuR 与 PABPN1-mRNA 的结合进而阻碍 PABPN1 的翻译^[18]; 四是蛋白支架, 如 circFoxo3^[19]; 五是蛋白招募, 如 circFECR1^[20]。(4) 调节 mRNA 稳定性: Toll 受体 (Toll-like receptor, TLR) 信号通路中 mcircRasGEF1B 可调控脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 诱导的细胞间黏附分子 ICAM-1 成熟 mRNA 的稳定性及蛋白质水平^[21]。

2 circRNA作为子宫内膜异位症有效生物标志物的依据

腹腔镜手术是 EMs 诊断的黄金标准, 也是治

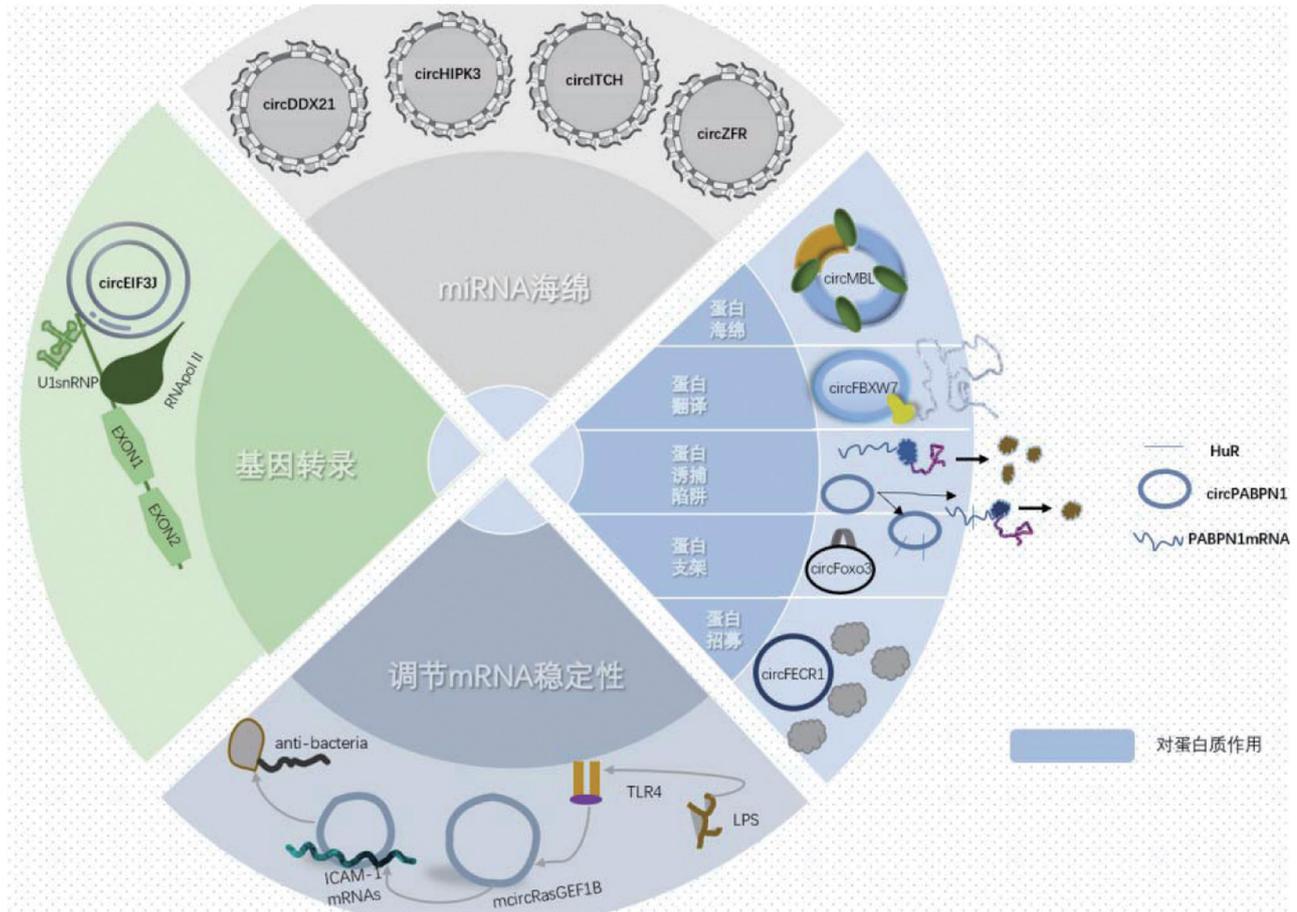


图1 circRNA的生物学功能

疗的有效手段。但作为微创外科操作，腹腔镜也伴随着诸多问题，并不适合所有疑似患有子宫内膜异位症的女性。超声检查虽是一种安全简便、低成本的非侵入性诊断工具，但对早期EMs及浅表病变诊断可靠性不高，存在遗漏病变，尤其是表面病变的可能^[5]。药物保守治疗通过抑制排卵和月经也可暂时缓解疼痛，但无法根除异位病灶。因此，亟待开发一种无创准确的诊断方法和寻找有效的治疗靶点来缩短诊断时间，提高临床疗效^[22]。

2.1 circRNA作为EMs潜在治疗靶点和(或)诊断标志物的可能性

由于circRNA的高丰度、高稳定性以及时空特异性，其在血液等体液中含量丰富稳定，故circRNA可以作为各种癌症的有效生物标志物^[23-24]。

circRNA的共价闭合环能抵抗核酸外切酶的降解，并且比其线性RNA对应物具有更长的半衰期^[25]。但大多数circRNA由于其低表达水平而难以被发现^[26]。随着创新技术的出现，通过转录组数

据集计算分析、高通量测序和实验验证，越来越多的新circRNA被识别。2021年，Xin等^[27]通过滚环扩增以及纳米孔长读测序技术来解读全长circRNA序列，增加了已知circRNA亚型的数量。这扩展了我们对于circRNA的研究并使其向前迈进了一大步。

目前，circRNA已在不同的细胞类型和物种间被检测到，其表达具有高度的细胞类型特异性、组织类型特异性和发育阶段特异性，其中一些circRNA的表达甚至比它们的线性对应物更丰富^[28]。Grassi等^[29]分析BLUEPRINT consortium RNA-seq成熟造血细胞的数据，并使用Ensembl现有注释估计每种细胞类型的基因和亚型表达水平，发现其中大多数基因具有细胞类型依赖性表达，非编码转录物则可能在造血细胞发挥细胞类型特异性功能时起作用。

circRNA的生物学特性及各项生物学功能均提示其作为EMs预测分子的可能，circRNA有可能为认识疾病分子机制和寻找有效生物标志物或治疗靶点提供新思路。

2.2 circRNAs在子宫内膜异位症中的高通量研究——差异化表达的circRNAs

微阵列 (microarray analysis) 已被用于在全基因组水平发现新的 ncRNA。可以使用与一组选定的 circRNA 明确杂交的微阵列来检测注释 circRNAs 表达^[30]。

