

环状 RNA 作为肝细胞癌诊断和预后的生物标志物：一项荟萃分析



冀欠欠¹, 陈道俊^{1,2,*}, 杨梅艳¹, 张慧影¹

¹ 安徽医科大学公共卫生学院, 安徽合肥 230032

² 安徽医学高等专科学校医学技术学院, 安徽合肥 230601

摘要: 因为肝细胞癌 (HCC) 早期诊断困难, 缺乏预后评估方法, 因此高发病率、高复发率和高死亡率使其成为癌症相关负担和死亡的主要原因。本荟萃分析旨在评估通过综合敏感性、特异性和总生存期 (OS) 来评估 CircRNA 在 HCC 诊断和预后中的效果。PubMed 和 Web of Science 的检索截止到 2023 年 3 月, 最终检索到诊断 31 篇, 预后 37 例。结果显示诊断准确率中等, CircRNAs 上调的敏感性、特异性和曲线下面积 (AUC) 分别为 0.81 (0.73 ~ 0.87)、0.84 (0.74 ~ 0.91) 和 0.90 (0.87 ~ 0.92); 下调值分别为 0.79 (0.70 ~ 0.85)、0.79 (0.73 ~ 0.83)、0.85 (0.81 ~ 0.88)。对于预后, 下调的 CircRNAs 与更好的 OS 相关 (HR: 0.41, 0.33 ~ 0.51), 而上调的 CircRNAs 对 OS 有负面影响 (HR: 1.77, 1.48 ~ 2.12)。综上 CircRNA 具有较高的诊断准确性, 也可作为 HCC 预后的重要生物标志物。

关键词: 环状 RNA; 肝细胞癌; 生物标志物; 诊断; 预后

DOI: [10.57237/j.mrf.2023.04.003](https://doi.org/10.57237/j.mrf.2023.04.003)

Circular RNAs as Diagnostic and Prognostic Biomarkers of Hepatocellular Carcinoma: A Meta-analysis

Qianqian Ji¹, Daojun Chen^{1,2,*}, Meiyan Yang¹, Huiying Zhang¹

¹School of Public Health, Anhui Medical University, Hefei 230032, China

²School of Medical Technology, Anhui Medical College, Hefei 230601, China

Abstract: High morbidity, recurrence and mortality make hepatocellular carcinoma (HCC) a leading cause of cancer-related burden and deaths. However, HCC is still hard to diagnose at an early stage and lack of prognostic evaluation methods. This meta-analysis aims to assess the overall value of circRNA in HCC diagnosis and prognosis. PubMed and Web of Science were searched up to March 2023. The diagnostic and prognostic effect were evaluated by the pooled sensitivity, specificity, and overall survival (OS). In total, 31 for diagnosis and 37 for prognosis were finally included. For diagnosis, the pooled sensitivity, specificity, and the area under curve (AUC) were 0.81 (0.73-0.87), 0.84 (0.74-0.91), and 0.90 (0.87-0.92) for upregulation; and 0.79 (0.70-0.85), 0.79 (0.73-0.83) and 0.85 (0.81-0.88) for downregulation

基金项目: 安徽高校自然科学基金项目基金 (KJ2019A0229);

安徽医学高等专科学校王建华科研创新团队项目基金 (WJH2022004t).

*通信作者: 陈道俊, daodaodao1978@163.com

收稿日期: 2023-08-29; 接受日期: 2023-10-07; 在线出版日期: 2023-10-09

<http://www.medresfront.com>

respectively, indicating moderate diagnostic accuracy. For prognosis, downregulated circRNAs were associated with better OS (HR: 0.41, 95% CI: 0.33-0.51), while upregulated circRNAs had a negative influence on OS (HR: 1.77, 1.48-2.12). The circRNA has high diagnostic accuracy and can be used as an important biomarker to prognosticate HCC.

Keywords: Circular RNA; Biomarker; HCC; Diagnosis; Prognosis

1 引言

肝细胞癌 (HCC) 是最常见的原发性肝癌 (占病例的 75-85%), 也是世界上继肺癌、结直肠癌和胃癌之后的第四大癌症相关死亡原因[1]。HCC 是一种高致死率的肿瘤, 大多数病例在晚期才被发现, 发病率与死亡率之比接近 1。例如, 2015 年约有 85.4 万例肝癌新发病例, 而全世界每年约有 81 万例肝癌相关死亡[2]。

HCC 高危人群管理中的一个主要问题是早期诊断检测的敏感性[1]。研究表明, 早期诊断的患者可早期治疗, 预后良好, 5 年生存率>70%[3]。目前, 活检的组织学评估仍然是癌症组织检测的金标准[4, 5], 虽然肝活检具有较高的敏感性和特异性, 是最可靠的诊断方法, 但由于其侵袭性和不良反应, 在临床中的应用仍受到限制。此外, 未能识别转移和复发高危患者也导致 HCC 患者预后不理想。因此众多学者一直致力于研究特定生物标志物作为 HCC 早期诊断和预后工具。环状 RNA (CircRNA) 是一种新型的内源性非编码 RNA, 由蛋白质编码 mRNA 或线性非编码 RNA“反向剪接”产生, 它们连接上游 3'剪接位点和下游 5'剪接位点, 形成共价封闭的环状结构[6-8]。它们高度稳定、丰富、保守, 参与多种生理病理过程, 可能是癌症发生的关键因素。目前, Fathial 等人[9]发现 has_circ_0064286 可作为 HCC 诊断的潜在生物标志物 (AUC=0.97)。此外, 上调的 hsa_circ_0001020 与侵袭性特征显著相关, 可能是 HCC 患者总生存期 (OS) 的一个危险因素[10]。此前, 一些已发表的荟萃分析报道了 circRNA 对 HCC 的诊断和预后价值[11-14]。然而纳入的研究和患者相对较少, 并且缺乏该领域的最新研究数据。因此, 我们进行了这项荟萃分析, 以总结 CircRNA 的失调与 HCC 的诊断和预后之间的关系。

2 方法

2.1 搜索策略

根据系统评价和荟萃分析首选报告项目 (PRISMA) 报告指南[15]进行。在 PubMed, Web of Science, Embase,

知网和万方数据库中进行了全面的文献检索, 直到 2023 年 3 月。搜索词组包括: “(“CircRNA” or “Closed Circular RNA” or “Circular RNA, Closed” or “RNA, Closed Circular” or “Circular RNA” or “RNAs, Circular” or “Circular RNAs” or “CircRNA” or “Circular Intronic RNA” or “Intronic RNA, Circular” or “RNA, Circular Intronic” or “ciRNA”) and (“liver cancer” or “liver tumor” or “liver carcinoma” or “liver neoplasia” or “hepatocellular carcinoma” or “HCC”) and (“diagnosis” or “prognosis” or “biomarker”)”。我们还手动检索了所有相关综述和 meta 分析的参考文献。

2.2 纳入和排除标准

符合条件的研究和纳入研究的数据由两位作者 (冀欠欠和杨梅艳) 独立识别和提取。如有异议, 由评审资深作者 (陈道俊) 指导解决。具有以下特征的研究被认为符合纳入标准: (1) 经病理证实诊断的 HCC 患者; (2) 分析 CircRNA 与 HCC 的相关性; (3) 对于诊断, 可获得样本总数、失调环状 RNA、敏感性、特异性和曲线下面积 (AUC) 等数据; 对于预后, 可提取出风险比 (HR) 及其 95% 可信区间 (CI) [16]; 具有以下一个或多个特征的研究被排除: (1) 重复的文章; (2) 动物实验、病例报告、信函、综述、meta 分析、社论、会议摘要; (3) 在研究中与 CircRNA 或 HCC 无关; (4) 数据缺失。

2.3 数据提取和质量评价

提取以下数据: 第一作者、发表年份、国家、样本量、CircRNA 类型、CircRNA 上调和下调的表达、样本类型、敏感性、特异性和 AUC, 然后计算真阳性、假阳性、假阴性和真阴性的值; 在预后分析中, 提取随访时间和 OS 等结果。采用诊断准确性研究质量评估 2 (QUADAS-2) 进行评估纳入的诊断研究的质量, 其中包括以下四个领域: 患者选择、指标测试、参考标准、流程和时机[17]。同时, 采用 Newcastle-Ottawa Scale (NOS) [18] 对纳入的预后研究的质量进行评估,

评分 ≥ 6 分为高质量。

2.4 统计分析

采用 RevMan5.4 和 Stata12.0 进行统计分析。合并优势比 (ORs) 和其 95% CI 用于评估敏感性、特异性和诊断优势比 (DOR); 建立接收者操作特征曲线 (sROC), 计算 95% CI 的 AUC [19, 20]; HR 和 95% CI 评价 OS。采用不一致指数 (I^2) 检验评价研究间的异质性[21]。当 $I^2 < 50\%$ 选择固定效应模型, $I^2 > 50\%$ 选择随机效应模型。进行亚组分析和元回归来探讨异质性的来源, 并通过敏感性分析来评估结果的稳健性。最后采用 Deeks's 和 Begg's 漏斗图分析潜在发表偏倚 [22, 23], $P > 0.05$ 表示无潜在发表偏倚。所有检验均为双侧检验, $P < 0.05$ 认为有统计学意义。

3 结果

3.1 纳入研究的描述

如图 1 所示, 从 PubMed、Embase、Web of Science 和中文数据库中初步筛选出 2016 篇文章, 剔除重复研究后仍有 851 篇。通过筛选标题和摘要, 1003 篇文章因动物实验、非 CircRNA 或 HCC、综述和 meta 文章以及其他与我们主题无关的文章被进一步排除; 经过全文评估后, 93 篇论文因非诊断性测试和数据不完整而被排除。最终, 共有 69 篇符合纳入标准, 包括 32 项诊断研究 (16 项研究表达上调的 CircRNA [24-37], 16 项研究表达下调的 CircRNA [9, 38-46]) 和 37 项预后研究 (28 项研究表达上调的 CircRNA [10, 32, 35, 47-67], 9 项研究表达表达下调的 CircRNA [40, 68-75])。

