

环状RNA在肌少-骨质疏松症中的作用机制 研究进展

刘玲¹ 邓校征² 张婷¹ 高学斌¹ 张建平^{1*}

(¹甘肃省中医院急救中心, 兰州 730050; ²甘肃省中医院血液净化中心, 兰州 730050)

摘要 肌少-骨质疏松症(osteosarcopenia, OS)是主要累及肌肉-骨骼系统的代谢性疾病, 其主要特征是肌肉质量、功能与骨骼密度、强度同时降低。由于OS具有比肌少症(sarcopenia, SP)或骨质疏松症(osteoporosis, OP)单独发生时更为严重的不良健康结局以及更高的致残率和致死率, 该病已对全世界范围内的中老年人健康和公共卫生安全造成了巨大的威胁。然而, OS治疗的难点在于同时兼顾肌肉和骨骼。目前除运动疗法及营养支持外, 缺少可同时逆转SP和OP的有效疗法。环状RNA(circle RNA, circRNA)是一类环状的非编码RNA分子, 在很多细胞的基因调控中具有重要作用。近期研究发现, circRNA也参与了肌骨衰减疾病的多种生物学过程和病理机制, 有望成为研究OS的新方向。

关键词 circRNA; 肌少症; 骨质疏松症; 肌少-骨质疏松症; 基因调控

Research Progress on the Mechanism of Action of circRNA in Osteosarcopenia

LIU Ling¹, DENG Xiaozheng², ZHANG Ting¹, GAO Xuebin¹, ZHANG Jianping^{1*}

(¹Emergency Center of Gansu Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730050, China;

²Gansu Provincial Traditional Chinese Medicine Hospital Blood Purification Center, Lanzhou 730050, China)

Abstract OS (osteosarcopenia) is a metabolic disease that primarily affects the musculoskeletal system, characterized by a simultaneous decrease in muscle mass, function, and bone density, strength. Due to its more severe adverse health outcomes and higher disability and mortality rates compared to SP (sarcopenia) or OP (osteoporosis) occurring alone, OS has posed a huge threat to the health and public health safety of middle-aged and elderly people worldwide. However, the difficulty of OS treatment lies in balancing muscle and bone simultaneously. At present, apart from exercise therapy and nutritional support, there is a lack of effective therapies that can simultaneously reverse SP and OP. circRNA (circular RNA) is a type of circular non coding RNA molecule that plays an important role in gene regulation in many cells. Recent studies have found that circRNA is also involved in various biological processes and pathological mechanisms of muscle bone decay disease, which is expected to become a new direction for studying OS.

Keywords circRNA; sarcopenia; osteoporosis; osteosarcopenia; gene regulation

肌肉减少症(sarcopenia, SP)和骨质疏松症(osteoporosis, OP)作为运动系统的代谢性衰减病变, 分别影响着肌肉和骨骼的健康。SP以肌肉质量和功能的进行性丧失为主要症状, OP以骨密度及骨微观

结构破坏为病理特征。虽然从表面上看, SP与OP似乎毫无关系。但是, SP和OP之间相互影响, 密切相关, 这种相互作用包括机械信号、生长因子和激素等因素。首先, 肌肉可通过牵拉骨骼产生机械信号, 这些信号可以刺激骨骼的生长和重塑。而SP可能导致骨骼缺乏足够的机械刺激, 从而导致OP, 反之亦然^[1]。其次, 肌肉和骨骼都能产生各种细胞因子和激

收稿日期: 2024-11-05

接受日期: 2024-12-24

*通信作者。Tel: 15117096709, E-mail: 1140699642@qq.com

Received: November 5, 2024

Accepted: December 24, 2024

*Corresponding author. Tel: +86-15117096709, E-mail: 1140699642@qq.com

素,如胰岛素样生长因子-1(insulin-like growth factor 1, IGF-1)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)、鸢尾素、肌抑素、骨形态发生蛋白(bone morphogenetic proteins, BMPs)和性激素等。这些细胞因子和激素可能在肌肉和骨骼之间形成一个复杂的双向作用网络,以影响肌、骨的质量和功能。而用以描述SP与OP共存的病名被称为“肌少-骨质疏松症(osteosarcopenia, OS)”^[2]。目前,OS尚无直接有效的靶向治疗方法。近年来,学者们逐渐发现,在多种肌肉和骨骼细胞中均存在的circRNA对OS的防治具有重要的生物学意义。而circRNA在OS中的作用主要体现在调控肌、骨再生细胞的增殖、分化和凋亡等生物过程。它们也可通过与微小RNA(microRNA, miRNA)、长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA)、蛋白质及其他分子相互作用,影响信号通路的活性,从而调控肌、骨的生长和维持^[3]。