2018年, Xu等^[31]对EMs中circRNAs的表达模式进行研究, 在异位子宫内膜 (ectopic endometrium, EC) 中检测出2319个circRNAs (其中1258个上调, 1061个下调) 和4435个mRNAs (其中1900个上调, 2535个下调) 差异表达。上调的mRNAs多参与防御反应、炎症和免疫反应, 而多数下调的mRNAs则负责细胞周期调节。实时荧光定量PCR (quantitative real-time PCR, qRT-PCR) 鉴定出5个差异表达的circRNAs (其中circ_0004712、circ_0002198、circ_0008951、circ_0017248上调, circ_0003570下调), 其表达与微阵列结果一致。circ_0008951靶向miR-29c, 在EMs中引起孕酮抵抗; circ_0017248则靶向miR-145, 防止EMs增殖侵袭。构建circRNA-miRNA-mRNA网络并进行功能分析发现, 其靶向基因主要与小GTPase介导的信号转导、T helper细胞分化和肌动蛋白丝组装过程相关, 这5个circRNAs靶向的基因主要参与调节癌症相关的嘌呤代谢、甘油酯代谢和甲状腺激素信号通路。中枢基因PPP1R9A在癌症晚期阶段表达下调, 其表达水平的变化与circ_0003570的水平变化相对应^[31]。

另外, Xu等^[32]还证实, 在88个差异表达的circRNAs (其中11个上调, 77个下调) 中, circ_0004712、circ_0002198表达明显上调, 且qRT-PCR结果与微阵列检测相匹配。这两种circRNA存在共同的靶miRNAs (如miR-455-3p、miR-876-3p、miR-661和miR-323a-5p), 并在谷氨酰胺家族氨基酸和肌酸的代谢过程以及负调控横纹肌细胞发育中发挥作用。

Xu的以上两项研究表明, circ_0004712和circ_0002198是子宫内膜异位症有价值的潜在生物标志物, 且他们认为两者不仅可用作诊断EMs的生物标记物, 若其组合应用还可显著提高诊断准确率。

2018年, Shen等^[33]研究发现circRNAs通过与其他信号通路相互影响在EMs中发挥作用。在EC的553个差异表达的circRNAs (其中262个上调, 291个下调) 中, 有84%由蛋白质编码外显子转录, circRNA-miRNA-mRNA网络中来源于GSTP1基因的circ-0023115是miR-940的ceRNA, 靶向ICAM-1和

整合素 $\alpha 1$ 亚单位 (ITGAL)。其与Rap1途径及含有ICAM-1和ITGAL的白细胞跨内皮迁移途径等9个信号通路密切相关, 这两个途径后续已被证明参与EMs发病^[34-35]。

有丝分裂原激活蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 信号通路在迁移、着床生长、增殖、凋亡等过程中异常激活, 从而导致EMs形成并加重患者病情^[36]。Wang等^[37]确定了146个上调和148个下调的circRNAs, 并构建出由48个miRNAs和296个mRNAs组成的ceRNA网络。基因本体 (gene ontology, GO)、京都基因与基因组百科全书 (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG) 分析揭示出可能与EMs发病相关的circRNA信号通路, MAPK、磷脂酰肌醇3激酶-蛋白激酶B (PI3K-AKT)、FOXO和RAS与4种上调的circRNAs (hsa-circ0003380、hsa-circ0020093、hsa-circ0008016、hsa-circ0077837) 在EMs发病中相互作用。MAPK信号通路成员的抑制剂可作为治疗内异症的短期药物, 也可作为与其他常用药物联合治疗的长期药物。

卵丘细胞 (cumulus cells, CCs) 通过间隙连接和旁分泌因子与卵母细胞建立双向功能性相互作用, 这种双向通信促进了卵泡发育和卵母细胞成熟^[38]。Wu等^[39]通过收集输卵管因素不孕组与内异症相关不孕组患者的CCs来研究circRNAs表达谱, 共检测出55个上调和41个下调的circRNAs。上调的circ_0007299与下调的circ_001533可能分别通过调节细胞色素P450家族51亚家族成员1 (CYP51A1) 及FK506结合蛋白5 (FKBP5) 的表达而发挥关键作用。上调的circ_0072391则可能通过circ_0072391/let-7g-5p/TGFBR1轴或circ_0072392/miR-129-5p/HMGB1轴来影响CCs的增殖和凋亡。

lncRNAs和circRNAs均具有miRNA海绵作用, 可与miRNAs竞争以调节mRNAs表达。EMs相关不孕症与卵泡液微环境变化、卵泡发育迟缓及卵母细胞质量差密切相关^[40]。Guo等^[41]通过对内异症不孕与输卵管因素不孕患者颗粒细胞 (granulosa cells, GCs) 中的mRNAs、lncRNAs、circRNAs高通量测序并构建lncRNAs/circRNAs-miRNAs-mRNAs网络来探索三种RNA的潜在功能和调控途径, 发现EMs患者GCs中有37个mRNAs、51个lncRNAs和101个circRNAs差异表达。GO及KEGG分析得出与上述研究^[31, 37]相似结果, 差异表达的mRNAs主要参与脂质反应、细胞分化、细胞周期调节、RNA生物合成过程的负调控, 上调的mRNAs参与MAPK、FOXO

信号通路和 Th17 细胞分化信号通路。在 ceRNA 网络中, TGFBR1、NFKB1 和 EZH2 是三个主要失调基因, 这三者与 GCs 凋亡和自噬相关^[42]。Yin 等^[43]发现 EMs 中存在 lncRNAs/circRNAs-miRNAs-mRNAs 共表达网络, 两种 circRNAs (circGLIS2、circFN1)、两种 lncRNAs (IGFL2-AS1、LINC02381) 和三种 mRNAs (CD84、LYPD1、FAM163A) 差异化表达显著, 研究还推测 circFN1 和 LINC02381 通过调控 CD84 和 LYPD1 表达来诱发 EMs 的免疫反应失调, 但此结论尚需进一步实验验证。

通过对上述研究分析发现, 差异表达的 circRNAs 多来源于蛋白质编码外显子。为拓宽 circRNAs 研究成果的应用, 还需尝试对差异表达的 circRNAs 进行多中心研究以期得到更大样本量的 PCR 验证, 以及通过个体化的 circRNA 敲除和过表达实验来揭示这些 circRNAs 在 EMs 中的详细分子机制。此外, 还应进行基于动物模型的体内研究, 如灵长类动物模型和患者来源的异种移植模型 (patient-derived xenografts, PDX)^[44], 以深入探究 EMs 中 circRNAs 的病理生理学相关性。

2.3 circRNA在子宫内膜异位症中的个体化研究

高通量研究确定了在子宫内膜异位症中差异表达的 circRNAs, 对于单独的 circRNA 分子来说, 其在 EMs 中具体参与调控的分子机制更需要得到证实。

2.3.1 circRNA参与子宫内膜异位症相关EMT

EMT 是形态发生和器官形成过程中一种重要的保守调控机制^[45], EMT 的多阶段过程包括上皮细胞结构和功能的重塑, 如上皮标记物的丢失导致细胞-细胞接触的中断、细胞骨架的重塑^[46-47]。这些变化则通常导致多种生长因子、细胞因子及转录因子所引发的细胞迁移、侵袭和存活率的增加。而子宫内膜异位症以其类似癌症的行为而闻名^[48], 其特点是侵袭性生长和高复发风险, 类似于恶性肿瘤, 因此两者在发病机制上有相似之处。EMT 赋予细胞侵袭和转移的能力包括减少凋亡、抑制免疫反应、获得干细胞特性^[49], 以及辅助异位病灶转移^[46]。Simpson 的经血反流理论认为 EMT 是子宫内膜异位症发病的驱动因素之一。EMT 后小间皮细胞不再在基底层和腔隙之间提供层状保护屏障。由于没有保护屏障, 子宫内膜细胞容易黏附在腹膜基质上, 导致子宫内膜异位症。子宫内膜是在胚胎泌尿生殖系统发育过程中由基质细胞转化形成的。子宫内膜上皮细胞由于一些基质来源印记的保留倾向于通过

