

环状 RNA 在骨关节炎发生发展中的作用

许丽梅¹, 贾良良¹, 何晓娟¹, 李慧¹, 叶蕪芝², 李西海¹

(1. 福建中医药大学, 福建 福州 350108;

2. 福建省中西医结合老年性疾病重点实验室, 福建 福州 350108)

摘要 骨关节炎是一种常见的慢性、退行性、进展性骨关节疾病, 为力学因素与生物学因素共同作用下导致软骨细胞、细胞外基质和软骨下骨三者降解-合成正常偶联失衡的结果。环状 RNA (circular RNA, circRNA) 是一类具有环形结构的 RNA 分子, 在多种生物体中广泛存在, 并在多种疾病中发挥特殊的生物学功能, 但其在骨关节炎发生发展中的作用机制有待进一步深入研究。本文从 circRNA 的生物学功能以及 circRNA 调控炎症反应、软骨基质代谢、软骨下骨的改变与软骨细胞增殖、分化、凋亡等方面对 circRNA 在骨关节炎发生发展中的作用进行了综述。

关键词 骨关节炎; RNA; 综述

骨关节炎 (osteoarthritis, OA) 是在机械性和生物学因素作用下, 关节软骨细胞、细胞外基质和软骨下骨的正常合成与降解失衡, 导致关节软骨退变、纤维化、软骨下骨硬化、炎性变和骨赘形成, 出现关节疼痛、活动受限、畸形等为临床表现的一种疾病^[1]。该病的主要病理改变为关节软骨的完整性遭到破坏, 即软骨细胞的减少和细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 的降解, 并可累及软骨下骨。目前学术界普遍认为 OA 的发生与关节损伤、肥胖、衰老和遗传等因素有关^[2-5], 但其具体发病机制有待深入研究。随着高通量测序技术的发展, 有研究发现环状 RNA (circular RNA, circRNA) 在真核细胞中广泛存在, 具有多种生物学功能, 在多种疾病中发挥着重要的调控作用^[6-7]。本文就环状 RNA 在 OA 发生发展中的作用综述如下。

1 circRNA 的生物学功能

circRNA 是一类不具有 5' 和 3' 末端头尾结构, 以共价键形成环状结构的 RNA 分子^[8]。circRNA 主要有以下几个方面的功能: ①具有微小 RNA (micro RNA, miRNA) 海绵作用。miRNA 是一类线性的非编码 RNA, 能够通过碱基互补配对直接与靶 mRNA 结合并促进其降解等, 参与病理与生理过程的调控^[9],

而 circRNA 拥有 miRNA 海绵结合位点, 能够以竞争性抑制剂的形式抑制 miRNA 与靶标结合的能力, 从而抑制 mRNA 翻译的作用。虽然目前的研究仅证明一部分的 circRNA 具备 miRNA 海绵功能, 但 circRNA 的相关研究已成为医学届的研究热点问题之一。②与 RNA 结合蛋白相互作用。circRNA 能与 RNA 结合蛋白 (RNA-binding proteins, RBPs) 相结合, 形成 RNA 蛋白复合物 (RNA-protein complexes, RPCs)。这些 RPCs 可以调节 RBPs, 然后与线性 RNA 相互作用, 发挥生物学功能^[10-11]。③调节亲代基因表达。circRNA 大量存在于细胞核中, 可结合 RBPs, 特别是转录相关因子, 包括 RNA 聚合酶 II、转录因子等, 将其募集到亲本基因, 进而影响亲本基因的表达, 调控转录过程^[12]。④翻译蛋白质。近年研究发现, circRNA 也具有翻译蛋白质的功能。有研究通过体外实验研究证实, 当合成的环状 RNA 包含一个能有效进行翻译的内部核糖体进入位点序列, 并直接与核糖体结合, 则可在真核细胞中被翻译, 但这仅是间接证据^[13-14]。更直接的证据是天然真核内源性 circRNA 能够通过腺苷 N6 的甲基化来驱动蛋白质翻译, 说明 circRNA 具有编码蛋白质的功能^[15-16]。