1 circRNA概述

circRNA是一种新型的非编码RNA,其特点是具有一个闭合的连续环结构,与线性RNA相比具有更高的稳定性和抗降解能力。近年来,随着高通量测序技术的发展,circRNA被研究,它们在基因调控、疾病发生发展等方面的重要作用逐渐被揭示^[4]。

1.1 circRNA的组成

大部分circRNA是由外显子组成的,这些RNA被称为ecircRNAs。外显子是基因中可以编码蛋白质或肽链的部分,也是mRNA成熟后保留下来的部分。此外,EIcircRNAs为内含子和外显子构成的circRNA,ciRNAs为内含子构成的circRNA。内含子是基因中不参与编码蛋白质的部分,它在mRNA成熟后被切除。此外,在circRNA形成过程中,连接位点是circRNA形成的关键部分,也是其与线性RNA最大的不同之处。这个连接位点也被称为反向剪接样位点,在这个位点,基因的上游外显子的3'末端与下游外显子的5'末端相连,形成一个闭环结构。这种闭环结构使得circRNA不易被细胞酶降解,因此比线性RNA更稳定^[5]。由于circRNA是环状结构,所以它具有独特的RNA二级结构。一些circRNA的二级结构可以与特定的蛋白质或RNA分子相互作用^[6]。此外,一些circRNA还可能包含其他非编码RNA序列,如miRNA、lncRNA等。这些非编码

RNA序列可能对circRNA的功能有重要影响。例如,一些circRNA可以作为miRNA的“海绵”,吸附并阻止miRNA与其目标mRNA的相互作用,从而调控基因表达^[6]。

1.2 circRNA的生物发生

circRNA在生物体内的生成主要涉及RNA反向剪接、RNA循环化、RNA导出和功能发挥等步骤。首先,在基因转录过程中,RNA分子会经历剪接过程,即将内含子去除,使得外显子之间连接起来。在大多数情况下,这是一个线性过程,即RNA分子的5'末端连接到下一个外显子的3'末端。然而,在生成circRNA的过程中,剪接过程发生了反向剪接,使得下游外显子的3'末端与上游外显子的5'末端连接。反向剪接过程完成后,RNA分子形成了一个稳定的环状结构,这就是circRNA。环状结构使得circRNA具有很高的稳定性,不容易被RNA降解酶降解^[5]。这是因为,RNA降解酶通常从RNA分子的5'末端或3'末端开始降解,而circRNA的环状结构使得它没有这两个末端,因此可在细胞中长时间存在^[7]。而生成的部分circRNA需要从细胞核导出至细胞质才能发挥其生物学功能。这个过程可能涉及到一些特殊的蛋白质,但具体机制尚不清楚。一些研究表明,circRNA的导出可能与核孔复合体(细胞核和细胞质之间进行物质交换的主要通道)有关。此外,还有一些研究表明,circRNA的导出可能与一些RNA结合蛋白有关,这些蛋白可以识别circRNA的特定序列并将其从细胞核中导出^[8]。

1.3 circRNA的基因调控

首先,海绵效应是circRNA最常见的功能机制。circRNA可以作为miRNA的海绵,与miRNA结合,阻止其与目标mRNA的结合,从而调控基因的表达。例如,circRNA S-7/CDR1as可以吸附miR-7,阻止其对目标基因的抑制^[9]。其次,circRNA可与RNA结合蛋白(RNA binding protein, RBP)结合,形成RNA蛋白复合物,进而影响RBP的功能和细胞信号转导。例如,circRNA Foxo3可以与ID-1、E2F1、FAK和HIF1 α 等蛋白结合,以延缓细胞衰老^[4]。此外,一些circRNA可以调控其父源基因的表达。例如,circEIF3J和circPAIP2可以在转录后水平调控其父源基因的表达。虽然大部分circRNA不编码蛋白,但是一些circRNA被发现也可以翻译成蛋白质或肽,例如circ-ZNF609^[10]。另外,一些circRNA可以与转录因子或