EMT 回复到原始基质状态^[50]。

缺氧诱导因子 1 α (HIF-1 α) 在异位子宫内膜的局部血管生成和缺氧机制中发挥关键作用, 并在病变中上调, 且对细胞侵袭起重要作用。缺氧诱导子子宫内膜细胞 EMT 可能是子宫内膜异位病形成的先决条件^[51]。Dong 等^[52]发现 circ_0007331 在 EC 细胞中异常高表达, 且作为 miR-200c-3p 海绵可间接调节 HIF-1 α 。敲除 circ_0007331 可下调 HIF-1 α 表达, 通过 miR-200c-3p/HIF-1 α 轴有效抑制 EC 细胞的存活、增殖和侵袭能力, 最终阻碍子宫内膜异位症的发展。circ_0007331 作为治疗靶点有相当大的潜力, 但若作为非侵入性诊断生物标记物则还需要在外周血或经血中进一步研究。

circZFPM2 (hsa_circ_0003380) 的过表达可促进 Ishikawa 细胞 (人子宫内膜癌细胞) 和 End1/E6E7 细胞 (人子宫颈内膜上皮细胞系) 的增殖、迁移、侵袭和 EMT^[53]。qRT-PCR 结果显示, miR-205-5p 表达水平与子宫内膜细胞的增殖、迁移和侵袭能力成反比, 而 ZEB1 的表达水平则与其成正比。总之, circZFPM2 通过靶向 miR-205-5p 促进 ZEB1 介导的 EMT, 并推测其在 EMs 中发挥癌基因样诱导剂的作用。

Zhang 等^[54]认为 hsa_circ_0067301/miR-141e-5p/Notch-1 轴是调节子宫内膜异位症 EMT 过程的关键通路。hsa_circ_0067301 是一种通过上调 miR-141 来抑制 Notch-1 表达的 ceRNA, 敲除 hsa_circ_0067301 可通过 Notch 信号通路增加 Notch-1、Hes-1 表达, 进而促进 Ishikawa 细胞和 End1/E6E7 细胞的增殖和迁移; 且 hsa_circ_0067301 水平的降低也导致神经型钙黏蛋白 (N-cadherin) 和波形蛋白 (Vimentin) 的相对表达水平增加, 上皮细胞钙黏蛋白 (E-cadherin) 的表达水平降低。

2020 年, Wang 等^[55]发现异位组织中 circATRNL1 (hsa_circ_0020093) 和 Yes 相关蛋白 1 (YAP1) 显著上调, 而 miR-141-3p 和 miR-200a-3p 下调。circATRNL1 诱导 Ishikawa 细胞增殖、迁移和侵袭以及子宫内膜间质纤维化。异常上调的 circATRNL1 通过 miR-141-3p/miR-200a-3p-YAP1 轴促进 EMT 过程。2022 年, Chen 等^[56]的研究不仅证实异位组织中 circATRNL1 显著高表达及诱导 Ishikawa 细胞增殖的作用, 还表明上调的 circATRNL1 可通过下调 miR-103a-3p 表达而增加酸敏感离子通道 1 (ASIC1) 表达, 从而促进 EMT 及 EMs 细胞的增殖、迁移和侵袭。目前的研究将 circATRNL1 确定为子宫内膜异位症治疗策略

中的一种有希望的替代方案。

在月经周期中, 正常子宫内膜组织中会出现自噬, 而EMs在位和异位子宫内膜中则会发生异常自噬^[57]。一项研究在2 233个差异表达的circRNAs中发现8个与EMT过程密切相关, 其中qRT-PCR证实circ_103470和circ_101102表达与微阵列结果相匹配^[58]。circ_101102来源于抑制细胞自噬的RAB3IP, 因此推测circ_101102可能通过调节自噬而参与EMs发病。基于目标预测构建ceRNA网络并通过GO及KEGG途径分析进一步证实了这两个下调的circRNA通过miR-141-5p调节EMT, 并参与17条信号通路(如mTOR、Hippo、HIF-1、PI3K-Akt等信号通路), 使其成为EMs有希望的治疗靶点。

Wei等^[59]通过qRT-PCR检测基因表达水平, 发现内异症患者异位组织中hsa_circ_0063526的表达水平显著升高。敲除hsa_circ_0063526可上调End1/E6E7细胞中miR-141-5p的表达, 抑制End1/E6E7细胞的侵袭、迁移和增殖能力, 并通过调节miR-141-5p/EMT轴和下调雌激素受体来抑制子宫内膜异位症, 故推测hsa_circ_0063526和miR-141-5p可能是EMs的生物标志物和治疗靶点。

Jiang等^[60]发现, 在circ_0008433过表达的子宫内膜间质细胞中, 有6个潜在的靶miRNA(miR-221-3p、miR-222-3p、miR-181-5p、miR-449a、miR-449b-5p、miR-483-3p)表达水平发生了显著变化。此外, 蛋白质相互作用表明, 上调的circ_0008433通过circRNA-miRNA-mRNA轴调节子宫内膜异位症的EMT、内膜基质细胞存活和血管生成。

这些研究强调了circRNAs在抑制或促进子宫内膜异位症EMT过程中的重要性及成为潜在治疗靶点的可能性, 并为EMs发病的分子机制提供了独特的见解。

综上所述, 同一circRNA可靶向不同miRNAs, 而不同的circRNAs也可靶向相同的miRNA。有5个circRNAs(circ_0067301、circ_103470、circ_101102、circATRNL1、circ_0063526)靶向1个共同的miRNA(miR-141)而调控子宫内膜异位症的EMT。

2.3.2 circRNA参与EMs中雌激素(E2)介导的ESCs细胞侵袭

子宫内膜异位症(EMs)是一种雌激素(E2)依赖性炎症性疾病, 雌激素(E2)分泌异常与子宫内膜异位症的发病有关^[61-62]。使用芳香化酶抑制剂抑制芳香化酶(产生雌激素的关键酶)的活性, 已被证明是治疗EMs的有效方法^[63-64]。

Liu等^[65]用雌二醇(E2)刺激原代子宫内膜基质细胞(ESCs)建立EMs体外细胞模型。用qRT-PCR或蛋白质印迹法(Western Blot)检测circ_0075503、miR-15a-5p和Krüppel样转录因子12(Krüppel-like factor 12, KLF12)的水平。在异位子宫内膜和ESCs细胞中高表达的circ_0075503可作为miR-15a-5p的海绵, miR-15a-5p则靶向介导ESCs蜕膜化和凋亡的KLF12^[66]。敲除circ_0075503可通过调节miR-15a-5p/KLF12轴而抑制E2诱导的在位ESCs细胞的迁移和侵袭能力, 证明其是治疗EMs的一个新靶点。

hsa_circ_0001649是一种新的癌症相关circRNA, 与细胞迁移和侵袭有关, 在几种癌症类型中表达下调。MMP9是基质金属蛋白酶(matrix metalloproteins, MMPs)家族中参与细胞侵袭和转移的重要成员, 其在EMs病变中高度表达。Li等^[67]发现hsa_circ_0001649存在hsa-miR-1231、hsa-miR-223和其他19个miRNA的潜在结合位点。利用qRT-PCR来测量人组织、人原代子宫内膜基质细胞(ESCs)和人子宫内膜基质细胞系(ThESCs)中的hsa_circ_0001649水平, Transwell侵袭实验检测ThESCs的迁移和侵袭能力, 结果发现hsa_circ_0001649在异位和在位子宫内膜样本中的表达明显低于正常子宫内膜。E2通过E2受体(ERs)降低hsa_circ_0001649表达, 进一步上调MMP9并增强ESCs的迁移和侵袭, 表明hsa_circ_0001649在EMs中起迁移-侵袭抑制作用, 这与其在结直肠癌、胃癌、肝细胞癌中的作用一致。