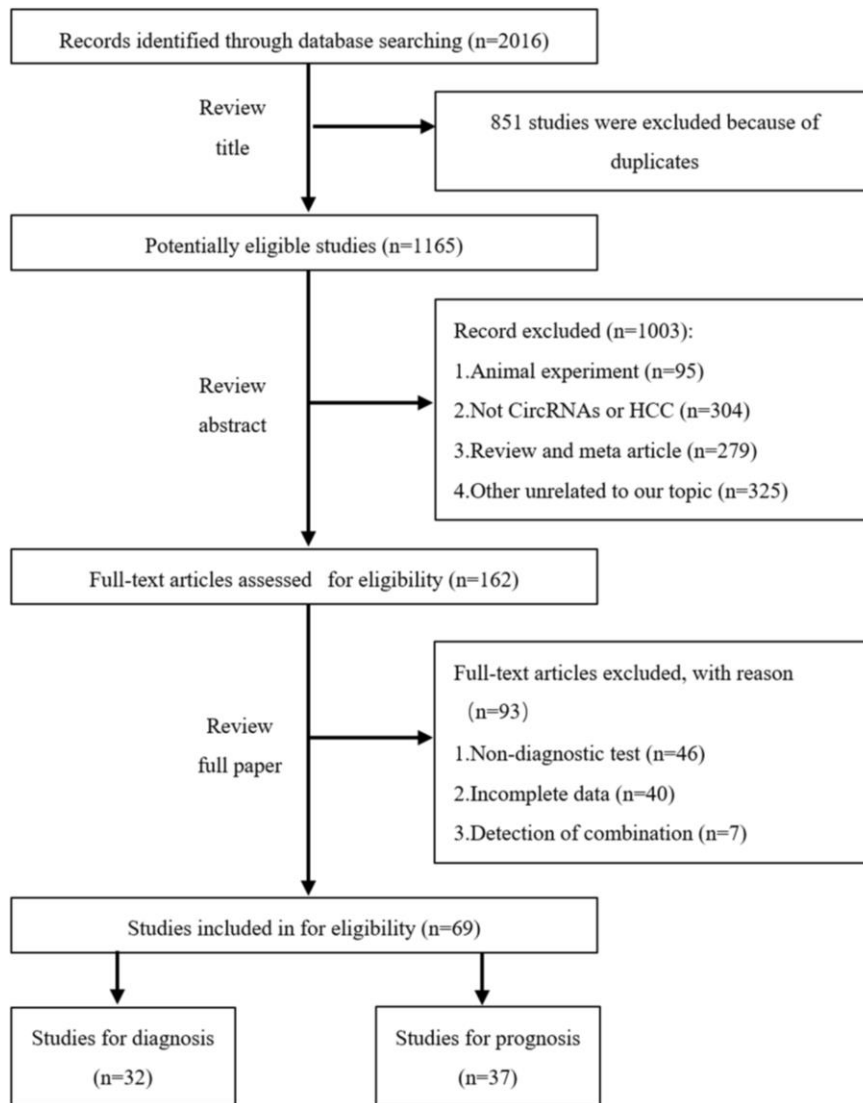


图 1 研究搜索和选择流程图

3.2 CircRNAs 的诊断 meta 分析

3.2.1 研究特点及质量评价

表 1 总结了每个符合条件的研究的主要特征。32 项符合条件的研究描述了 16 种上调的 circRNA 和 16

种下调的 CircRNA 作为 HCC 的诊断生物标志物；出版年份从 2016 年到 2022 年不等；采用 qRT-PCR 检测其表达；样本类型包括血浆、血清和组织。我们通过 QUADAS-2 工具对纳入的研究进行质量评估，结果表明入选研究的质量相对较高。

表 1 circRNAs 诊断荟萃分析纳入研究的主要特征

Study	Year	Country	CircRNAs	Sample size (case/control)	Control type	Altered expression	Sample type	Sen. ^c (%)	Spe. ^f (%)	AUC	Re ^g
Zhang	2022	China	circ_0006091	52/52	Adj ^d	up	tissue	86.50	80.80	0.87	24
Imanishi1	2022	Japan	circ_0000471	16/16	Adj	up	tissue	68.80	100.00	0.74	25
Li	2021	China	circ_0070396	111/162	HP ^a &CH ^b &CIRR ^c	up	plasma	78.18	63.33	0.76	26
Zhu	2021	China	circ-0004277	60/60	HP	up	plasma.	58.30	96.70	0.82	27
Liu	2021	China	circ_0005397	89/119	HP	up	plasma	82.00	58.80	0.74	28
Guo	2021	China	circ_0006602	87/30	HP	up	plasma	77.00	93.30	0.91	29
Zhu	2020	China	circ_0027089	64/72	HP	up	plasma	57.81	84.70	0.87	30
Sun1	2020	China	circ_0004001	21/32	HP	up	serum	76.19	81.25	0.79	31
Sun2	2020	China	circ_0004123	21/32	HP	up	serum	66.67	84.38	0.73	31
Sun3	2020	China	circ_0075792	21/32	HP	up	serum	80.95	68.75	0.76	31
Qiao	2019	China	circ_0003998	100/50	HP	up	plasma	80.00	84.00	0.89	32
Zhang	2018	China	circ_104075	101/60	HP	up	serum	96.00	98.30	0.97	33
Zhang	2018	China	circ_0091579	30/30	Adj	up	tissue	97.00	40.00	0.66	34
Chen	2018	China	circ_0128298	78/78	Adj	up	tissue	72.00	82.00	0.67	35
Matboli2	2018	Egypt	circ_000224	68/32	HP	up	serum	95.60	92.70	0.97	36
Shang	2016	China	circ_0005075	30/30	Adj	up	tissue	83.30	90.00	0.94	37
Imanishi2	2022	Japan	circ_0001438	16/16	Adj	down	tissue	100.00	75.00	0.94	25
Imanishi3	2022	Japan	circ_ZKSCAN1	16/16	Adj	down	tissue	87.50	100.00	0.96	25
Wang	2021	China	circ_0028861	56/57	CH	down	serum	76.79	78.95	0.83	38
Fathia1	2021	Egypt	circ_0064286	60/25	HP	down	serum	88.30	96.00	0.97	9
Fathia2	2021	Egypt	circ_0000475	60/25	HP	down	serum	78.30	56.00	0.68	9
Li	2019	China	circSMARCA5	135/103	HP	down	plasma	86.67	89.32	0.94	39
Jiang1	2019	China	circ_0028502	100/70	CIRR&CH	down	tissue	58.00	72.00	0.68	40
Jiang2	2019	China	circ_0076251	100/70	CIRR&CH	down	tissue	64.00	71.00	0.74	40
Zhang	2018	China	circ_0001445	104/52	HP	down	plasma	94.00	71.00	0.86	41
Yao	2018	China	circ_0068669	100/100	Adj	down	tissue	64.00	71.00	0.64	42
Matboli1	2018	Egypt	circ_00156	68/32	HP	down	serum	73.53	82.29	0.84	36
Matboli3	2018	Egypt	circ_000520	68/32	HP	down	serum	97.10	89.60	0.73	36
Fu	2017	China	circ_0003570	107/137	CIRR&CH	down	tissue	44.90	86.80	0.70	43
Fu	2017	China	circ-0004018	102/152	Adj&CH	down	tissue	71.60	81.50	0.85	44
Yao	2017	China	circZKSCAN1	102/102	Adj	down	tissue	82.20	72.40	0.83	45
Qin	2016	China	circ-0001649	89/89	Adj	down	tissue	81.00	69.00	0.63	46

HP^a: Health person; CH^b: Chronic hepatitis; CIRR^c: Cirrhosis; Adj^d: Adjacent non-tumor tissues; Sen.^c: Sensitivity; Spe.^f: Specificity; Re^g: Reference

3.2.2 汇总诊断性能

采用随机效应模型 ($I^2 > 50\%$ 或 $P < 0.10$) 估计合

并效应。HCC 中 CircRNA 上调的总敏感性 (图 2.a)、特异性 (图 2.b)、PLR (图 2.c)、NLR (图 2.d)、DOR (表 2) 和 AUC (图 4.c) 及其 95%CI 分别为 0.81

(0.74-0.87)、0.85 (0.76-0.91)、5.44 (3.33-8.88)、0.22 (0.16-0.31)、18.13 (10.31-31.87) 和 0.90 (0.87-0.92); HCC 中下调 CircRNA 的总敏感性(图 3.a)、特异性(图 3.b)、PLR (图 3.c)、NLR (图 3.d)、DOR (表 3) 和 AUC (图 4.d) 及其 95%CI 分别为 0.81 (0.72-0.88)、

0.80 (0.74-0.85)、3.99 (2.94-5.40)、0.24 (0.15-0.37)、11.72 (7.06-19.45) 和 0.87 (0.83-0.89)。这些结果共同表明, 在 HCC 检测中, 上调和下调 CircRNA 的诊断准确性均相对较高。