RNA聚合酶II相互作用,从而影响基因的转录^[11]。

2 circRNA对骨骼肌的作用

肌生成包括三个阶段:来自中胚层的间充质干细胞增殖并分化为成肌细胞、成肌细胞进一步分化为原代培养骨骼肌细胞肌管和次级肌管、肌管融合为成肌纤维。SONG等^[12]通过在SP小鼠模型中检测腓肠肌中的circRNA表达谱发现,有197个circRNA出现表达差异,其中94个上调,103个下调,这说明circRNA在SP的诊断标志物方面具有重要意义。circRNA也已被证明可以作为肌生成的正或负调节因子参与骨骼肌增殖和分化,例如,circRNA可以通过与RBP结合来调节转录本的可变剪接以及亲本基因的转录和翻译以促进肌生成^[4]。而circZfp609也可以作为海绵吸附miR-194-5p并抑制其对BCLAF1的分离作用,从而抑制肌源性分化^[13]。

2.1 circRNA的正向调控作用

RBP作为一种转录因子,可以被lnc-HOXA1募集以介导胚胎干细胞中lncHOXA1的转录调控。而circRNA不仅可以作为miRNA分子海绵或翻译蛋白来调节肌肉生长和发育,而且还可通过与RBP相互作用来调节肌肉的产生^[14]。PANDEY等^[15]证明了RBP分布在C2C12细胞的细胞核和细胞质中,并与位于细胞核中的circSamd4结合,参与MHC的转录调控,从而促进肌生成。此外,JU等^[16]也通过研究发现,circFEACR可通过抑制肌细胞铁死亡而延缓SP病理进程,其机制可能是FEACR直接与烟酰胺磷酸核糖转移酶(nicotinamide phosphoribosyl transferase, NAMPT)结合,增强NAMPT的蛋白稳定性,从而增加NAMPT依赖性Sirt1的表达。而Sirt1可通过降低FOXO1乙酰化水平促进FOXO1转录活性,FOXO1又可进一步上调铁蛋白重链1的转录以抑制细胞铁死亡。此外,ZHONG等^[17]研究发现ccirc2388(由MYL1基因的第四和第五个外显子的反向剪接形成)促进了牛肌母细胞的分化和肌管融合。circ2388还在体内实验中促进了肌肉损伤模型小鼠的骨骼肌再生。所以circ2388有可能是治疗SP潜在的重要靶点。FAN等^[18]采用高通量测序技术和生物信息学工具在儿童骨骼肌中发现了831个具有表达差异的circRNA,其中486个上调,345个下调。他们还发现circUBE3A在儿童骨骼肌和成肌细胞中表达水平较高,其机制可能是circUBE3A特异性结合并

抑制miR-28-5p进而促进HADHB的表达,并促进肌母细胞的增殖和分化。SUN等^[19]还鉴定了circCSDE在猪骨骼肌中具有稳定性和高表达性,并发现了circCSDE1及其靶标miR-21-3p共同调节成肌细胞的增殖和分化。此外,CHEN等^[20]指出circMYBPC1可以直接结合MyHC蛋白,促进成肌细胞的分化。另有研究发现,circ-ZNF609和circFAM188B也可通过编码多肽促进肌生成,而人脐带间充质干细胞来源的外泌体可通过释放circHIPK3修复缺血损伤后的骨骼肌^[21](表1)。

2.2 circRNA的负向调控作用

TTN基因编码的蛋白质是人类中已知最大的蛋白质,在骨骼肌中起着关键的发育和调节作用。AI等^[22]通过高通量测序发现,由TTN基因产生的环状内含子RNA circTTN在猪出生后不同年龄段的骨骼肌中表达差异显著,提示circTTN可能参与调控肌生成。C2C12细胞系是一种在诱导分化溶液培养后可以快速整合到多核肌管中的体外细胞模型。体外实验表明circTTN是肌生成的负调节因子,circTTN可通过募集RBP蛋白以抑制宿主基因TTN的转录进而抑制C2C12细胞的增殖分化^[23]。此外,通过与RBP蛋白结合,circ-Calm4可通过促进自噬相关蛋白Beclin1的转录,从而调节缺氧诱导的肌细胞自噬^[24]。I型胶原蛋白(collagen I, COL1)是一种异源三聚体分子,是骨骼肌的重要组成部分和脊椎动物中最丰富的胶原蛋白。转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)长期以来一直被认为是I型胶原蛋白的关键调节因子^[25]。YU等^[26]研究发现circZBTB46是COL1合成的拮抗剂。具体而言,TGF- β 可通过激活Smad信号减少KLF46的表达来抑制circZBTB46的形成。而circZBTB46也可通过抑制TGF- β /Smad信号减少COL1的表达。CHEN等^[27]通过体内外实验将circTmeff1确定为影响肌肉萎缩的潜在circRNA候选者,而敲除circTmeff1可有效防止肌肉萎缩。其机制是circTmeff1直接与TAR DNA结合蛋白43(TAR DNA-binding protein 43, TDP-43)相互作用,并促进线粒体中TDP-43的聚集,从而触发线粒体DNA(mitochondrial DNA, mtDNA)释放到细胞质中并激活环磷酸鸟苷-磷酸腺苷合成酶(cyclic GMP-AMP synthase/cGAS, cGAS)/干扰素基因刺激物(stimulator of interferon genes, STING)途径。总体而言,抑制circTmeff1可能代表某种治疗SP的新方法(表1)。