He等^[68]研究证实, 经过雌激素(E2)处理后, 子宫内膜上皮细胞中circ_0004712表达显著增加。E2可以通过上调circ_0004712促进EMs发展过程中的细胞迁移, miR-148a-3p是circ_0004712潜在的靶miRNA。抑制miR-148a-3p的表达可以恢复circ_0004712敲除对E2处理的子宫内膜上皮细胞的影响。这表明circ_0004712与miR-148a-3p参与E2诱导的EMT过程且两者具有相反作用。E2处理后可增加 β -连环蛋白(β -catenin)表达和活性, 而下调circ_0004712的表达或上调miR-148a-3p的表达均抑制 β -catenin信号通路的激活。因此, circ_0004712/miR-148a-3p通过 β -catenin途径调节E2诱导的EMT过程。

子宫内膜异位症中异常激活的RhoA/ROCK通路增强了雌激素/ER α /ERK信号介导的EMT过程和细胞增殖^[69]。miR-488-3p通过调节ROCK1抑制异位子宫内膜上皮细胞的存活和迁移, 而circ_0004712

可作为其海绵提高 ROCK1 的表达, 异位子宫内膜上皮细胞中存在 circ_0004712/miR-488-3p/ROCK1 反馈环, circ_0004712 通过体外调节 miR-488-3p/ROCK1 轴增加 N-cadherin 表达、降低 E-cadherin 表达来促进 EMT 过程^[70]。

上述研究表明, circRNA 能够调节 E2 介导的 EMs 细胞迁移及侵袭能力, 其中 circ_0075503、circ_0004712 的下调抑制 E2 诱导的 ESCs 细胞迁移和侵袭; hsa_circ_0001649 的下调增强 E2 诱导能力及 ThESCs 的迁移和侵袭。EMs 作为雌激素依赖性疾病, 临床上可通过降低异位病灶的雌激素水平来达到治疗目的, 因此这三种 circRNA 有望成为 EMs 药物治疗的关键作用靶点。

2.3.3 circRNA在子宫内膜异位症中的其他调控机制

EMs 间质细胞分泌的外泌体可将信息传递给其他细胞而参与其发病^[71]。Wu 等^[72]通过构建内异症患者外泌体 ceRNA 网络探究外泌体 RNA 表达谱, 确定了具有高度连通性的候选中枢基因, 并进行拓扑分析得到 circRNAs 的核心 ceRNA 子网络。在此网络中, circ_0026129/miR-15a-5p/ATPase H⁺ 转运 V1 亚基 A (ATP6V1A) 位于中心。双荧光素酶报告基因分析表明, circ_0026129 可能通过竞争外泌体中的 miR-15a-5p 来促进 ATP6V1A 的表达, 因此可能会增加子宫内膜间质细胞向子宫或腹腔内受体细胞释放 ATP6V1A, 从而导致 EMs 的发病。

circ_0000673 在内异症中表达明显下调, 但其在发病中的具体作用却知之甚少。通过研究 circ_0000673 在 EMs 中下调的位置和作用发现, 敲除 circ_0000673 可显著增加在位和正常子宫内膜细胞的增殖和迁移, 增加 PI3K 和 p-AKT 表达, 并降低 PTEN 表达。circ_0000673 充当 miR-616-3p 海绵, circ_0000673 敲除的结果可被 miR-616-3p 抑制剂恢复而被其模拟物增强。Yang 等^[73]的研究证实了下调的 circ_0000673 通过 miR-616-3p/PTEN 轴促进 EMs 细胞的增殖和迁移。

Xu 等^[74]发现下调 circ_0061140 可通过调节 miR-140-3p 和 Notch 同源物 2 (Notch-2) 来抑制 EMs 进展。miR-140-3p 在异位子宫内膜细胞中表达减少并作为 circ_0061140 的直接靶点抑制其对异位子宫内膜细胞的作用。miR-140-3p 和 Notch-2 在 EMs 中同为 circ_0061140 的信号转导下游效应物, miR-140-3p 抑制 circ_0061140 对异位子宫内膜细胞的作用而 Notch-2 则与 circ_0061140 表达呈正相关。

同样, Sun 等^[75]发现敲除 circPIP5K1A 可抑

制 EMs 细胞增殖、加速细胞凋亡、减少迁移侵袭, 抑制 miR-153-3p 可消除 circPIP5K1A 的敲除对体外 EMs 进展的影响。circPIP5K1A 通过与 EMs 细胞中的 miR-153-3p 相互作用来调节 TMSB4X 的水平; 此外, TMSB4X 还可激活 hEM15A 细胞中的 TGF- β 信号。该研究阐明了 circPIP5K1A 通过 miR-153-3p/TMSB4X 轴激活 TGF- β 信号通路加速 EMs 进展, 为 EMs 治疗提供了潜在靶点。

cAMP 反应元件结合蛋白 1 (CREB1) 是一种通过结合 cAMP 反应元件刺激转录的转录因子, 在 EMs 患者中明显失调^[76]。miR-424-5p 过表达可抑制异位 ESCs 增殖、侵袭, 并通过下调 CREB1 促进细胞凋亡。circ_0007299 在异位子宫内膜组织和异位 ESCs 中上调, 其通过与 miR-424-5p 竞争而使 CREB1 显著高表达, 在 EMs 进程中起正向调节作用^[77]。

上述研究表明, circ_0026129、circ_0061140、circPIP5K1A、circ_0007299 的上调及 circ_0000673 的下调均可促进 EMs 发病。总的来说, circRNA 充当 miRNA 海绵这一生物学功能在 EMs 的发生发展机制中扮演了极为重要的角色。circRNA 竞争性地结合 miRNA 形成 ceRNA 网络, 最终促进 EMs 进展。表 1 总结了 circRNA 在子宫内膜异位症中的分子调控机制。

3 总结及展望

circRNAs 通过 circRNAs-miRNAs-mRNAs 轴参与子宫内膜异位症的多个关键信号通路。随着研究技术的快速发展, 如今我们对 circRNAs 的研究不仅限于在 EMs 中的差异化表达, 更将侧重点着眼在了差异化表达的 circRNA 在内异症中具体的调控机制及其发挥的作用 (图 2), 并且发现了不同 circRNA 存在相似的分子机制及重合的信号通路。为了进一步验证 circRNA 不仅能作为 EMs 治疗阻断靶点, 还可作为今后临床急需的预防和诊断的无创生物标记物, 对其的研究不能仅限于子宫内膜, 需要评估 circRNAs 在其他样本中的诊断价值, 例如 EMs 患者与正常女性的外周血、经血、腹水等。此外, 进行多中心研究以获得更多更大样本量也是一个不错的选择。更多的 circRNAs 及其引起的生理功能改变的机制尚需进一步阐明, 其在子宫内膜异位症中的作用模式也需进一步探讨。