2 circRNA 在 OA 发生发展中的作用

circRNA 广泛参与人类多种疾病的发生发展过程, 在多种细胞中广泛存在并发挥重要作用。而 circRNA 在 OA 发生发展中的作用机制尚需进一步研究。最近的研究表明, 一些 circRNA 在 OA 中异常表达, 这有可能成为调控 OA 的重要靶点及药物治疗 OA 的重要作用靶点。

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (81573998); 福建省自然科学基金科技计划项目 (2016J01395); 中国博士后科学基金第 60 批面上资助项目 (2016M600625); 中国博士后科学基金第 10 批特别资助项目 (2017T100591)

通讯作者: 李西海 E-mail: lixihai79dahai@163.com

2.1 circRNA 调控炎症反应 目前越来越多的证据显示炎症是导致 OA 软骨病变的重要因素。除了传统的炎症因子,如白细胞介素(interleukin, IL) - 1 β 、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF) - α 和多种趋化因子,近年研究表明烟酰胺磷酸核糖转移酶(nicotinamide phosphoribosyl transferase, NAMPT)与 OA 炎症反应的激活也有一定的关联^[17]。NAMPT 在 OA 中的功能是抑制软骨细胞蛋白聚糖合成,促进基质降解酶的表达。研究发现 IL - 1 β 干预软骨细胞后,hsa_circ_0005105 表达上升,同时发现 hsa_circ_0005105 并不直接作用于 miR - 26a,而是通过上调 miR - 26a 靶基因 NAMPT,来促进软骨 ECM 的降解,及基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP) - 13、聚蛋白多糖酶(a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs, ADAMTS) - 4、前列腺素 E2、IL - 6、IL - 8 的表达^[17]。这说明 hsa_circ_0005105 能促进多种炎症因子的表达。在另一项研究中,同样用 IL - 1 β 干预小鼠软骨细胞后,发现 circRNA - Atp9b 表达显著上升;而沉默 circRNA - Atp9b 后,软骨细胞的 II 型胶原表达上升,MMP13、环氧化酶 - 2 和 IL - 6 的表达下降;circRNA - Atp9b 直接作用于 mirc - 138 - 5p,并且通过竞争性抑制 mir - 138 - 5p,促进 ECM 的降解和软骨细胞炎症反应,从而推进了 OA 的进程,这说明 circRNA - Atp9b 与多个炎症因子表达有关^[18]。同时,TNF - α 刺激软骨细胞则可上调 hsa_circ_0045714 表达,说明 hsa_circ_0045714 可能与炎症因子 TNF - α 存在某种关系^[19]。这些研究均发现了一些与炎症反应相关的 circRNA,今后仍需进一步深入研究。

2.2 circRNA 调控软骨细胞增殖、分化和凋亡 软骨细胞是软骨中的唯一细胞,分散于细胞外基质中,软骨细胞的正常代谢和合成基质的功能对于维持软骨的稳态起着决定性作用。软骨细胞功能的退变是引起 OA 的重要因素,因此调节好软骨细胞增殖、凋亡、自噬、分泌等功能是预防和治疗 OA 的关键。

胰岛素样生长因子(insulin like growth factor, IGF)是促进软骨生长发育的重要调节因子,能明显促进软骨细胞的分裂和增殖,并刺激蛋白多糖和 II 型胶原的合成^[20]。IGF1 受体是细胞生长所必须的,几乎在所有的人类组织和细胞中广泛表达^[21]。IGF1 受体结合 IGF1 和 IGF2 后,通过磷酸化,激活磷脂酰肌醇 3 - 激酶和丝裂原活化蛋白激酶信号通路调节细胞增