表1 circRNA对骨骼肌作用汇总表

Table 1 Summary of the effects of circRNA on skeletal muscle

circRNA	在骨骼肌代谢中的表达变化 Expression changes in skeletal muscle metabolism	对肌肉增长的作用 The effect on muscle growth	引用 Quote
Zfp609	Increase	Suppress	[13]
Samd4	Reduce	Promote	[15]
FEACR	Reduce	Promote	[16]
2388	Reduce	Promote	[17]
UBE3A	Reduce	Promote	[18]
CSDE	Reduce	Promote	[19]
MYBPC1	Reduce	Promote	[20]
ZNF609	Reduce	Promote	[21]
FAM188B	Reduce	Promote	[21]
HIPK3	Reduce	Promote	[21]
TTN	Increase	Suppression	[23]
Calm4	Increase	Suppression	[24]
ZBTB46	Increase	Suppression	[26]
Tmeff1	Increase	Suppression	[27]

3 circRNA对骨骼的作用

由于骨形成和骨吸收是人一生中连续不断发生的两个过程, 因此我们需要进一步研究由circRNA介导的成骨细胞-破骨细胞双向通讯以便为OP的治疗提供新导向。近期对OP患者开展的最新筛查支持circRNA具有生物标志物、药物靶标以及治疗剂的潜力^[28]。虽然circRNA在骨细胞中的表达水平已经被研究, 但评估circRNA的功能机制仍然是一个挑战, 需要深入研究。

3.1 circRNA对骨形成的作用

circCDR1as是最早被发现具有miRNA海绵作用的circRNA之一, 其也被证明可通过miR-2/GDF7/SMAD和p5 MAPK信号通路增加RUNX38和ALP的表达以促进成骨细胞体外分化^[29]。此外, YU等^[6]研究发现, 与健康对照组相比, 绝经后OP患者的血清中有211个circRNA表达量上调, 176个circRNA表达量下调。他们还发现circ0016624在OP中表达减少, 并作为miR-98的分子吸附海绵, 可增强成骨基因BMP2的表达。此外, 有研究发现, circ-ITCH在OP患者的骨髓中表达下调, 在成骨分化过程中表达上调, 而在BMSC中具有相同的促成骨分化的作用。体外实验也表明, circ-ITCH过表达可促进ALP活性、矿化结节形成以及成骨标志物(RUNX2、OPN和OCN)的mRNA和蛋白表达增强^[30]。这表明circ-ITCH可以改善OP。另有研究发现, 在OP患者的骨样本中,

circStag1的表达能力受损, 而该circRNA的过表达可显著促进成骨分化(ALP和成骨标志物的表达)。此外, circStag1可与人抗原R相互作用, 通过维持低密度脂蛋白受体相关蛋白5/6(low density lipoprotein receptor-related protein 5/6, Lrp5/6)和β-catenin的表达, 促进其易位到细胞质中, 从而激活Wnt信号通路并增强成骨作用^[31]。OUYANG等^[32]发现, 与骨不愈合患者相比, circLPAR1在正常骨折愈合患者BMSC中高表达, 在成骨过程中也有所增加, 表明其参与骨形成。circLPAR1促进成骨的机制可能是通过增强ALP, 并诱导RUNX2、COL1A1和OCN的表达进而促进骨矿化。circRNA除具有促进成骨的作用外, 还具有抑制成骨的作用。HUANG等^[8]研究了脂肪来源干细胞中成骨分化条件下的circRNA表达谱, 他们发现, circPOMT1和circMCM3AP可通过降低成骨相关标志物水平以抑制成骨分化。WANG等^[33]在用褪黑素治疗OP患者后进行了RNA测序分析发现, 在受治疗显著影响的209个circRNA中, circ0003865水平显示出最明显的下降。这就说明, 如果OP患者的间充质干细胞分化为成骨细胞的能力受损或其脂肪生成潜力增强, 那么沉默circ0003865可能是一种促进骨形成有希望的治疗方法。尽管关于circRNA在骨形成相关过程中的作用的研究数量在过去几年中大幅增加, 但与其他转录本(如miRNA)的可用信息相比, 还需要深入研究(表2)。