如前所述, 在 EMs 的发生发展中存在多种具有不同作用的 circRNA, 且这些 circRNA 参与多种信号通路。由于信号通路涉及许多疾病, 因此通过

表1 circRNA在子宫内膜异位症中的分子调控机制

实验样本类型及数量	circRNA	基因	靶点	目标miRNA	信号通路/分子基础	在EMs中的调控	对EMs的作用
III/IV期子宫内膜异位症患者 在位子宫内膜(25例)、正常女性 子宫内膜(25例)	circ_0007331 ^[52]	—	HIF-1a	miR-200c-3p	circ_0007331/ miR-200c-3p/ HIF-1a轴	高表达; 正向调节	促进EMT; circ_0007331基因敲除可下调HIF-1α表达、抑制EMs的发展
III/IV期子宫内膜异位症患者 异位子宫内膜(30例)和在位 子宫内膜(30例)、正常女性 子宫内膜(24例)	circZFPM2 ^[53]	ZFPM2	ZEB1	miR-205-5p	circZFPM2/ miR-205-5p/ ZEB1信号通路	高表达; 正向调节	促进Ishikawa细胞和End1/E6E7细胞增殖、迁移、侵袭, 促进EMT, 在EMs中发挥癌基因样诱导剂的作用
III/IV期子宫内膜异位症患者 在位子宫内膜(10例)、正常女性 子宫内膜(10例)	hsa_circ_0067301 ^[54]	—	Notch-1、 Hes-1	miR-141e-5p	hsa_circ_0067301/ miR-141e-5p/ Notch-1信号通路	低表达; 负向调节	hsa_circ_0067301敲除促进Ishikawa细胞、End1/E6E7细胞的增殖和迁移并增加Notch-1、Hes-1表达, 促进EMT
III/IV期子宫内膜异位症患者 异位子宫内膜(60例)和在位 子宫内膜(60例)	circATRNL1 ^[55]	ATRNL1	YAP1	miR-141-3p/ miR-200a-3p	circATRNL1/ miR-141-3p/ miR-200a-3p- YAP1轴	高表达; 正向调节	促进Ishikawa细胞增殖、迁移、侵袭, 促进EMT
子宫内膜癌细胞(HEC1-B、 AN3-CA、KLE、HEC1-A、 Ishikawa、HEK293T)和子 宫内膜上皮细胞(hEECs)	circATRNL1 ^[56]	ATRNL1	ASIC1	miR-103a-3p	circATRNL1/ miR-103a-3p/ ASIC1	高表达; 正向调节	circATRNL1与miR-103a-3p结合, 上调miR-103a-3p的靶基因ASIC1, 上调的circATRNL1可降低miR-103a-3p表达而增加酸敏感离子通道1(ASIC1), 从而促进EMT及EMs细胞的增殖、迁移和侵袭。
III/IV期子宫内膜异位症患者 异位子宫内膜(20例)和在位 子宫内膜(20例)、正常女性 子宫内膜(4例)	circ_101102 ^[58]	RAB3IP	—	miR-141-5p、 miR-503	mTOR、Hippo、 HIF-1、PI3K-Akt 信号通路	低表达; 负向调节	诱导凋亡和细胞停滞, 并抑制细胞增殖、血管生成和子宫内膜异位囊肿基质的收缩性; 诱导自噬、调节EMT
III/IV期子宫内膜异位症患者 在位子宫内膜(31例)、正常女 性子宫内膜(10例)	hsa_circ_0063526 ^[59]	—	—	miR-141-5p	mTOR、Hippo、 HIF-1、PI3K-Akt 信号通路	高表达; 正向调节	敲除hsa_circ_0063526下调雌激素受体, 抑制了End1/E6E7细胞的侵袭、迁移和增殖能力

表1 circRNA在子宫内膜异位症中的分子调控机制(续表)

实验样本类型及数量	circRNA	基因	靶点	目标miRNA	信号通路/分子基础	在EMs中的调控	对EMs的作用
子宫内膜异位症患者异位子宫内 膜(20例)和在位子宫内膜(20例)、 正常女性子宫内膜(20例)	circ_0061140 ^[74]	—	Notch-2	miR-140-3p	circ_0061140/ miR-140-3p/ Notch-2	高表达; 正向调节	circ_0061140的下调抑制了细胞 增殖、迁移和侵袭
子宫内膜异位症患者(其中I-II期 13例, III-IV期17例)异位子宫内 膜(30例)和在位子宫内膜(30例)	circ_0075503 ^[65]	SLC22A23	KLFL12	miR-15a-5p	circ_0075503/ miR-15a-5p/ KLF12轴	高表达; 正向调节	敲除circ_0075503抑制E2处理的 在位ESC的迁移和侵袭
III/IV期子宫内膜异位症患者 异位子宫内膜(40例)和在位 子宫内膜(40例)、正常女性 子宫内膜(101例)	hsa_circ_0001649 ^[67]	SHPRH	MMP9	—	—	低表达; 负向调节	E2通过E2受体降低hsa_circ_ 0001649的表达而上调了 MMP9的表达, 增强ESCs 细胞的迁移和侵袭能力
E2处理及未处理的Ishikawa细胞 和End1/E6E7细胞	circ_0004712 ^[68]	PDE7B	SOS2	miR-148a-3p	circ_0004712/ miR-148a-3p/SOS2	高表达; 正向调节	E2处理后E-cadherin表达下调, N-cadherin表达上调; E2上调 circ_0004712的表达通过 circ_0004712/miR-148a-3p/ SOS2轴激活β-catenin通路, 促进EMT
子宫腺肌病患者异位子宫内膜 (20例)和在位子宫内膜(17例)、 正常女性子宫内膜(14例)	circ_0004712 ^[70]	PDE7B	ROCK1	miR-488-3p	circ_0004712/ miR-488-3p/ ROCK1	高表达; 正向调节	敲低circ_0004712抑制EMs细胞 存活和迁移; 上调的circ_ 0004712通过下调miR-488-3p 来促进ROCK1表达进而加速 EMT过程
子宫内膜异位症患者异位子宫 内膜(19例)、正常女性子宫 内膜(17例)	circ_0007299 ^[77]	—	CREB1	miR-424-5p	circ_0007299/ miR-424-5p/ CREB1	高表达; 正向调节	下调的circ_0007299抑制异位 ESCs增殖侵袭并加速其凋 亡, 增加E-cadherin、降低 N-cadherin表达, 抑制EMT。 上调circ_0007299可通过竞争 miR-424-5p提高CREB1表达抑 制异位ESCs凋亡
III/IV期子宫内膜异位症患者 异位子宫内膜(13例)和在位 子宫内膜(13例)、正常女性 子宫内膜(13例)	circ_0026129 ^[72]	—	ATP6V1A	miR-15a-5p	circ_0026129/ miR-15a-5p/ ATP6V1A	高表达; 正向调节	circ_0026129/miR-15a-5p/ATP6V1A 位于外泌体ceRNA网络中心; 上调circ_0026129增加ATP6V1A 释放, 导致EMs的发生

表1 circRNA在子宫内膜异位症中的分子调控机制(续表)

实验样本类型及数量	circRNA	基因	靶点	目标miRNA	信号通路/分子基础	在EMs中的调控	对EMs的作用
III/IV期子宫内膜异位症患者 异位子宫内膜(20例)和在位 子宫内膜(20例)、正常女性 子宫内膜(20例)	circ_0000673 ^[73]	RSL1D1	PTEN	miR-616-3p	circ_0000673/ miR-616-3p/ PTEN/PI3K/AKT	低表达; 负向调节	circ_0000673下调通过miR-616-3p/ PTEN轴促进细胞增殖、迁移
子宫内膜异位症患者(其中 I-II期11例, III-IV期17例)	circPIP5K1A ^[75]	PIP5K1	TMSB4X	miR-153-3p	circPIP5K1/ miR-153-3p/ TMSB4X轴	高表达; 正向调节	circPIP5K1A通过miR-153-3p/ TMSB4X轴激活TGF-β2, 加速EMs进展
III/IV期子宫内膜异位症患者 异位子宫内膜(15例)和在位 子宫内膜(15例)、正常女性 子宫内膜(2例)	circ_0008433 ^[60]	——	Ki67、PCNA; Bax、E-CAD; Bcl2、CDKN1B、 CyclinD1	miR-221-3p、 miR-222-3p、 miR-181-5p、 miR-449a、 miR-483-3p	——	高表达; 正向调节	抑制hsa_circ_0008433可降低子 宫内膜间质细胞集落形成和 迁移; 降低内膜间质细胞血 管生成, 促进内膜细胞凋亡