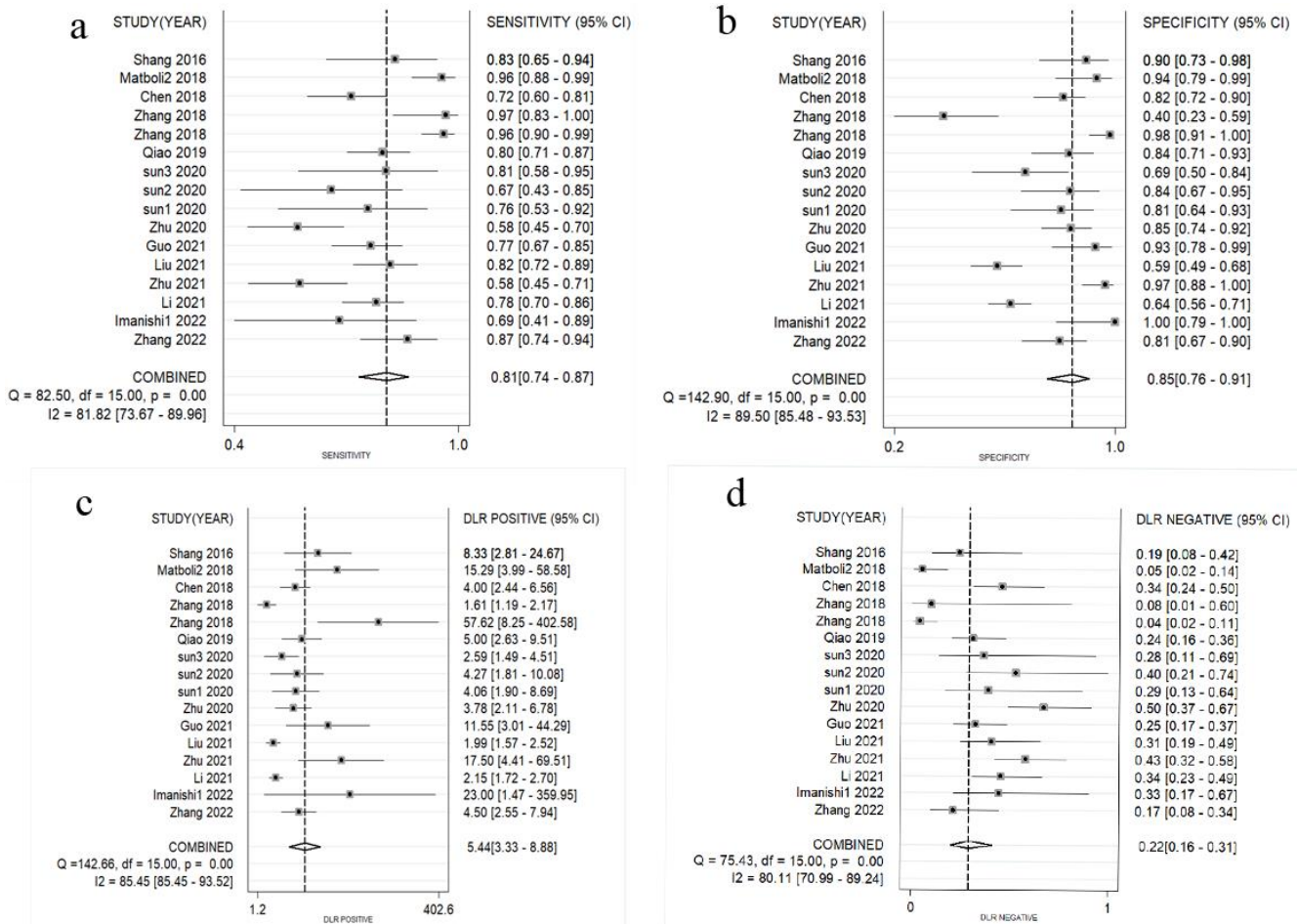


图2 表达上调的 circRNAs 用于 HCC 诊断的森林图。敏感性(a); 特异性(b); DLR 阳性(c); DLR 阴性(d)。

3.2.3 亚组分析和元回归分析

为了探索异质性的来源, 根据国家、标本类型、对照类型和样本量进行了元回归和亚组分析。如表 2 所示, 上的 CircRNA 中, 比非中国的 CircRNA 更有效地区分来自中国的 HCC (AUC: 0.86 vs 0.50)。此外, 根据 meta 回归的结果, 样本类型、对照类型和大小与纳入研究的异质性无关 ($P>0.05$)。对于 CircRNA 下调的研究, 随后的亚组分结果分析显示, 非中国亚组 AUC 较高, 其诊断效果优于中国亚组 (0.96, 95% CI: 0.93-0.99); 健康人 (HP) 亚组 AUC 较高, 其诊断效果优于非 HP 亚组 (0.95, 95% CI: 0.91-0.99)。在按标

本类型分层分析中, 血清或血浆 CircRNAs 表达下调检测 HCC 比组织标本检测更准确, 灵敏度更高 (0.88, 95% CI: 0.85-0.91), 特异性更高 (0.82, 95% CI: 0.77-0.86)。使用血液样本诊断准确率非常高 (AUC=0.93)。这表明使用下调的 CircRNA 诊断非中国、血液样本和 HP 组的 HCC 比诊断中国、组织和非 HP 组的 HCC 更可靠。表 3 显示了亚组分析的详细结果。最后, meta 回归结果显示, 样本量不能解释异质性的来源 ($P>0.05$)。尽管如此, 国家类型 (RDOR: 10.24, 95% CI: 1.09-96.38, $P=0.0431$)、对照类型 (RDOR: 0.13, 95% CI: 0.03-0.58, $P=0.0177$) 和标本类型 (RDOR: 0.36, 95% CI: 0.17-0.76, $P=0.0177$) 可能与异质性有关。

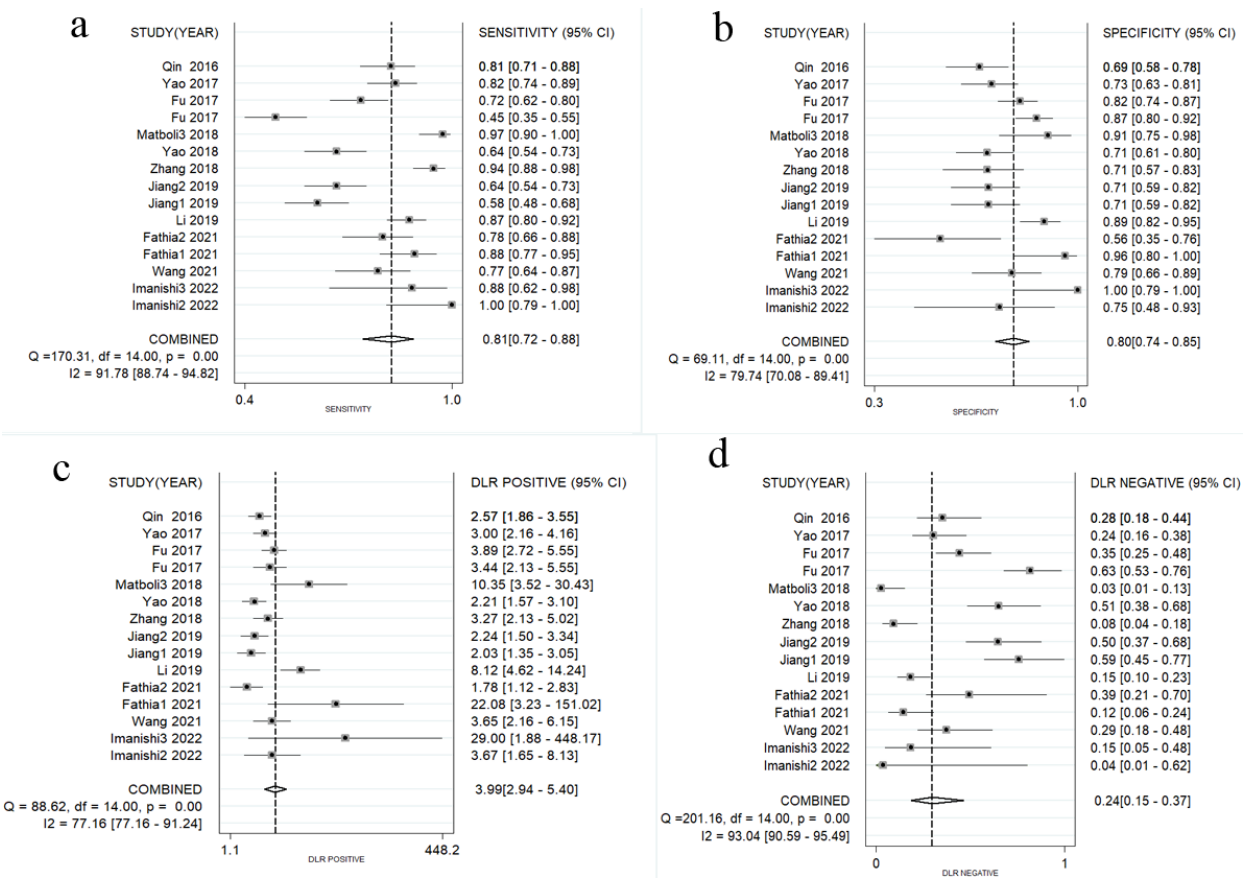


图 3 表达下调的 circRNAs 用于 HCC 诊断的森林图。敏感性(a)；特异性(b)；DLR 阳性(c)；DLR 阴性(d)。

表 2 上调的 circs RNAs 诊断荟萃分析的亚组分析和单变量 meta 回归结果

Subgroup	Sensitivity (95%CI) ^f	Specificity (95%CI)	PLR ^a (95%CI)	NLR ^b (95%CI)	DOR ^c (95%CI)	AUC ^d (95%CI)	RDOR ^e (95%CI)	P
Country								
China	0.73 (0.70-0.75)	0.78 (0.75-0.81)	3.16 (2.54-3.94)	0.32 (0.23-0.44)	10.69 (6.36-17.97)	0.84 (0.81-0.87)	2.34 (0.49-11.19)	0.2588
Non-China	0.89 (0.84-0.93)	0.83 (0.75-0.90)	6.43 (1.94-21.26)	0.12 (0.05-0.32)	75.94 (8.37-689.07)	0.96 (0.93-0.99)		
Specimen type								
plasma or serum	0.88 (0.85-0.91)	0.82 (0.77-0.86)	4.72 (2.52-8.85)	0.15 (0.09-0.27)	36.29 (12.04-109.31)	0.93 (0.89-0.97)	0.36 (0.17-0.76)	0.0177
tissue	0.68 (0.65-0.71)	0.77 (0.74-0.80)	2.86 (2.34-3.51)	0.38 (0.28-0.50)	8.13 (5.13-12.88)	0.81 (0.78-0.84)		
Control type								
HP	0.89 (0.86-0.92)	0.83 (0.77-0.87)	5.25 (2.32-11.90)	0.13 (0.07-0.25)	47.94 (12.53-183.5)	0.95 (0.91-0.99)	0.13 (0.03-0.58)	0.0177
Non-HP	0.68 (0.65-0.71)	0.77 (0.74-0.80)	2.82 (2.37-3.35)	0.39 (0.30-0.51)	7.54 (5.02-11.32)	0.80 (0.78-0.83)		
Sample size								
N<160	0.89 (0.85-0.92)	0.79 (0.73-0.84)	4.22 (2.42-7.36)	0.14 (0.07-0.27)	43.39 (12.93-145.55)	0.94 (0.91-0.97)	0.21 (0.04-1.07)	0.0587
N≥160	0.69 (0.66-0.73)	0.78 (0.75-0.81)	2.99 (2.31-3.87)	0.38 (0.27-0.53)	8.23 (4.73-14.32)	0.82 (0.78-0.85)		
Overall results	0.81 (0.72-0.88)	0.80 (0.74-0.85)	3.99 (2.94-5.40)	0.24 (0.15-0.37)	11.72 (7.06-19.45)	0.87 (0.83-0.89)		

PLR^a: Positive likelihood ratio; NLR^b: Negative likelihood ratio; DOR^c: Diagnostic odds ratio; AUC^d: Area under the SROCcurve; RDOR^e: Relative diagnostic odds ratio; CI^f: Confidence interval; HP^e: Healthy people