表2 circRNA对骨形成汇总表
Table 2 Summary of circRNA on bone formation

circRNA	在骨代谢中的表达 Expression in bone metabolism	对骨形成的作用 Effect on bone formation	引用 Quote
CDR1as	Reduce	Promote	[29]
0016624	Reduce	Promote	[6]
ITCH	Reduce	Promote	[30]
Stag1	Reduce	Promote	[31]
LPAR1	Reduce	Promote	[32]
POMT1	Increase	Suppress	[8]
MCM3AP	Increase	Suppress	[8]
0003865	Increase	Suppress	[33]

表3 circRNA对骨吸收汇总表
Table 3 Summary of circRNA on bone resorption

circRNA	在骨代谢中的表达 Expression in bone metabolism	对骨吸收的作用 The effect on bone resorption	引用 Quote
BBS9	Increase	Promote	[35]
28313	Increase	Suppress	[37]
Hmbox1	Increase	Promote	[38]

3.2 circRNA对破骨的作用

OP患者骨微结构的退化主要是由造血骨髓谱系的破骨细胞和多核细胞的活化加剧所引起的, 这些细胞主要负责骨吸收。而circRNA可参与到破骨细胞分化的不同阶段, 因此这可能是治疗OP的潜在新靶点^[34]。到目前为止, 大多数此类研究都是在原代小鼠破骨细胞或RAW264.7细胞系中进行的, 这些研究为了解circRNA对破骨细胞的作用提供了初步见解。WANG等^[35]鉴定出circBBS9在破骨细胞中具有阶段特异性功能, 经RNA测序后发现, 该circRNA在单核破骨细胞中表达显著增加。此外, 在敲除circBBS9后, 破骨关键转录因子(NFATc3和c-FOS)和骨吸收相关蛋白(整合素、CTSK和V-ATPase-d9)的水平受到抑制。体内研究也证实, 为去卵巢小鼠静脉注射用于沉默circBBS9的工程纳米颗粒(可负载siRNA-circBBS9)可防止骨质流失和破骨细胞形成。DOU等^[36]使用微阵列筛选研究了小鼠单核细胞RAW264.7细胞系破骨细胞形成的不同阶段转录本(包括circRNA)的表达, 在检测到的1 797个circRNA中, 256个在破骨细胞分化前差异表达, 213个在成熟破骨细胞中差异表达, 156个在活化的破骨细胞中差异表达。另一项独立研究也使用微阵列分析确定了破骨细胞中29个上调和52个显著下调的circRNA, 在差异表达的circRNA中, 选择

circRNA28313进一步验证发现敲除cRNA28313会调控TRAP多核细胞的数量, 肌动蛋白环的形成(对骨吸收至关重要)以及PU.1、TRAP、NFATc1和CTSK的表达, 从而造成骨质流失^[37]。而circRNA28313作为miR-195a的ceRNA, 还可抑制miR-195a介导的CSF1表达, 进而促进骨吸收, 导致OP。LIU等^[38]通过使用去卵巢小鼠模型发现circHmbox1在TNF-α诱导的破骨细胞发育小鼠中表达上调。而体外实验表明, circHmbox1主要是通过调控TRAP、CTSK和NFATc1的表达来增强RANKL诱导的原发性破骨细胞分化的, 而circHmbox85的过表达则具有与此相反的效果。与对照动物相比, 注射circHmbox85的去卵巢小鼠的骨密度有所改善, 而骨切片的TRAP染色面积减少。这表明circHmbox85在体内的过表达可能缓解去卵巢诱导的OP, 促进骨形成。目前, 关于circRNA对破骨细胞作用的研究数量仍然有限, 未来的研究应侧重于探索人体骨骼破骨过程中circRNA表达水平和干预机制(表3)。