靶向 circRNA 可能成为治疗子宫内膜异位症的有效方法。研究发现 circRNAs 在子宫内膜异位症中诱导 Notch 家族不同成员 Notch-1 和 Notch-2 的表达。雌激素与 Notch 信号相互作用调节 EMs 细胞侵袭^[78]以及 Notch 通路对 EMT 的影响^[79]。因此, 阻断 Notch 信号可能是子宫内膜异位症治疗的关键点之一, circRNA-miRNA-Notch 轴在子宫内膜异位症 EMT 中的作用有待进一步研究。

另外, 未来可深入研究 circRNAs 靶向 miR-141 调控 E2 诱导的子宫内膜 EMT; 其次, 对于目前研究的单个 circRNA, 其可靠性和敏感性都亟待更多的临床研究数据证实, 应遵循在细胞、组织、个体水平上进行实验; 鉴于 EMs 相关病因机制的复杂性以及目前国内外有关研究尚处于起步的阶段, 对 circRNA 作为潜在标志物的探索仍应谨慎。今后针对 circRNA 在细胞核内的调控研究, 以及多种标志物的联合检测或许是诊断或确定不同表型的 EMs 的必要手段。

[参 考 文 献]

- [1] 中国医师协会妇产科医师分会. 中华医学会妇产科学分会子宫内膜异位症协作组. 子宫内膜异位症诊治指南(第三版). 中华妇产科杂志, 2021, 56: 812-24
- [2] Chapron C, Marcellin L, Borghese B, et al. Rethinking mechanisms, diagnosis and management of endometriosis. Nat Rev Endocrinol, 2019, 15: 666-82
- [3] Hämmerli S, Kohl Schwartz AS, Geraedts K, et al. Does endometriosis affect sexual activity and satisfaction of the man partner? A comparison of partners from women diagnosed with endometriosis and controls. J Sex Med, 2018, 15: 853-65
- [4] Bedaiwy MA, Alfaraj S, Yong P, et al. New developments in the medical treatment of endometriosis. Fertil Steril, 2017, 107: 555-65
- [5] Song SY, Park M, Lee GW, et al. Efficacy of levonorgestrel releasing intrauterine system as a postoperative maintenance therapy of endometriosis: a meta-analysis. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2018, 231: 85-92
- [6] Taylor HS, Kotlyar AM, Flores VA. Endometriosis is a chronic systemic disease: clinical challenges and novel innovations. Lancet, 2021, 397: 839-52
- [7] 周应芳, 彭超, 冷金花. 要重视子宫内膜异位症的一级和二级预防. 中华妇产科杂志, 2020, 55: 624-6
- [8] Ahn SH, Singh V, Tayade C. Biomarkers in endometriosis: challenges and opportunities. Fertil Steril, 2017, 107: 523-32
- [9] Abdollahzadeh R, Daraei A, Mansoori Y, et al. Competing endogenous RNA (ceRNA) cross talk and language in ceRNA regulatory networks: a new look at hallmarks of breast cancer. J Cell Physiol, 2019, 234: 10080-100
- [10] Huang RH, Yang Z, Liu Q, et al. CircRNA DDX21 acts as a prognostic factor and sponge of miR-1264/QKI axis to

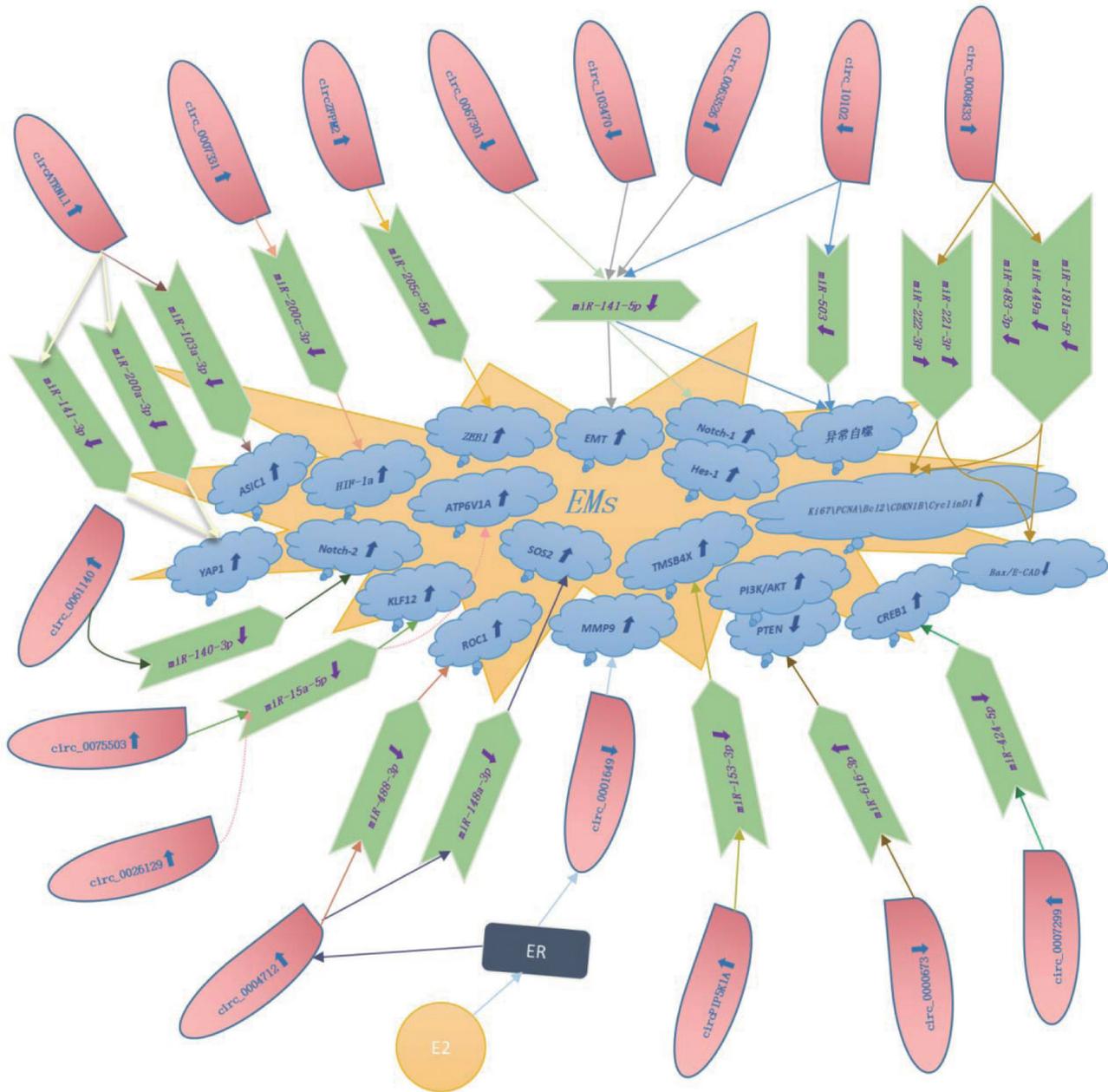


图2 各类circRNA-miRNA在EMs中的表达及调控

weaken the progression of triple-negative breast cancer. Clin Transl Med, 2022, 12: e768