表 3 下调的 circs RNAs 诊断荟萃分析的亚组分析和单变量 meta 回归结果

Subgroup	Sensitivity (95%CI ^f)	Specificity (95%CI)	PLR ^a (95%CI)	NLR ^b (95%CI)	DOR ^c (95%CI)	AUC ^d (95%CI)	RDOR ^e (95%CI)	P
Country								
China	0.73 (0.70-0.75)	0.78 (0.75-0.81)	3.16 (2.54-3.94)	0.32 (0.23-0.44)	10.69 (6.36-17.97)	0.84 (0.81-0.87)	2.34 (0.49-11.19)	0.2588
Non-China	0.89 (0.84-0.93)	0.83 (0.75-0.90)	6.43 (1.94-21.26)	0.12 (0.05-0.32)	75.94 (8.37-689.07)	0.96 (0.93-0.99)		
Specimen type								
plasma or serum	0.88 (0.85-0.91)	0.82 (0.77-0.86)	4.72 (2.52-8.85)	0.15 (0.09-0.27)	36.29 (12.04-109.31)	0.93 (0.89-0.97)	0.36 (0.17-0.76)	0.0177
tissue	0.68 (0.65-0.71)	0.77 (0.74-0.80)	2.86 (2.34-3.51)	0.38 (0.28-0.50)	8.13 (5.13-12.88)	0.81 (0.78-0.84)		
Control type								
HP	0.89 (0.86-0.92)	0.83 (0.77-0.87)	5.25 (2.32-11.90)	0.13 (0.07-0.25)	47.94 (12.53-183.5)	0.95 (0.91-0.99)	0.13 (0.03-0.58)	0.0177
Non-HP	0.68 (0.65-0.71)	0.77 (0.74-0.80)	2.82 (2.37-3.35)	0.39 (0.30-0.51)	7.54 (5.02-11.32)	0.80 (0.78-0.83)		
Sample size								
N<160	0.89 (0.85-0.92)	0.79 (0.73-0.84)	4.22 (2.42-7.36)	0.14 (0.07-0.27)	43.39 (12.93-145.55)	0.94 (0.91-0.97)	0.21 (0.04-1.07)	0.0587
N≥160	0.69 (0.66-0.73)	0.78 (0.75-0.81)	2.99 (2.31-3.87)	0.38 (0.27-0.53)	8.23 (4.73-14.32)	0.82 (0.78-0.85)		
Overall results	0.81 (0.72-0.88)	0.80 (0.74-0.85)	3.99 (2.94-5.40)	0.24 (0.15-0.37)	11.72 (7.06-19.45)	0.87 (0.83-0.89)		

PLR^a: Positive likelihood ratio; NLR^b: Negative likelihood ratio; DOR^c: Diagnostic odds ratio; AUC^d: Area under the SROC curve; RDOR^e: Relative diagnostic odds ratio; CI^f: Confidence interval; HP^g: Healthy people

表 4 circRNAs 预后荟萃分析纳入研究的主要特征

Author	Year	Country	CircRNA	Case	Low	High	Altered expression
Zhang	2022	China	circ_0000615	202	101	101	up
Zhang	2022	China	circMED27	150	75	75	up
Yuki1	2021	Japan	circ_0001020	220	122	98	up
Yuki2	2021	Japan	circ_0036683	206	36	170	up
Yuki3	2021	Japan	circ_0058087	195	25	170	up
Liu	2021	China	circWDR25	288	197	91	up
Li1	2021	China	circ_0004913	150	75	75	up
Li2	2021	China	circ_0008160	150	75	75	up
Li3	2021	China	circ_0000517	150	75	75	up
Lin	2021	China	circRPS16	25	12	13	up
Cheng	2020	China	circ_0016788	278	139	139	up
Zhao	2020	China	circHOMER1	80	40	40	up
Zhou	2020	China	circ_101237	234	86	148	up
Zhang	2020	China	circUHRF1	240	120	120	up
Sun	2020	China	circ_0005394	82	41	41	up
Huang	2020	China	circMET	209	138	71	up
Wang	2019	China	circ_0000517	60	30	30	up
Pan	2019	China	circ_0000267	59	27	32	up
Liu	2019	China	circ_0021093	82	41	41	up
Yang	2019	China	circ-BIRC6	55	27	28	up
Sun	2019	China	circPCNX	70	35	35	up
Qiao	2019	China	circ_0003998	200	100	100	up
Zhang	2018	China	circ_0008450	70	33	37	up
Li	2018	China	circ-101368	51	25	26	up
Yu	2018	China	cSMARCA5	163	85	78	up
Liu	2018	China	circ_001569	70	30	40	up
Chen	2018	China	circ_0128298	78	39	39	up
Huang	2017	China	circ_100338	80	51	29	up
Jiang	2022	China	circ_0003570	121	45	76	down

Author	Year	Country	CircRNA	Case	Low	High	Altered expression
Chen	2021	China	circEPB41L2	100	50	50	down
Gyeonghwa	2021	Korea	circ_0005986	123	55	68	down
Zhang	2021	China	circTRIM33-12	200	116	84	down
Jiang	2019	China	circ_0076251	100	50	50	down
Zhang	2018	China	circ_0001649	77	15	62	down
Zhong	2018	China	circC3P1	47	23	24	down
Guo	2017	China	circ-ITCH	288	144	144	down
Han	2017	China	circMTO1	116	58	58	down

表 4 circRNAs 预后荟萃分析纳入研究的主要特征（续）

Author	Out-come	Follow-up (m)	HR ^b (95%CI)	Analysis method	NOS	Re ^c
Zhang	OS ^a	60	2.84 (1.32-4.57)	M ^d	8	47
Zhang	OS	60	2.31 (1.43-2.88)	M	8	48
Yuki1	OS	24	1.54 (1.07-2.21)	KM ^c	7	10
Yuki2	OS	24	1.84 (1.18-2.86)	KM	7	10
Yuki3	OS	24	1.64 (1.02-2.67)	KM	7	10
Liu	OS	45.8	1.92 (1.25-2.94)	M	8	49
Li1	OS	60	0.60 (0.40-0.88)	KM	7	50
Li2	OS	60	0.80 (0.55-1.18)	KM	7	50
Li3	OS	60	1.34 (0.92-1.97)	KM	7	50
Lin	OS	120	1.68 (1.16-2.44)	M	6	51
Cheng	OS	60	2.08 (1.57-2.75)	KM	8	52
Zhao	OS	60	2.26 (1.35-3.79)	KM	7	53
Zhou	OS	60	3.29 (2.63-8.54)	KM	8	54
Zhang	OS	60	1.34 (0.94-2.04)	M	8	55
Sun	OS	60	2.20 (1.32-3.69)	KM	7	56
Huang	OS	62	1.48 (1.02-2.14)	M	8	57
Wang	OS	27	5.27 (0.69-40.36)	KM	6	58
Pan	OS	60	2.64 (1.43-4.87)	KM	8	59
Liu	OS	60	2.33 (1.38-3.92)	KM	7	60
Yang	OS	60	2.82 (1.22-5.03)	KM	8	61
Sun	OS	60	2.50 (1.09-5.76)	M	6	62
Qiao	OS	60	0.60 (0.42-0.86)	KM	8	32
Zhang	OS	60	2.18 (1.26-3.76)	KM	7	63
Li	OS	60	3.25 (1.10-9.59)	M	6	64
Yu	OS	60	1.67 (1.08-2.59)	KM	7	65
Liu	OS	60	2.42 (1.38-4.24)	KM	7	66
Chen	OS	60	1.98 (1.34-3.02)	KM	7	35
Huang	OS	120	2.75 (1.01-7.52)	KM	7	67
Jiang	OS	72	0.54 (0.33-0.89)	M	8	68
Chen	OS	60	0.29 (0.14-0.62)	KM	8	69
Gyeonghwa	OS	45	0.50 (0.31-0.83)	KM	7	70
Zhang	OS	60	0.50 (0.93-1.94)	M	7	71
Jiang	OS	60	0.46 (0.22-0.98)	KM	7	40
Zhang	OS	54	0.28 (0.10-0.83)	KM	7	72
Zhong	OS	60	0.62 (0.11-3.39)	KM	6	73
Guo	OS	83	0.45 (0.29-0.68)	M	7	74
Han	OS	80	0.34 (0.22-0.51)	KM	6	75

OS^a: overall survival; HR^b: Hazard ratio; KM^c: Kaplan–Meier; M^d: Multivariate; Re^e: Reference

3.2.4 发表偏倚和敏感性分析

为了评估纳入文章的潜在发表偏倚，在 Stata12.0 中设计了 Deeks 漏斗图不对称检验。图 4a 和图 4b 为环状 RNA 上调和下调在 HCC 检测中的研究 Deek 漏斗图。

该图相对于回归线大致对称。Deek 漏斗图不对称检验提示无显著发表偏倚（基于患者的分析 P=0.441，基于图像的分析 P=0.069）。因此，我们可以排除发表偏倚的可能性。进一步进行敏感性分析。如图 4e-f 所示，结果是稳健的，没有受到任何单个研究的显著影响。