殖、分化和凋亡,说明 IGF1 受体对调控软骨细胞增殖、分化、凋亡具有重要作用^[22]。

有研究发现,hsa_circ_0045714 能够上调蛋白多糖和 II 型胶原的表达、促进细胞的增殖,而 miR - 193b 则具有促进细胞凋亡的作用;同时还发现,虽然 hsa_circ_0045714 不直接作用于 miR - 193b,但可以抑制其转录活性,并通过 miR - 193b 靶基因的 IGF1 受体的作用,来调控软骨细胞增殖、凋亡及细胞外基质合成^[19]。这表明 circRNA 对软骨细胞生长有一定的调节作用。

2.3 circRNA 调控软骨基质代谢 ECM 具有保护软骨细胞免受机械应力破坏的作用,主要由 II 型胶原和蛋白多糖组成,而这些成分的逐步缺失被认为是 OA 的主要病理特征。ECM 降解的主要原因是 MMPs、ADAMTS 等物质分泌异常。目前有研究发现,以下几类 circRNA 与 ECM 的降解有关:①circRNA - CER 是一类特殊的与软骨 ECM 相关的 circRNA。通过基因共表达网络分析,发现 circRNA - CER 有 5 个潜在 miRNAs 结合位点,分别是 miR - 636、miR - 665、miR - 217、miR - 646 和 miR - 136^[23]。使用 IL - 1 和 TNF - α 刺激软骨细胞后,circRNA - CER 的表达明显上升,使用小干扰 RNA 沉默 circRNA - CER 后 MMP - 13 表达量降低,II 型胶原和蛋白多糖表达增高,说明 circRNA - CER 与 ECM 降解有关。这是由于 circRNA - CER 能够竞争性抑制 miRNA - 136,促进 MMP - 13 表达,参与 OA 的发生、发展过程^[23]。②circRNA - MSR 是通过对比 OA 软骨组织和正常软骨组织的 RNA 表达谱,筛选出的特殊的与软骨相关的 circRNA。miRNA 为 circRNA - MSR 和 TNF - α 的共同作用目标^[24]。软骨细胞在机械应力的刺激下,circRNA - MSR 表达上升,II 型胶原和蛋白多糖表达下降,而沉默 circRNA - MSR 后,能抑制 TNF - α 的表达,促进 ECM 合成。③circRNA - Atp9b 被沉默后,II 型胶原表达上升,炎症因子表达下降;同时能竞争性抑制 miR - 138 - 5p,从而导致 ECM 的降解^[18]。④hsa_circ_0005105 在软骨细胞受到 IL - 1 β 刺激后表达上升,并且能上调 miR - 26a 靶基因 NAMPT,从而促进软骨 ECM 的降解,说明 hsa_circ_0005105 与软骨 ECM 的降解有关^[17]。⑤hsa_circ_0045714 也能够通过抑制 miR - 193b 的转录活性,并作用于其靶基因 IGF1 受体,来调控软骨细胞增殖、凋亡及细胞外基质合成,说明其与软骨 ECM 的降解也有关^[19]。综上所