- [11] Ding K, Liao YN, Chen Y, et al. Circular RNA HIPK3 promotes gallbladder cancer cell growth by sponging microRNA-124. Biochem Biophys Res Commun, 2018, 503: 863-9
- [12] Wang MN, Chen B, Ru ZX, et al. CircRNA circ-ITCH suppresses papillary thyroid cancer progression through miR-22-3p/CBL/β-catenin pathway. Biochem Biophys Res Commun, 2018, 504: 283-8
- [13] Wei H, Pan L, Tao DY, et al. Circular RNA circZFR contributes to papillary thyroid cancer cell proliferation and invasion by sponging miR-1261 and facilitating C8orf4 expression. Biochem Biophys Res Commun, 2018, 503: 56-61

- [14] Li R, Jiang JJ, Shi H, et al. CircRNA: a rising star in gastric cancer. Cell Mol Life Sci, 2020, 77: 1661-80
- [15] Huang AQ, Zheng HX, Wu ZY, et al. Circular RNA-protein interactions: functions, mechanisms, and identification. Theranostics, 2020, 10: 3503-17
- [16] Yang YB, Gao XY, Zhang ML, et al. Novel role of FBXW7 circular RNA in repressing glioma tumorigenesis. J Natl Cancer Inst, 2018, 110: 304-15
- [17] Xia X, Li XX, Li FY, et al. A novel tumor suppressor protein encoded by circular AKT3 RNA inhibits glioblastoma tumorigenicity by competing with active phosphoinositide-dependent kinase-1. Mol Cancer, 2019, 18: 131
- [18] Abdelmohsen K, Panda AC, Munk R, et al. Identification of HuR target circular RNAs uncovers suppression of

- PABPN1 translation by CircPABPN1. *RNA Biol*, 2017, 14: 361-9
- [19] Sun YM, Wang WT, Zeng ZC, et al. CircMYBL2, a circRNA from MYBL2, regulates FLT3 translation by recruiting PTBP1 to promote FLT3-ITD AML progression. *Blood*, 2019, 134: 1533-46
- [20] Chen NF, Zhao G, Yan X, et al. A novel FLII exonic circular RNA promotes metastasis in breast cancer by coordinately regulating TET1 and DNMT1. *Genome Biol*, 2018, 19: 218
- [21] Ng WL, Marinov GK, Chin YM, et al. Transcriptomic analysis of the role of RasGEF1B circular RNA in the TLR4/LPS pathway. *Sci Rep*, 2017, 7: 12227
- [22] Wang XY, Parodi L, Hawkins SM. Translational applications of linear and circular long noncoding RNAs in endometriosis. *Int J Mol Sci*, 2021, 22: 10626
- [23] Li YC, Zhao JJ, Yu SL, et al. Extracellular vesicles long RNA sequencing reveals abundant mRNA, circRNA, and lncRNA in human blood as potential biomarkers for cancer diagnosis. *Clin Chem*, 2019, 65: 798-808
- [24] Wang SM, Zhang K, Tan SY, et al. Circular RNAs in body fluids as cancer biomarkers: the new frontier of liquid biopsies. *Mol Cancer*, 2021, 20: 13
- [25] Li HM, Ma XL, Li HG. Intriguing circles: conflicts and controversies in circular RNA research. *Wiley Interdiscip Rev RNA*, 2019, 10: e1538
- [26] Sun YM, Chen YQ. Principles and innovative technologies for decrypting noncoding RNAs: from discovery and functional prediction to clinical application. *J Hematol Oncol*, 2020, 13: 109
- [27] Xin RJ, Gao Y, Gao Y, et al. isoCirc catalogs full-length circular RNA isoforms in human transcriptomes. *Nat Commun*, 2021, 12: 266
- [28] Patop IL, Wüst S, Kadener S. Past, present, and future of circRNAs. *EMBO J*, 2019, 38: e100836
- [29] Grassi L, Izuogu OG, Jorge NAN, et al. Cell type-specific novel long non-coding RNA and circular RNA in the BLUEPRINT hematopoietic transcriptomes atlas. *Haematologica*, 2021, 106: 2613-23
- [30] Carrara M, Fuschi P, Ivan C, et al. Circular RNAs: methodological challenges and perspectives in cardiovascular diseases. *J Cell Mol Med*, 2018, 22: 5176-87
- [31] Xu XX, Jia SZ, Dai Y, et al. The relationship of circular RNAs with ovarian endometriosis. *Reprod Sci*, 2018, 25: 1292-300
- [32] Xu XX, Jia SZ, Dai Y, et al. Identification of circular RNAs as a novel biomarker for ovarian endometriosis. *Chin Med J (Engl)*, 2018, 131: 559-66
- [33] Shen LC, Zhang Y, Zhou WJ, et al. Circular RNA expression in ovarian endometriosis. *Epigenomics*, 2018, 10: 559-72
- [34] Prašnikar E, Kunej T, Knez J, et al. Determining the molecular background of endometrial receptivity in adenomyosis. *Biomolecules*, 2020, 10: 1311
- [35] Smolinska N, Szeszko K, Dobrznyn K, et al. Transcriptomic analysis of porcine endometrium during implantation after *in vitro* stimulation by adiponectin. *Int J Mol Sci*, 2019, 20: 1335
- [36] Bora G, Yaba A. The role of mitogen-activated protein kinase signaling pathway in endometriosis. *J Obstet Gynaecol Res*, 2021, 47: 1610-23
- [37] Wang DD, Luo YJ, Wang GW, et al. Circular RNA expression profiles and bioinformatics analysis in ovarian endometriosis. *Mol Genet Genomic Med*, 2019, 7: e00756
- [38] Biase FH, Kimble KM. Functional signaling and gene regulatory networks between the oocyte and the surrounding cumulus cells. *BMC Genomics*, 2018, 19: 351
- [39] Wu RF, Li JJ, Li JZ, et al. Circular RNA expression profiling and bioinformatic analysis of cumulus cells in endometriosis infertility patients. *Epigenomics*, 2020, 12: 2093-108
- [40] Lin X, Dai YD, Tong XM, et al. Excessive oxidative stress in cumulus granulosa cells induced cell senescence contributes to endometriosis-associated infertility. *Redox Biol*, 2020, 30: 101431
- [41] Guo JY, Zeng HT, Li TT, et al. mRNA, lncRNA and circular RNA expression profiles in granulosa cells of infertile women with ovarian endometriosis. *Reprod Sci*, 2022, 29: 2937-46
- [42] Huo SW, Qi HR, Si YX, et al. MicroRNA 26a targets Ezh2 to regulate apoptosis in mouse ovarian granulosa cells. *Syst Biol Reprod Med*, 2021, 67: 221-9
- [43] Yin MC, Zhai LY, Wang JZ, et al. Comprehensive analysis of RNA-Seq in endometriosis reveals competing endogenous RNA network composed of circRNA, lncRNA and mRNA. *Front Genet*, 2022, 13: 828238
- [44] Bruner-Tran KL, Mokshagundam S, Herington JL, et al. Rodent models of experimental endometriosis: identifying mechanisms of disease and therapeutic targets. *Curr Womens Health Rev*, 2018, 14: 173-88
- [45] Pei DQ, Shu XD, Gassama-Diagne A, et al. Mesenchymal-epithelial transition in development and reprogramming. *Nat Cell Biol*, 2019, 21: 44-53
- [46] Dongre A, Weinberg RA. New insights into the mechanisms of epithelial-mesenchymal transition and implications for cancer. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2019, 20: 69-84
- [47] Moyret-Lalle C, Prodhomme MK, Burlet D, et al. Role of EMT in the DNA damage response, double-strand break repair pathway choice and its implications in cancer treatment. *Cancer Sci*, 2022, 113: 2214-23
- [48] Anglesio MS, Papadopoulos N, Ayhan A, et al. Cancer-associated mutations in endometriosis without cancer. *N Engl J Med*, 2017, 376: 1835-48
- [49] Konrad L, Dietze R, Riaz MA, et al. Epithelial-mesenchymal transition in endometriosis-when does it happen? *J Clin Med*, 2020, 9: 1915
- [50] Mashayekhi P, Noruzinia M, Zeinali S, et al. Endometriotic mesenchymal stem cells epigenetic pathogenesis: deregulation of miR-200b, miR-145, and let7b in a functional imbalanced epigenetic disease. *Cell J*, 2019, 21: 179-85
- [51] Xiong Y, Liu Y, Xiong WQ, et al. Hypoxia-inducible factor 1 α -induced epithelial-mesenchymal transition of