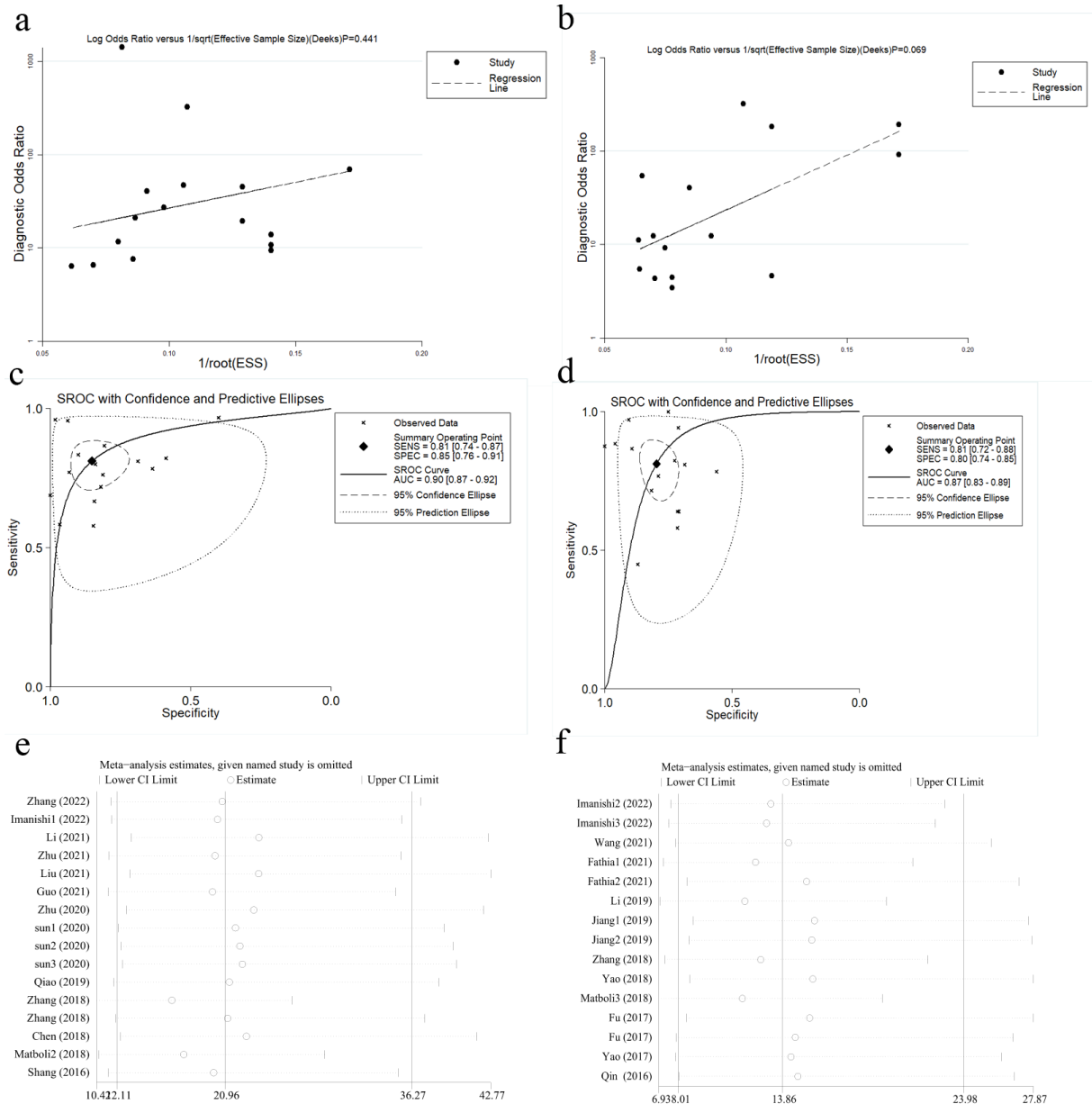


图 4 对上调环状 RNA 的漏斗图(a)、AUC (c)和敏感性分析(e), 以及下调环状 RNA 的漏斗图(b)、AUC (d)和敏感性分析(f)对 HCC 诊断的森林图。

3.3 CircRNAs 的预后 meta 分析

3.3.1 研究特点及质量评价

整理后的数据如表 4 所示, 共检测到 33 篇文章中的 37 个 CircRNA 表达异常, 其中 HCC 患者中有 28 个表达上调, 9 个表达下调, 大部分研究在中国进行, 发表时间为 2017-2022 年。平均随访时间为 24~120 天。OS 用于评估队列的结果。共研究了 28 个差异增加的 CircRNA, 包括 circMED27、circ_0000615、circ_0001020、

circ_0036683、circ_0058087、circdr 25、circ_0004913、circ_0008160、circ_0000517、circ_ps16、circ_0016788、circ-HOMER1、circRNA_101237、cirhrf1、circ_0005394、circMET、circ_0000517、circ_0000267、circ_0021093、circ- birc6、circPCNX、circ_0003998、circ_0008450、circRNA101368 、 cSMARCA5 、 circ_001569 、 circ_0128298 和 circRNA_100338, 它们作为肿瘤启动子。circ_0003570、circEPB41L2、circTRIM33-12、circ_0005986、circ_0001649、circC3P1、circ-ITCH 和 circMTO1 被鉴定为肿瘤抑制因子。直接提取文章中的

HR 和 95% CI。NOS 评分从 6 到 8 不等，表明纳入研究的质量为中等。

3.3.2 CircRNA 与结局的关联

癌性 CircRNA 上调与预后不良显著相关(HR=1.77, 95% CI: 1.48-2.12, $p<0.001$, Figure 5a), 异质性存在时采用随机效应模型 ($I^2=74.2\%$, $P<0.001$)。此外, 下调肿瘤抑制因子 CircRNA 与预后较好相关 (OS: HR=0.43, 95% CI: 0.35-0.52, 图 6a), 由于研究间无异质性 ($I^2=0.0\%$, $P>0.05$), 因此采用固定效应模型。

3.3.3 发表偏倚

用贝格漏斗图检验发表偏倚。如图 5b 所示, $P=0.003$ 表明这些研究中 17 个致癌 CircRNA 的上调存在显著的发表偏倚。异质性可能是造成这一结果的原因。然后采用剪切互补法评价发表偏倚对结果的影响, 根据结果 $P<0.001$ 可知仍然存在统计学差异, 因此对最终结论的影响不大, 说明结果的真实性较好。此外, 根据 Begg 检验, 关于下调肿瘤抑制因子环状 RNA 的研究没有明显的发表偏倚 ($P=1.000$) (图 6b)。

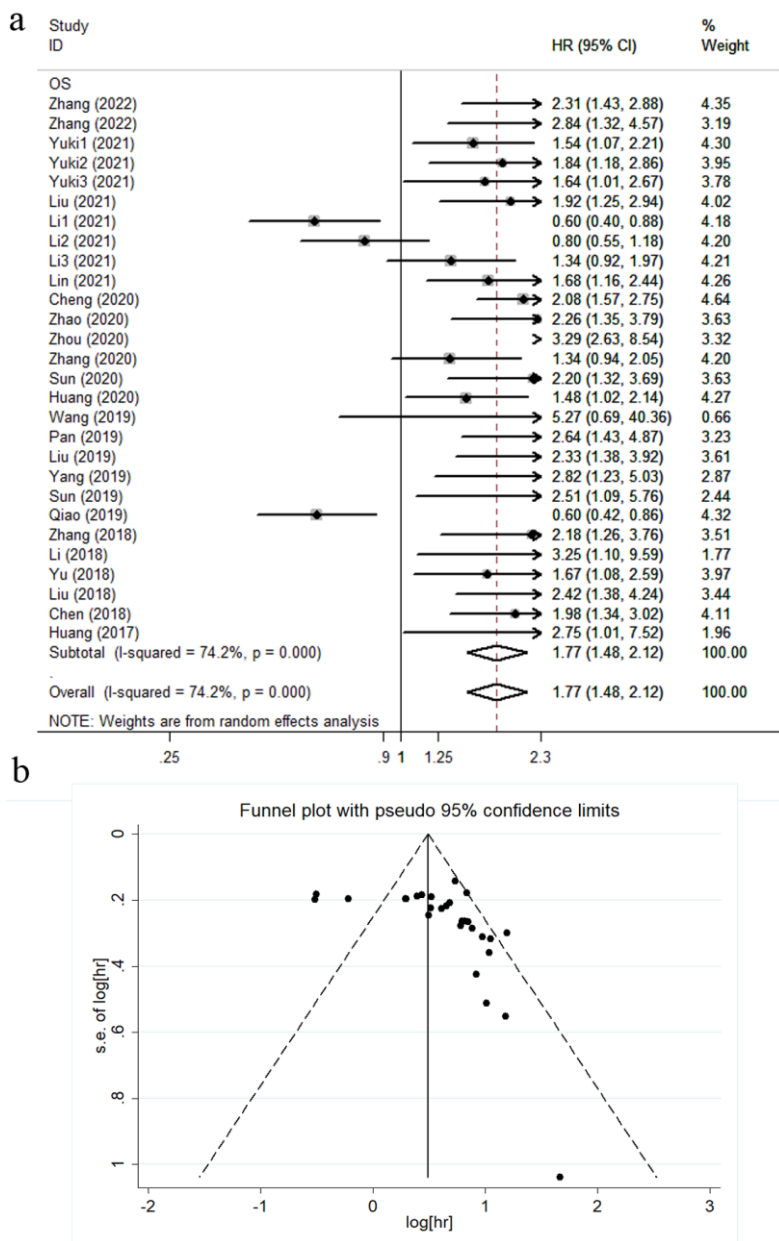


图 5 森林图显示了上调(a) circRNAs 表达改变与 HCC 总体或无复发生存之间的关系; Begg 漏斗图(b)报告了纳入研究的总生存率。HR: 风险比; CI: 置信区间。

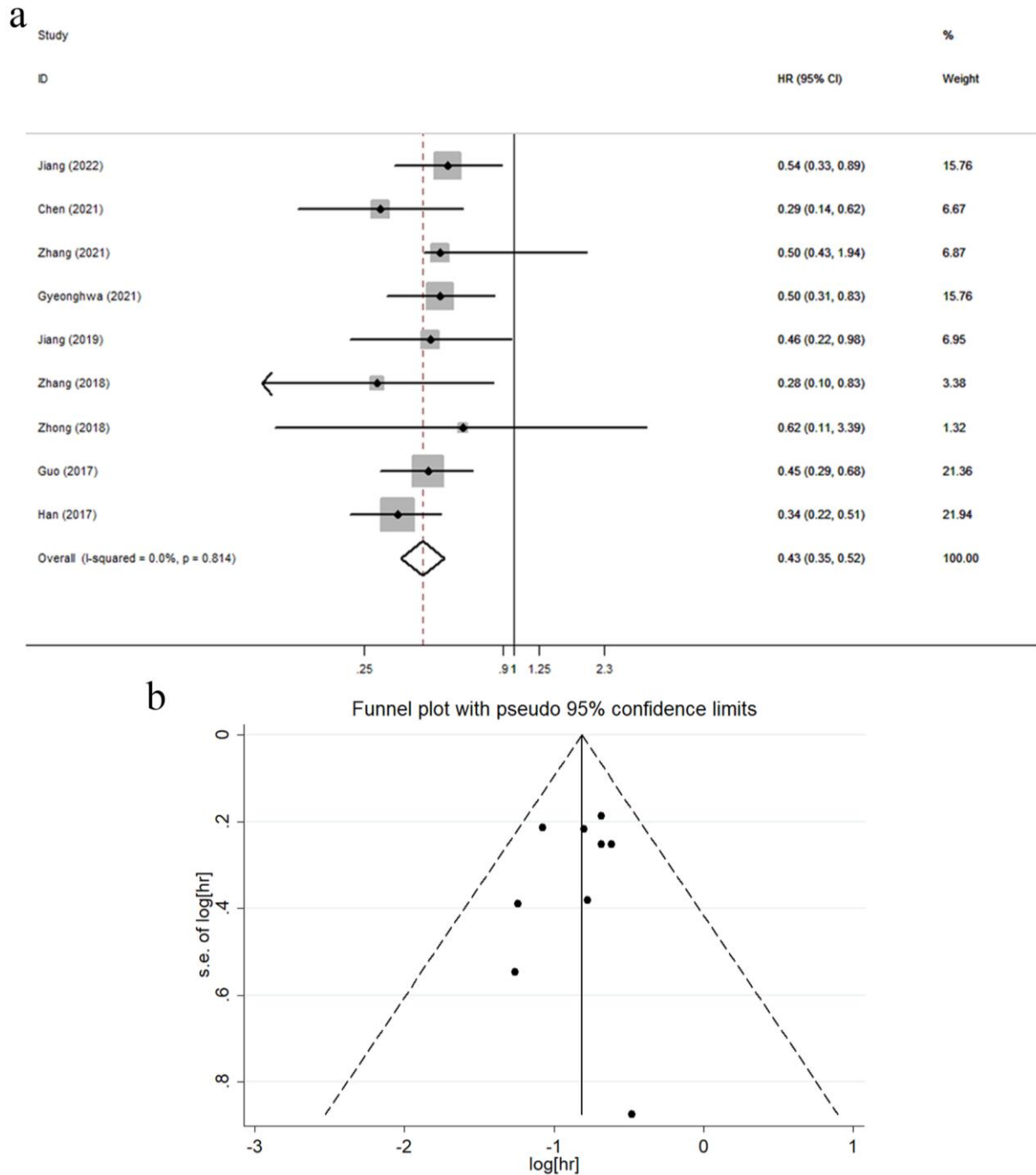


图6 森林图显示了下调(a) circRNAs 表达改变与 HCC 总体或无复发生存之间的关系; Begg 漏斗图(b)显示了被纳入研究的总生存率。HR: 风险比; CI: 置信区间。