4 对肌骨具有共同作用的circRNA

相比于单纯的SP或OP, 目前对OS的circRNA研究还相对较少, 以下列举具有肌骨共生作用的circF-GFR2和circPDE4D。研究发现, circFGFR2在骨骼肌萎缩的小鼠模型中富集, 这似乎代表着某种保护作

用。而在肌肉发生损伤或萎缩时, circFGFR2可以增强成肌细胞的再生能力并抑制其铁死亡, 这可能是通过调控 miR-133a来实现的。此外, circFGFR2还被发现能够诱导成骨细胞的分化以增加新骨生成, 这是通过直接与 miR-107结合并抑制其靶点 RUNX2的方式实现的, 因此对 OP 也具有一定的治疗潜力^[39-40]。circPDE4D在人类骨骼肌中高表达, 可能对肌肉再生非常重要。它被发现可以通过吞噬 miRNA, 例如 miR-103a-3p/107, 从而解除对靶基因的抑制, 并进一步促进成肌细胞的分化。此外, circPDE4D还可以通过调节 AMPK/SIRT1 通路启动自噬, 为骨重塑提供可能的分子基础。也有研究发现, 降低 circPDE4D 的表达水平会抑制破骨细胞的自噬水平, 从而影响骨重塑^[41]。对于 OS 的 circRNA 研究尚处于起步阶段, 目前对肌骨共生作用的 circRNA 研究主要涉及 circFGFR2 和 circPDE4D 两种。研究认为, 它们在骨骼肌萎缩和骨骼重塑方面具有重要的调控作用。随着研究的深入, circRNA 有望成为治疗 OS 的潜在靶点。未来研究方向可以进一步拓展到研究更多种类的 circRNA 在肌骨系统中的功能和作用机制。此外, 还可以通过研究相关信号通路和分子网络的调控机制来加深对肌再生、骨重塑等方面的认识和理解。

5 结语

肌肉与骨骼是身体的基本组成部分, 具有重要的生理功能, 若肌肉骨骼系统发生病变会导致残疾、死亡等严重的不良结局。如上文所述, circRNA 作为一种新型生物标志物和调节因子, 在肌骨衰减类疾病的发生发展过程中起着至关重要的作用。在未来, 通过研究 circRNA 的生物合成、稳定性、互作网络等, 我们可以更好地理解 circRNA 在 OS 中的作用机制。此外, 应通过大规模筛选和验证, 寻找和 OS 高度相关的 circRNA, 以开发出新的早期诊断方法。最后, 应加强基础研究与临床研究的结合, 通过临床试验来验证在实验室中获得的研究结果。虽然我们对 circRNA 的理解仍处于初步阶段, 但是随着越来越多的研究利用高通量技术 (RNA 测序和微阵列) 来检测 OS 患者肌肉细胞和骨骼细胞增殖、分化过程中的 circRNA, 我们对 circRNA 的理解会进一步加深, 它们也有望为 OS 的诊断和治疗提供更广阔的视角。目前, 针对 OS 的临床治疗方法主要包括药物治疗、物理治疗和生活方式调整等。由于 circRNA 研究的

独特性, 未来有可能开发出基于 circRNA 的疗法来治疗 OS。然而, 要将这一研究领域推进到临床应用阶段, 还需要克服许多挑战, 包括深入理解 circRNA 在疾病中的具体作用机制、开发有效的药物干预手段、进行大规模的临床试验等。未来需要更多的研究来深入了解 circRNA 在这一疾病中的具体作用机制, 并开发基于 circRNA 的疗法来治疗 OS。

参考文献 (References)