- endometrial epithelial cells may contribute to the development of endometriosis. *Hum Reprod*, 2016, 31: 1327-38
- [52] Dong L, Zhang L, Liu H, et al. Circ_0007331 knock-down suppresses the progression of endometriosis via miR-200c-3p/HiF-1 α axis. *J Cell Mol Med*, 2020, 24: 12656-66
- [53] Wang DD, Cui LY, Yang Q, et al. Circular RNA circZFPM2 promotes epithelial-mesenchymal transition in endometriosis by regulating miR-205-5p/ZEB1 signalling pathway. *Cell Signal*, 2021, 87: 110145
- [54] Zhang MM, Wang SX, Tang L, et al. Downregulated circular RNA hsa_circ_0067301 regulates epithelial-mesenchymal transition in endometriosis via the miR-141/Notch signaling pathway. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 514: 71-7
- [55] Wang DD, Luo YJ, Wang GW, et al. CircATRNL1 promotes epithelial-mesenchymal transition in endometriosis by upregulating Yes-associated protein 1 *in vitro*. *Cell Death Dis*, 2020, 11: 594
- [56] Chen XY, Liu M. CircATRNL1 increases acid-sensing ion channel 1 to advance epithelial-mesenchymal transition in endometriosis by binding to microRNA-103a-3p. *Reprod Biol*, 2022, 22: 100643
- [57] Yang HL, Mei J, Chang KK, et al. Autophagy in endometriosis. *Am J Transl Res*, 2017, 9: 4707-25
- [58] Zhang MM, Ren CT, Xiao YN, et al. Expression profile analysis of circular RNAs in ovarian endometriosis by microarray and bioinformatics. *Med Sci Monit*, 2018, 24: 9240-50
- [59] Wei ZM, Hu Y, He X, et al. Knockdown hsa_circ_0063526 inhibits endometriosis progression via regulating the miR-141-5p / EMT axis and downregulating estrogen receptors. *Aging (Albany NY)*, 2021, 13: 26095-117
- [60] Jiang N, Pan WW, Li JH, et al. Upregulated circular RNA hsa_circ_0008433 regulates pathogenesis in endometriosis via miRNA. *Reprod Sci*, 2020, 27: 2002-17
- [61] Delbandi AA, Mahmoudi M, Shervin A, et al. Evaluation of apoptosis and angiogenesis in ectopic and eutopic stromal cells of patients with endometriosis compared to non-endometriotic controls. *BMC Womens Health*, 2020, 20: 3
- [62] Madjid TH, Jumadi, Judistiani RTD, et al. Detection of endometriosis using immunocytochemistry of P450 aromatase expressions in eutopic endometrial cells obtained from menstrual sloughing: a diagnostic study. *BMC Res Notes*, 2020, 13: 233
- [63] Garzon S, Laganà AS, Barra F, et al. Aromatase inhibitors for the treatment of endometriosis: a systematic review about efficacy, safety and early clinical development. *Expert Opin Investig Drugs*, 2020, 29: 1377-88
- [64] Rotenberg O, Kuo DYS, Goldberg GL. Use of aromatase inhibitors in menopausal deep endometriosis: a case report and literature review. *Climacteric*, 2022, 25: 235-9
- [65] Liu D, Liang YC, Chen M, et al. Knockdown of circ_0075503 suppresses cell migration and invasion by regulating miR-15a-5p and KLF12 in endometriosis. *Mol Cell Biochem*, 2021, 476: 3845-56
- [66] Zhang YW, Yan J, Pan XW. miR-141-3p affects apoptosis and migration of endometrial stromal cells by targeting KLF-12. *Pflugers Arch*, 2019, 471: 1055-63
- [67] Li Q, Li N, Liu HW, et al. Estrogen-decreased hsa_circ_0001649 promotes stromal cell invasion in endometriosis. *Reproduction*, 2020, 160: 511-9
- [68] He X, Liu NN, Mu TY, et al. Oestrogen induces epithelial-mesenchymal transition in endometriosis via circ_0004712/miR-148a-3p sponge function. *J Cell Mol Med*, 2020, 24: 9658-66
- [69] Huang ZX, Mao XM, Wu RF, et al. RhoA/ROCK pathway mediates the effect of oestrogen on regulating epithelial-mesenchymal transition and proliferation in endometriosis. *J Cell Mol Med*, 2020, 24: 10693-704
- [70] Xu K, Chen Y, Li SF, et al. Circ_0004712 promotes endometriotic epithelial cell proliferation, migration and invasion by regulating miR-488-3p/ROCK1 axis *in vitro*. *Reprod Biol*, 2022, 22: 100667
- [71] Sun H, Li D, Yuan M, et al. Macrophages alternatively activated by endometriosis-exosomes contribute to the development of lesions in mice. *Mol Hum Reprod*, 2019, 25: 5-16
- [72] Wu JN, Fang XL, Huang HY, et al. Construction and topological analysis of an endometriosis-related exosomal circRNA-miRNA-mRNA regulatory network. *Aging (Albany NY)*, 2021, 13: 12607-30
- [73] Yang YW, Ban DY, Zhang C, et al. Downregulation of circ_0000673 promotes cell proliferation and migration in endometriosis via the miR-616-3p/PTEN axis. *Int J Med Sci*, 2021, 18: 3506-15
- [74] Xu AC, Jiang MX, Li SS, et al. Down-regulation of circ_0061140 attenuates ectopic endometrial cell proliferation, migration and invasion in endometriosis via inactivating Notch2. *Gene*, 2020, 757: 144926
- [75] Sun L, Wei Y, Wang JL. Circular RNA PIP5K1A (circPIP5K1A) accelerates endometriosis progression by regulating the miR-153-3p/Thymosin Beta-4 X-Linked (TMSB4X) pathway. *Bioengineered*, 2021, 12: 7104-18
- [76] Long QQ, Liu XS, Guo SW. Early maternal separation accelerates the progression of endometriosis in adult mice. *Reprod Biol Endocrinol*, 2020, 18: 63
- [77] Mao HY, Zhang XH, Yin L, et al. Silencing of circ_0007299 suppresses proliferation, migration, and invasiveness and promotes apoptosis of ectopic endometrial stromal cells in endometriosis via miR-424-5p-dependent modulation of CREB1. *Arch Gynecol Obstet*, 2023, 307: 149-61
- [78] Li N, Zhang L, Li Q, et al. Notch activity mediates oestrogen-induced stromal cell invasion in endometriosis. *Reproduction*, 2018, 157: 371-81
- [79] Luo YJ, Wang DD, Chen SL, et al. The role of miR-34c-5p/Notch in epithelial-mesenchymal transition (EMT) in endometriosis. *Cell Signal*, 2020, 72: 109666