4 讨论

肝细胞癌是全球癌症相关死亡的第四大常见原因[2]。筛选和开发新的无创生物标志物将有助于 HCC 的早期识别和预后预测。CircRNA 已被证明广泛存在于许多真核生物中, 并且主要位于细胞质中或可以储存

在外泌体中。它们不受外切酶的影响, 其表达更稳定且难以降解[76]。目前, 环状 RNA 在 HCC 中的诊断和预后价值缺乏循证医学支持。本研究通过定量荟萃分析分析了 CircRNA 在 HCC 诊断和预测预后中的作用。

既往 meta 分析显示, CircRNA 在胃癌 (GC) [77]、结直肠癌 (CRC) [78]、乳腺癌 (BC) [76] 和肺癌 (LC) [79] 中的诊断 AUC 分别达到 0.78、0.81、0.66 和 0.83,

CircRNA 在癌症患者中的敏感性、特异性和 AUC 分别为 0.75、0.84 和 0.89 [80], 然而, 他们未能讨论环状 RNA 在 HCC 患者中的预后作用。在本研究中, 我们收集了迄今为止发表的所有相关文章, 并进行了一项荟萃分析, 包括 54 项研究, 7233 例 HCC 患者。此外, 我们评估了 CircRNA 表达在 HCC 患者中的预后和诊断价值。

评估 CircRNAs 作为人类 HCC 生物标志物的诊断意义。AUC 在 0.93 到 0.96 之间的值被认为是优秀的, 0.75 到 0.92 之间的值是可以接受的[81-83]。此外, 总结结果显示, 对于 HCC 中 CircRNAs 表达上调和下调的诊断价值, AUC 分别为 0.90 和 0.87, 敏感性分别为 0.81 和 0.81, 特异性分别为 0.85 和 0.80。DOR 结合了敏感性和特异性的优势, DOR 值越高表示鉴别测试性能越好[84]。上调和下调的 CircRNAs 的 DOR 分别为 18.13 和 11.72, 表明 CircRNAs 对非癌症患者的诊断意义。此外, 合并的 PLR 值分别为 5.44 和 3.99, NLR 值分别为 0.22 和 0.24, 这意味着 CircRNA 信号上调和下调的真阳性率和假阳性率之比分别为 5.44 和 3.99, HCC 患者 CircRNA 检测为阴性的概率与检测为阳性的概率之比分别为 0.22 和 0.24。总之, 这些结果表明, 无论是增加还是减少, CircRNA 都可能适合作为 HCC 的诊断生物标志物。

在 meta 分析过程中, 异质性的产生是不可避免的, 其主要来源包括阈值效应和非阈值效应[76]。Spearman 相关系数显示, 合并统计和亚组分析的异质性不是由阈值效应引起的 ($P>0.05$)。为了探索异质性的来源, 我们进行了敏感性分析, 发现这些研究都没有对结果产生很大的改变, 这表明这些纳入的研究是稳定的; 此外, 我们进行了 meta 回归和亚组分析, 结果显示标本类型和对照类型可能是 HCC 诊断异质性的原因。Deek 的漏斗图不对称检验和 $p>0.05$ 提示诊断分析不存在显著的发表偏倚。

关于 CircRNAs 在肝癌中的预后价值, 我们通过亚组分析发现, 不同表达水平的 CircRNA 在 HCC 中具有不同的预后特征, 且 CircRNA 表达上调对 OS 有负面影响 (HR: 1.77, 1.48-2.12), CircRNA 表达下调与 OS 生存期延长相关 (HR: 0.43, 0.35-0.52)。由于 CircRNA 在各种体液中的稳定表达, 与肿瘤大小、临床病理分期等临床参数相比, CircRNA 可以为围手术期临床预测提供更有效的信息[85]。此外, Egger 的检验和 Begg 的漏斗图在我们的汇总预后分析中都没有显示出明显的发表偏倚。采用剪切互补法评价发表偏倚对最终结果的影响, 显示 $P=0.000$, 对结果影响不大。因此, 所有合并效应的准确性都是相对可靠的。与之前的 meta

分析相比, 我们纳入了更多关于 HCC 诊断和预后价值的文献, 并更全面地评估了 CircRNA 的诊断和预后功效。Nie 等人[11]纳入 23 篇文献, 总体敏感性为 0.80 (95% CI: 0.77-0.84), 特异性为 0.83 (95% CI: 0.79-0.85), AUC 为 0.88 (0.85-0.91)。Jiang 等人[86]纳入了 19 项符合条件的研究, 异常表达的环状 RNA 在区分 HCC 与非癌对照中的总敏感性、特异性和曲线下面积分别为 0.78 (95% CI: 0.69-0.85)、0.80 (95% CI: 0.74-0.86) 和 0.86。

生存分析显示, 下调的 CircRNA 表达特征与 HCC 生存完全相关[风险比 (HR) =0.42, 95% CI: 0.19-0.91, $P=0.028$; $I^2=92.7\%$, $P=0.000$], 而 CircRNA 水平高的 HCC 患者预后明显差于 CircRNA 水平低的 HCC 患者 (HR=2.22, 95% CI: 1.50-3.30, $P=0.000$; $I^2=91\%$, $P=0.000$), 包括 712 例 HCC 病例和 788 例对照, 评估 CircRNA 在 HCC 中的诊断性能。Yan 等人[12]仅纳入 5 篇文献, 包括 530 例 HCC 患者和 530 例对照, 合并敏感性、特异性和曲线下面积 (AUC) 分别为 0.75 (0.71-0.78)、0.82 (0.78-0.85) 和 0.90。郝等人[14]从数据库中筛选出 10 项诊断研究和 12 项预后研究, 用于诊断分析, CircRNA 对 HCC 的综合敏感性、特异性、PLR、NLR 和 DOR 分别为 0.74 (95% CI: 0.65-0.82)、0.76 (95% CI: 0.70-0.81)、3.1 (95% CI: 2.5-3.8)、0.34 (95% CI: 0.25-0.47) 和 9 (95% CI: 6-14)。AUC 为 0.81 (95% CI: 0.78-0.84), 对于预后分析, 表达上调的 CircRNA 与较差的 OS 相关 (HR: 3.67, 95% CI: 2.07-6.48), 而高表达下调的 CircRNA 与较好的 OS 相关 (HR: 0.38, 95% CI: 0.30-0.48)。我们的荟萃分析包括 69 篇论文, 其中 21 篇包括 5069 例 HCC 和 1949 例对照, 因此, 我们的研究不仅得出了与 Nie 等、Jiang 等、Y 等、Hao 等相同的结论, 而且更全面、系统地评价 CircRNA 的诊断和预后价值。先前的亚群分析结果表明, 对照来源和标本类型可能是异质性的主要来源, 这与我们的结果相似。

我们的分析是 CircRNA 对肝癌诊断价值的最新研究。与以往的分析相比, 纳入了足够的文献, 使结果更可信, 结论更可靠, 在临床实践中有更大的信心[87]。然而, 本研究仍有一些局限性。首先, 对异质性来源的探索并不完美, 因为考虑到目前研究数量的限制, 我们未能进行 CircRNA 类型亚组分析, 这可能是所纳入研究之间异质性的来源。其次, 有几项研究没有在文章中提供 HR 的 95% CI, 因此我们需要从 Kaplan-Meier 生存曲线中提取它们, 而不是直接排除。最后, 本荟萃分析纳入的患者数量相对较少, 因此需