- [1] LEE B C, CHO K H, MOON C W. Physical activity and osteosarcopenia in Korean adults aged 65 years and older: a national cross-sectional study using the KNHANES data [J]. BMC Geriatr, 2023, 23(1): 415.
- [2] BONANNI R, GINO GRILLO S, CARIATI I, et al. Osteosarcopenia and pain: do we have a way out [J]? Biomedicines, 2023, 11(5): 1285.
- [3] GHAFOURI-FARD S, SHOOREI H, HUSSEN B M, et al. Interaction between SIRT1 and non-coding RNAs in different disorders [J]. Front Genet, 2023, 14: 1121982.
- [4] 雷仪婷, 刘新光, 徐舜. 外泌体环状RNA在衰老及衰老相关疾病中的作用机制[J]. 中国生物化学与分子生物学报(LEI Y T, LIU X G, XU S. The mechanism of action of extracellular vesicle circular RNA in aging and age-related diseases [J]. Chinese Journal of Biochemistry and Molecular Biology), 2021, 37(12): 1592-600.
- [5] ZHOU W Y, CAI Z R, LIU J, et al. Circular RNA: metabolism, functions and interactions with proteins [J]. Mol Cancer, 2020, 19(1): 172.
- [6] YU L, LIU Y. circRNA_0016624 could sponge miR-98 to regulate BMP2 expression in postmenopausal osteoporosis [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2019, 516(2): 546-50.
- [7] YANG L, WILUSZ J E, CHEN L L. Biogenesis and regulatory roles of circular RNAs [J]. Annu Rev Cell Dev Biol, 2022, 38: 263-89.
- [8] HUANG A, ZHENG H, WU Z, et al. Circular RNA-protein interactions: functions, mechanisms, and identification [J]. Theranostics, 2020, 10(8): 3503-17.
- [9] XIANG Q, KANG L, WANG J, et al. CircRNA-CIDN mitigated compression loading-induced damage in human nucleus pulposus cells via miR-34a-5p/SIRT1 axis [J]. EBioMedicine, 2020, 53: 102679.
- [10] RAGUSA M, BARBAGALLO D, CHIOCCARELLI T, et al. CircNAPEPLD is expressed in human and murine spermatozoa and physically interacts with oocyte miRNAs [J]. RNA Biol, 2019, 16(9): 1237-48.
- [11] 张旭, 关勇宇, 刘芳, 等. 环状RNA对自噬和癌症进展的影响 [J]. 中国细胞生物学学报(ZHANG X, GUAN Y Y, LIU F, et al. The effect of circular RNA on autophagy and cancer progression [J]. Chinese Journal of Cell Biology), 2023, 45(6): 936-42.
- [12] SONG Z, LIU Y, FANG X, et al. Comprehensive analysis of the expression profile of circRNAs and their predicted protein-coding ability in the muscle of mdx mice [J]. Funct Integr Genomics, 2020, 20(3): 397-407.
- [13] WANG Y, LI M, WANG Y, et al. A Zfp609 circular RNA regu-