要更大规模的研究来验证所获得的结果。

5 结论

我们的研究揭示了CircRNA表达异常与HCC患者的诊断和预后之间的重要相关性。因此，CircRNA 可以作为 HCC 诊断和预后评价的重要辅助指标。

参考文献

- [1] Singal AG, Lampertico P, Nahon P. Epidemiology and surveillance for hepatocellular carcinoma: New trends [J]. *J Hepatol.* 2020; 72(2): 250-261.
- [2] Global Burden of Disease Liver Cancer Collaboration, Akinyemiju T, Abera S, et al. The Burden of Primary Liver Cancer and Underlying Etiologies From 1990 to 2015 at the Global, Regional, and National Level: Results From the Global Burden of Disease Study 2015 [J]. *JAMA Oncol.* 2017; 3(12): 1683-1691.
- [3] Tsuchiya N, Sawada Y, Endo I, Saito K, Uemura Y, Nakatsura T. Biomarkers for the early diagnosis of hepatocellular carcinoma. *World journal of gastroenterology* [J]. 2015; 21(37): 10573-105 83.
- [4] Khalifa A, Rockey DC. The utility of liver biopsy in 2020. *Current opinion in gastroenterology* [J]. 2020; 36(3): 184-191.
- [5] McGill DB. Liver biopsy: when, how, by whom, and where? *Current gastroenterology reports* [J]. 2001; 3(1): 19-23.
- [6] Hou J, Jiang W, Zhu L, et al. Circular RNAs and exosomes in cancer: a mysterious connection. *Clinical & translational oncology: official publication of the Federation of Spanish Oncology Societies and of the National Cancer Institute of Mexico* [J]. 2018; 20(9): 1109-1116.
- [7] Shang W, Adzika GK, Li Y, et al. Molecular mechanisms of circular RNAs, transforming growth factor- β , and long noncoding RNAs in hepatocellular carcinoma. *Cancer medicine* [J]. 2019; 8(15): 6684-6699.
- [8] Beltrán-García J, Osca-Verdegal R, Nacher-Sendra E, Pallardó FV, García-Giménez JL. Circular RNAs in Sepsis: Biogenesis, Function, and Clinical Significance. *Cells* [J]. 2020; 9(6): 1544.
- [9] El Sharkawi FZ, Awad MS, Elagawy W, Al Sawaf HA, Taha H. Circular RNAs 0064286 and 0000475: Potential Diagnostic Biomarkers in Hepatocellular Carcinoma [J]. *APJCP.* 2021; 22(9): 3039-3044.
- [10] Sunagawa Y, Yamada S, Sonohara F, et al. Genome-wide identification and characterization of circular RNA in resected hepatocellular carcinoma and background liver tissue [J]. *Scientific reports.* 2021; 11(1): 6016.
- [11] Nie G, Peng D, Li B, Lu J, Xiong X. Diagnostic Accuracy of Circular RNAs in Different Types of Samples for Detecting Hepatocellular Carcinoma: A Meta-Analysis. *Front Genet* [J]. 2021; 12: 794105.
- [12] Yu G, Yang L, Zhou J, Zhang L, Xia L. Abnormally Expressed Circular RNAs are Promising Biomarkers for Diagnosis of Hepatocellular Carcinoma: a Meta-Analysis [J]. *Clinical laboratory.* 2019; 65(11): 10.7754/Clin.Lab.2019.190354.
- [13] Huang X, Zhang W, Shao Z. Prognostic and diagnostic significance of circRNAs expression in hepatocellular carcinoma patients: A meta-analysis [J]. *Cancer medicine.* 2019; 8(3): 1148-1156.
- [14] Hao Q, Han Y, Xia W, Wang Q, Qian H. Systematic Review and Meta-Analysis of the Utility of Circular RNAs as Biomarkers of Hepatocellular Carcinoma [J]. *Canadian journal of gastroenterology & hepatology.* 2019; 2019: 1684039.
- [15] Page MJ, McKenzie JE, Bossuyt PM, et al. The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews [J]. *J Clin Epidemiol.* 2021; 134: 178-189.
- [16] Tierney JF, Stewart LA, Ghersi D, Burdett S, Sydes MR. Practical methods for incorporating summary time-to-event data into meta-analysis [J]. *Trials.* 2007; 8: 16.
- [17] Qu YJ, Yang ZR, Sun F, Zhan SY. [Risk on bias assessment: (6) A Revised Tool for the Quality Assessment on Diagnostic Accuracy Studies (QUADAS-2)] [J]. *Zhonghua liuxingbingxue zazhi.* 2018; 39(4): 524-531.
- [18] Bao Q, Li F, Zheng H, Chen S, Song X. Prognostic role of dysregulated circRNAs in patients with non-small cell lung cancer: a meta-analysis. *Journal of thoracic disease* [J]. 2020; 12(3): 823-829.
- [19] Hamza TH, Arends LR, van Houwelingen HC, Stijnen T. Multivariate random effects meta-analysis of diagnostic tests with multiple thresholds. *BMC medical research methodology* [J]. 2009; 9: 73.
- [20] Reitsma JB, Glas AS, Rutjes AW, Scholten RJ, Bossuyt PM, Zwinderman AH. Bivariate analysis of sensitivity and specificity produces informative summary measures in diagnostic reviews. *Journal of clinical epidemiology* [J]. 2005; 58(10): 982-990.
- [21] Higgins JP, Thompson SG. Quantifying heterogeneity in a meta-analysis. *Statistics in medicine* [J]. 2002; 21(11): 1539-1558.

- [22] Lin L, Chu H. Quantifying publication bias in meta-analysis. *Biometrics* [J]. 2018; 74(3): 785-794.
- [23] Spineli LM, Pandis N. Publication bias: Graphical and statistical methods. *American journal of orthodontics and dentofacial orthopedics: official publication of the American Association of Orthodontists, its constituent societies, and the American Board of Orthodontics* [J]. 2021; 159(2): 248-251.
- [24] Zhang Y, Li J, Cui Q, Hu P, Hu S, Qian Y. Circular RNA hsa_circ_0006091 as a novel biomarker for hepatocellular carcinoma. *Bioengineered* [J]. 2022; 13(2): 1988-2003.
- [25] Imanishi S, Nagata S, Fujita T, Fujii H. Circular RNAs hsa_circ_0001438 and hsa_circ_0000417 are downregulated and upregulated, respectively, in hepatocellular carcinoma. *Int J Exp Pathol* [J]. 2022; 103(6): 245-251.
- [26] Lyu L, Yang W, Yao J, et al. The diagnostic value of plasma exosomal hsa_circ_0070396 for hepatocellular carcinoma. *Biomarkers in medicine* [J]. 2021; 15(5): 359-371.
- [27] Zhu C, Su Y, Liu L, Wang S, Liu Y, Wu J. Circular RNA hsa_circ_0004277 Stimulates Malignant Phenotype of Hepatocellular Carcinoma and Epithelial-Mesenchymal Transition of Peripheral Cells [J]. *Frontiers in cell and developmental biology*. 2020; 8: 585565.
- [28] Liu R, Li Y, Wu A, et al. Identification of Plasma hsa_circ_0005397 and Combined With Serum AFP, AFP-L3 as Potential Biomarkers for Hepatocellular Carcinoma [J]. *Frontiers in pharmacology*. 2021; 12: 639963.
- [29] Guo S, Hu C, Zhai X, Sun D. Circular RNA 0006602 in plasma exosomes: a new potential diagnostic biomarker for hepatocellular carcinoma. *American journal of translational research* [J]. 2021; 13(6): 6001-6015.
- [30] Zhu K, Zhan H, Peng Y, et al. Plasma hsa_circ_0027089 is a diagnostic biomarker for hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma. *Carcinogenesis* [J]. 2020; 41(3): 296-302.
- [31] Sun XH, Wang YT, Li GF, Zhang N, Fan L. Serum-derived three-circRNA signature as a diagnostic biomarker for hepatocellular carcinoma [J]. *Cancer cell international*. 2020; 20: 226.
- [32] Qiao GL, Chen L, Jiang WH, et al. Hsa_circ_0003998 may be used as a new biomarker for the diagnosis and prognosis of hepatocellular carcinoma [J]. *OncoTargets and therapy*. 2019; 12: 5849-5860.
- [33] Zhang X, Xu Y, Qian Z, et al. circRNA_104075 stimulates YAP-dependent tumorigenesis through the regulation of HNF4a and may serve as a diagnostic marker in hepatocellular carcinoma [J]. *Cell death & disease*. 2018; 9(11): 1091.
- [34] Zhang C, Zhang C, Lin J, Wang H. Circular RNA Hsa_Circ_0091579 Serves as a Diagnostic and Prognostic Marker for Hepatocellular Carcinoma. *Cellular physiology and biochemistry: international journal of experimental cellular physiology, biochemistry, and pharmacology* [J]. 2018; 51(1): 290-300.
- [35] Chen D, Zhang C, Lin J, Song X, Wang H. Screening differential circular RNA expression profiles reveal that hsa_circ_0128298 is a biomarker in the diagnosis and prognosis of hepatocellular carcinoma [J]. *Cancer management and research*. 2018; 10: 1275-1283.
- [36] Matboli M, Shafei AE, Ali MA, et al. circRNAs (hsa_circ_00156, hsa_circ_000224, and hsa_circ_000520) are novel potential biomarkers in hepatocellular carcinoma [J]. *Journal of cellular biochemistry*. 2019; 120(5): 7711-7724.
- [37] Shang X, Li G, Liu H, et al. Comprehensive Circular RNA Profiling Reveals That hsa_circ_0005075, a New Circular RNA Biomarker, Is Involved in Hepatocellular Crcinoma Development. *Medicine*. 2016; 95(22): e3811.
- [38] Wang Y, Pei L, Yue Z, Jia M, Wang H, Cao LL. The Potential of Serum Exosomal hsa_circ_0028861 as the Novel Diagnostic Biomarker of HBV-Derived Hepatocellular Cancer [J]. *Frontiers in genetics*. 2021; 12: 703205.
- [39] Li Z, Zhou Y, Yang G, et al. Using circular RNA SMARCA5 as a potential novel biomarker for hepatocellular carcinoma. *Clinica chimica acta* [J]. *international journal of clinical chemistry*. 2019; 492: 37-44.
- [40] Jiang Z, Shen L, Wang S, et al. Hsa_circ_0028502 and hsa_circ_0076251 are potential novel biomarkers for hepatocellular carcinoma [J]. *Cancer medicine*. 2019; 8(17): 7278-7287.
- [41] Zhang X, Zhou H, Jing W, et al. The Circular RNA hsa_circ_0001445 Regulates the Proliferation and Migration of Hepatocellular Carcinoma and May Serve as a Diagnostic Biomarker [J]. *Disease markers*. 2018; 3073467.
- [42] Yao T, Chen Q, Shao Z, Song Z, Fu L, Xiao B. Circular RNA 0068669 as a new biomarker for hepatocellular carcinoma metastasis [J]. *Journal of clinical laboratory analysis*. 2018; 32(8): e22572: e22239.
- [43] Fu L, Wu S, Yao T, et al. Decreased expression of hsa_circ_0003570 in hepatocellular carcinoma and its clinical significance [J]. *Journal of clinical laboratory analysis*. 2018; 32(2).
- [44] Fu L, Yao T, Chen Q, Mo X, Hu Y, Guo J. Screening differential circular RNA expression profiles reveals hsa_circ_0004018 is associated with hepatocellular carcinoma [J]. *Oncotarget*. 2017; 8(35): 58405-58416.
- [45] Yao Z, Luo J, Hu K, et al. ZKSCAN1 gene and its related circular RNA (circZKSCAN1) both inhibit hepatocellular carcinoma cell growth, migration, and invasion but through different signaling pathways [J]. *Molecular oncology*. 2017; 11(4): 422-437.

- [46] Qin M, Liu G, Huo X, et al. Hsa_circ_0001649: A circular RNA and potential novel biomarker for hepatocellular carcinoma [J]. *Cancer biomarkers: section A of Disease markers*. 2016; 16(1): 161-169.
- [47] Zhang L, Xu T, Li Y, Pang Q, Ding X. Serum hsa_circ_0000615 is a prognostic biomarker of sorafenib resistance in hepatocellular carcinoma. *J Clin Lab Anal*. 2022; 36(11): e24741.
- [48] Zhang P, Sun H, Wen P, Wang Y, Cui Y, Wu J. circRNA circMED27 acts as a prognostic factor and mediator to promote lenvatinib resistance of hepatocellular carcinoma [J]. *Mol Ther Nucleic Acids*. 2021; 27: 293-303.
- [49] Liu L, Du C, Wei X, Liao R. [Correlation of peritumoral circWDR25 expression with the prognosis of patients with hepatocellular carcinoma after curative resection] [J]. *Journal of Southern Medical University*. 2021; 41(9): 1388-1393.
- [50] Li X, Yang J, Yang X, Cao T. Dysregulated circ_0004913, circ_0008160, circ_0000517, and their potential as biomarkers for disease monitoring and prognosis in hepatocellular carcinoma [J]. *Journal of clinical laboratory analysis*. 2021; 35(6): e23785.
- [51] Lin S, Lin Y, Wu Z, et al. circRPS16 Promotes Proliferation and Invasion of Hepatocellular Carcinoma by Sponging miR-876-5p to Upregulate SPINK1 [J]. *Frontiers in oncology*. 2021; 11: 724415.
- [52] Cheng F, Wang L, Zhang J. Circular RNA 0016788 displays as a biomarker for tumor progression and poor prognosis in surgical hepatocellular carcinoma patients [J]. *Journal of clinical laboratory analysis*. 2020; 34(7): e23300.
- [53] Zhao M, Dong G, Meng Q, Lin S, Li X. Circ-HOMER1 enhances the inhibition of miR-1322 on CXCL6 to regulate the growth and aggressiveness of hepatocellular carcinoma cells [J]. *Journal of cellular biochemistry*. 2020; 121(11): 4440-4449.
- [54] Zhou S, Wei J, Wang Y, Liu X. Cisplatin resistance-associated circRNA_101237 serves as a prognostic biomarker in hepatocellular carcinoma [J]. *Experimental and therapeutic medicine*. 2020; 19(4): 2733-2740.
- [55] 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 [J]. *Molecular cancer*. 2020; 19(1): 110.
- [56] Sun C, Li G, Liu M. A Novel Circular RNA, circ_0005394, Predicts Unfavorable Prognosis and Contributes to Hepatocellular Carcinoma Progression by Regulating miR-507/E2F3 and miR-515-5p/CXCL6 Signaling Pathways [J]. *OncoTargets and therapy*. 2020; 13: 6171-6180.
- [57] Huang XY, Zhang PF, Wei CY, et al. Circular RNA circMET drives immunosuppression and anti-PD1 therapy resistance in hepatocellular carcinoma via the miR-30-5p/snail/DPP4 axis [J]. *Molecular cancer*. 2020; 19(1): 92.
- [58] Wang X, Wang X, Li W, Zhang Q, Chen J, Chen T. Up-Regulation of hsa_circ_0000517 Predicts Adverse Prognosis of Hepatocellular Carcinoma [J]. *Frontiers in oncology*. 2019; 9: 1105.
- [59] Pan H, Tang L, Jiang H, et al. Enhanced expression of circ_0000267 in hepatocellular carcinoma indicates poor prognosis and facilitates cell progression by sponging miR-646 [J]. *Journal of cellular biochemistry*. 2019; 120(7): 11350-11357.
- [60] Liu L, Qi X, Gui Y, Huo H, Yang X, Yang L. Overexpression of circ_0021093 circular RNA forecasts an unfavorable prognosis and facilitates cell progression by targeting the miR-766-3p/MTA3 pathway in hepatocellular carcinoma [J]. *Gene*. 2019; 714: 143992.
- [61] Yang G, Wang X, Liu B, et al. circ-BIRC6, a circular RNA, promotes hepatocellular carcinoma progression by targeting the miR-3918/Bcl2 axis [J]. *Cell cycle (Georgetown, Tex)*. 2019; 18(9): 976-989.
- [62] Sun P, Fan X, Hu X, Fu X, Wei Q, Zang Y. circPCNX and Pecanex Promote Hepatocellular Carcinoma Cell Viability by Inhibiting miR-506 [J]. *Cancer management and research*. 2019; 11: 10957-10967.
- [63] Zhang J, Chang Y, Xu L, Qin L. Elevated expression of circular RNA circ_0008450 predicts dismal prognosis in hepatocellular carcinoma and regulates cell proliferation, apoptosis, and invasion via sponging miR-548p [J]. *Journal of cellular biochemistry*. 2019; 120(6): 9487-9494.
- [64] Li S, Gu H, Huang Y, et al. Circular RNA 101368/miR-200a axis modulates the migration of hepatocellular carcinoma through HMGB1/RAGE signaling [J]. *Cell cycle (Georgetown, Tex)*. 2018; 17(19-20): 2349-2359.
- [65] Yu J, Xu QG, Wang ZG, et al. Circular RNA cSMARCA5 inhibits growth and metastasis in hepatocellular carcinoma [J]. *Journal of hepatology*. 2018; 68(6): 1214-1227.
- [66] Liu H, Xue L, Song C, Liu F, Jiang T, Yang X. Overexpression of circular RNA circ_001569 indicates poor prognosis in hepatocellular carcinoma and promotes cell growth and metastasis by sponging miR-411-5p and miR-432-5p [J]. *Biochemical and biophysical research communications*. 2018; 503(4): 2659-2665.
- [67] Huang XY, Huang ZL, Xu YH, et al. Comprehensive circular RNA profiling reveals the regulatory role of the circRNA-100338/miR-141-3p pathway in hepatitis B-related hepatocellular carcinoma [J]. *Scientific reports*. 2017; 7(1): 5428.

- [68] Jang SY, Kim G, Tak WY, et al. Circular Noncoding RNA hsa_circ_0003570 as a Prognostic Biomarker for Hepatocellular Carcinoma [J]. *Genes (Basel)*. 2022; 13(8): 1484.
- [69] Chen F, He L, Qiu L, et al. Circular RNA CircEPB41L2 Functions as Tumor Suppressor in Hepatocellular Carcinoma Through Sponging miR-590-5p [J]. *Cancer management and research*. 2021; 13: 2969-2981.
- [70] Kim G, Han JR, Park SY, et al. Circular noncoding RNA hsa_circ_0005986 as a prognostic biomarker for hepatocellular carcinoma [J]. *Scientific reports*. 2021; 11(1): 14930.
- [71] Zhang PF, Wei CY, Huang XY, et al. Circular RNA circTRIM33-12 acts as the sponge of MicroRNA-191 to suppress hepatocellular carcinoma progression [J]. *Molecular cancer*. 2019; 18(1): 105.
- [72] Zhang X, Qiu S, Luo P, et al. Down-regulation of hsa_circ_0001649 in hepatocellular carcinoma predicts a poor prognosis [J]. *Cancer biomarkers: section A of Disease markers*. 2018; 22(1): 135-142.
- [73] Zhong L, Wang Y, Cheng Y, et al. Circular RNA circC3P1 suppresses hepatocellular carcinoma growth and metastasis through miR-4641/PCK1 pathway [J]. *Biochemical and biophysical research communications*. 2018; 499(4): 1044-1049.
- [74] Guo W, Zhang J, Zhang D, et al. Polymorphisms and expression pattern of circular RNA circ-ITCH contributes to the carcinogenesis of hepatocellular carcinoma [J]. *Oncotarget*. 2017; 8(29): 48169-48177.
- [75] Han D, Li J, Wang H, et al. Circular RNA circMTO1 acts as the sponge of microRNA-9 to suppress hepatocellular carcinoma progression [J]. *Hepatology (Baltimore, Md)*. Oct 2017; 66(4): 1151-1164.
- [76] Ma Y, Niu X, Yan S, Liu Y, Dong R, Li Y. Circular RNA profiling facilitates the diagnosis and prognostic monitoring of breast cancer: A pair-wise meta-analysis [J]. *J Clin Lab Anal*. 2021; 35(1): e23575.
- [77] Lin Y, Luo X, Cui Z, Chen Y. Diagnostic Potential for Circular RNAs in Gastric Carcinoma: a Meta-Analysis [J]. *Clin Lab*. 2019; 65(3): 10.7754/Clin.Lab.2018.180810.
- [78] Li RD, Guan M, Zhou Z, Dong SX, Liu Q. The Role of circRNAs in the Diagnosis of Colorectal Cancer: A Meta-Analysis [J]. *Front Med (Lausanne)*. 2021; 8: 766208.
- [79] Yang Q, Chen L, Yang L, Huang Y. Diagnostic and prognostic values of circular RNAs for lung cancer: a meta-analysis [J]. *Postgrad Med J*. 2021; 97(1147): 286-293.
- [80] Zhang Y, Yang X, Zhuang Z, et al. The diagnostic value of exosomal circular RNAs in cancer patients: A systematic review and meta-analysis [J]. *Cancer Med*. 2023; 12(2): 1709-1720.
- [81] Walter SD. The partial area under the summary ROC curve. *Statistics in medicine* [J]. 2005; 24(13): 2025-2040.
- [82] Walter SD. Properties of the summary receiver operating characteristic (SROC) curve for diagnostic test data. *Statistics in medicine* [J]. 2002; 21(9): 1237-1256.
- [83] Chen Z, Zhang L, Han G, et al. A Meta-Analysis of the Diagnostic Accuracy of Circular RNAs in Digestive System Malignancy [J]. *Cellular physiology and biochemistry: international journal of experimental cellular physiology, biochemistry, and pharmacology*. 2018; 45(3): 962-972.
- [84] Glas AS, Lijmer JG, Prins MH, Bossel GJ, Bossuyt PM. The diagnostic odds ratio: a single indicator of test performance [J]. *Journal of clinical epidemiology*. 2003; 56(11): 1129-1135.
- [85] Ding HX, Lv Z, Yuan Y, Xu Q. The expression of circRNAs as a promising biomarker in the diagnosis and prognosis of human cancers: a systematic review and meta-analysis [J]. *Oncotarget*. 2018; 9(14): 11824-11836.
- [86] Jiang YL, Shang MM, Dong SZ, Chang YC. Abnormally expressed circular RNAs as novel non-invasive biomarkers for hepatocellular carcinoma: A meta-analysis [J]. *World J Gastrointest Oncol*. 2019; 11(10): 909-924.
- [87] Zhang H, Ding R, Chen D. Value of miR-21 levels as potential biomarkers in the early diagnosis of hepatocellular carcinoma: a meta-analysis [J]. *Biomarkers*. 2021; 26(7): 586-597.