- lates myoblast differentiation by sponging miR-194-5p [J]. *Int J Biol Macromol*, 2019, 121: 1308-13.
- [14] LI L, CHEN Y, NIE L, et al. MyoD-induced circular RNA CDR1as promotes myogenic differentiation of skeletal muscle satellite cells [J]. *Biochim Biophys Acta Gene Regul Mech*, 2019, 1862(8): 807-21.
- [15] PANDEY P R, YANG J H, TSITSIPATIS D, et al. circSamd4 represses myogenic transcriptional activity of PUR proteins [J]. *Nucleic Acids Res*, 2020, 48(7): 3789-805.
- [16] JU J, LI X M, ZHAO X M, et al. Circular RNA FEACR inhibits ferroptosis and alleviates myocardial ischemia/reperfusion injury by interacting with NAMPT [J]. *J Biomed Sci*, 2023, 30(1): 45.
- [17] ZHONG D, HUANG K, ZHANG L, et al. Circ2388 regulates myogenesis and muscle regeneration [J]. *Cell Tissue Res*, 2023, 393(1): 149-61.
- [18] FAN Y, ZHANG Z, DENG K, et al. CircUBE3A promotes myoblasts proliferation and differentiation by sponging miR-28-5p to enhance expression [J]. *Int J Biol Macromol*, 2023, 226: 730-45.
- [19] SUN D, AN J, CUI Z, et al. CircCSDE1 regulates proliferation and differentiation of C2C12 myoblasts by sponging miR-21-3p [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(19): 12038.
- [20] CHEN M, WEI X, SONG M, et al. Circular RNA circMYBPC1 promotes skeletal muscle differentiation by targeting MyHC [J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2021, 24: 352-68.
- [21] LEGNINI I, DI TIMOTEO G, ROSSI F, et al. Circ-ZNF609 is a circular RNA that can be translated and functions in myogenesis [J]. *Mol Cell*, 2017, 66(1): 22-37.
- [22] AI N, YU Z, XU X, et al. Circular intronic RNA circTTN inhibits host gene transcription and myogenesis by recruiting PURB proteins to form heterotypic complexes [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(12): 9859.
- [23] WANG X, CAO X, DONG D, et al. Circular RNA TTN acts as a miR-432 sponge to facilitate proliferation and differentiation of myoblasts via the IGF2/PI3K/AKT signaling pathway [J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2019, 18: 966-80.
- [24] ZHANG J, LI Y, CHEN Y, et al. Circ-calm4 regulates hypoxia-induced pulmonary artery smooth muscle autophagy by binding Purb [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2023, 176: 41-54.
- [25] MAO C, MA Z, JIA Y, et al. Nidogen-2 maintains the contractile phenotype of vascular smooth muscle cells and prevents neointima formation via bridging jagged1-notch3 signaling [J]. *Circulation*, 2021, 144(15): 1244-61.
- [26] YU J, YAN W Z, ZHANG XH, et al. Down-regulation of the smad signaling by circZBTB46 via the Smad2-PDLIM5 axis to inhibit type I collagen expression [J]. *J Geriatr Cardiol*, 2023, 20(6): 431-47.
- [27] CHEN R, YANG T, JIN B, et al. CircTmeff1 promotes muscle atrophy by interacting with TDP-43 and encoding a novel TMEFF1-339aa protein [J]. *Adv Sci*, 2023, 10(17): e2206732.
- [28] HE T, LIU W, CAO L, et al. CircRNAs and LncRNAs in osteoporosis [J]. *Differentiation*, 2020, 116: 16-25.
- [29] LI X, ZHENG Y, ZHENG Y, et al. Circular RNA CDR1as regulates osteoblastic differentiation of periodontal ligament stem cells via the miR-7/GDF5/SMAD and p38 MAPK signaling pathway [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2018, 9(1): 232.
- [30] ZHONG D, XU G Z, WU J Z, et al. Circ-ITCH sponges miR-214 to promote the osteogenic differentiation in osteoporosis via upregulating YAP1 [J]. *Cell Death Dis*, 2021, 12(4): 340.
- [31] CHEN G, LONG C, WANG S, et al. Circular RNA circStag1 promotes bone regeneration by interacting with HuR [J]. *Bone Res*, 2022, 10(1): 32.
- [32] OUYANG Z, TAN T, ZHANG X, et al. CircRNA hsa_circ_0074834 promotes the osteogenesis-angiogenesis coupling process in bone mesenchymal stem cells (BMSCs) by acting as a ceRNA for miR-942-5p [J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10(12): 932.
- [33] WANG X, CHEN T, DENG Z, et al. Melatonin promotes bone marrow mesenchymal stem cell osteogenic differentiation and prevents osteoporosis development through modulating circ_0003865 that sponges miR-3653-3p [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2021, 12(1): 150.
- [34] SILVA AM, MOURA S R, TEIXEIRA J H, et al. Long noncoding RNAs: a missing link in osteoporosis [J]. *Bone Res*, 2019, 7: 10.
- [35] WANG Q, WANG H, YAN H, et al. Suppression of osteoclast multinucleation via a posttranscriptional regulation-based spatiotemporally selective delivery system [J]. *Sci Adv*, 2022, 8(26): eabn3333.
- [36] DOU C, CAO Z, YANG B, et al. Changing expression profiles of lncRNAs, mRNAs, circRNAs and miRNAs during osteoclastogenesis [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 21499.
- [37] CHEN X, OUYANG Z, SHEN Y, et al. CircRNA_28313/miR-195a/CSF1 axis modulates osteoclast differentiation to affect OVX-induced bone absorption in mice [J]. *RNA Biol*, 2019, 16(9): 1249-62.
- [38] KRISTENSEN L S, JAKOBSEN T, HAGER H, et al. The emerging roles of circRNAs in cancer and oncology [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2022, 19(3): 188-206.
- [39] YAN J, YANG Y, FAN X, et al. circRNAome profiling reveals circFgfr2 regulates myogenesis and muscle regeneration via a feedback loop [J]. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*, 2022, 13(1): 696-712.
- [40] DU Y, LI J, HOU Y, et al. Alteration of circular RNA expression in rat dental follicle cells during osteogenic differentiation [J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120(8): 13289-301.
- [41] GAO L, WANG X, XIONG J, et al. Circular RNA from phosphodiesterase 4D can attenuate chondrocyte apoptosis and matrix degradation under OA milieu induced by IL-1 β via circPDE4D/miR-4306/SOX9 Cascade [J]. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 2022, 44(5): 682-92.