述, circRNA 广泛参与了软骨 ECM 的降解过程, 从而推进了 OA 病程的发展。

2.4 circRNA 调控软骨下骨的改变 关节软骨破坏是 OA 的典型病理特征之一, 而软骨下骨骨质的改变也是 OA 的重要特征。软骨下骨在 OA 的初始阶段即被激活, 当关节面的受力异常, 关节软骨将这种异常受力传导至软骨下骨, 软骨下骨骨小梁内的成骨细胞及破骨细胞在受到刺激后被异常激活, 导致软骨下骨的成骨及破骨情况异常, 进而导致骨赘形成和软骨下骨囊肿^[25]。有研究通过检测不同分化阶段的破骨细胞基因表达谱, 发现上百个 miRNA 以及 circRNA 在不同阶段中均有明显差异; 并且 miRNA 和 circRNA 表达模式十分相似, 均表现为上调的居多, 而下调的较少^[26]。Dou 等^[27] 根据 miRNA 和 circRNA 的表达情况构建了 miRNA - circRNA 共表达网络, 结果发现 miR - 103 同时作用于一个上调的 circRNA (circRNA - 007873) 与 2 个下调的 circRNA (circRNA - 010763, circRNA - 015622)。有研究已发现 miR - 103 能够通过靶向调节 Runx2 对成骨细胞的分化和矿化起到抑制效应^[28]。另一研究则表明在模拟失重环境下, miR - 103 抑制成骨细胞的增殖, 然而其在破骨细胞中的作用尚需进一步研究^[29]。Qian 等^[30] 研究发现, 158 条 circRNAs 有差异性表达, 有 74 条 circRNA 表达增高、84 条 circRNA 表达下降, 其中 circ - 5846 可能与 mir - 30b - 3p、mir - 18a - 3p、mir - 432、mir - 25 - 3p 等有关, circ - 19142 可能与 mir - 222 - 3p、mir - 7067 - 5p 等有关; 进一步分析发现 circ - 19142 和 circ - 5846 参与细胞生长、分化与 Wnt 信号通路相关, 说明 circ - 19142 和 circ - 5846 与成骨细胞的分化有关; 并提出 circRNA - miRNA - mRNA 轴可能参与促进成骨细胞分化的机制, 但需进一步实验研究证实。

3 小 结

circRNA 可通过调控炎症反应、软骨基质代谢、软骨下骨的改变与软骨细胞增殖、分化和凋亡等对 OA 的发生发展起着关键的调控作用。传统中药一般是在中医理论指导下按照“君、臣、佐、使”的配伍原则, 通过多成分、多途径、多靶点的特点发挥其对 OA 的治疗作用, 而 circRNA 也广泛参与 OA 的病理调节过程, 这将为中药复方的多靶点整合调节效应的研究提供新的视角。虽然 circRNA 仍是一个新兴的研究热点, 且目前有关 circRNA 在 OA 发生发展中的作用的研究仍较少, 但随着 RNA 高通量技术和生物信息技

术的发展, 相信 circRNA 在 OA 发生发展中的作用和功能将会被逐一揭示出来, 可以为寻找中药治疗 OA 的靶点研究提供新的切入点, 更为临床诊疗 OA 提供新的思路 and 方向。

4 参 考 文 献

- [1] CHEN D, SHEN J, ZHAO W, et al. Osteoarthritis: toward a comprehensive understanding of pathological mechanism[J]. Bone Research, 2017, 5(1): 16044.
- [2] LOESER RF, GOLDRING SR, SCANZELLO CR, et al. Osteoarthritis: a disease of the joint as an organ[J]. Arthritis Rheum, 2012, 64(6): 1697 - 1707.
- [3] GOLDRING MB, GOLDRING SR. Osteoarthritis[J]. J Cell Physiol, 2007, 213(3): 626 - 634.
- [4] KRASNOKUTSKY S, SAMUELS J, ABRAMSON SB. Osteoarthritis in 2007[J]. Bull NYU Hosp Jt Dis, 2007, 65(3): 222 - 228.
- [5] LOESER RF. Aging and osteoarthritis: the role of chondrocyte senescence and aging changes in the cartilage matrix[J]. Osteoarthritis & Cartilage, 2009, 17(8): 971 - 979.
- [6] KULCHESKI FR, CHRISTOFF AP, MARGIS R. Circular RNAs are miRNA sponges and can be used as a new class of biomarker[J]. J Biotechnol, 2016, 238: 42 - 51.
- [7] GREENE J, BAIRD AM, BRADY L, et al. Circular RNAs: biogenesis, function, and role in human diseases[J]. Front Mol Biosci, 2017, 4: 38.
- [8] SALZMAN J, GAWAD C, WANG PL, et al. Circular RNAs are the predominant transcript isoform from hundreds of human genes in diverse cell types[J]. PLoS One, 2012, 7(2): 30733.
- [9] EBERT MS, SHARP PA. MicroRNA sponges: progress and possibilities[J]. RNA, 2010, 16(11): 2043 - 2050.
- [10] ABDELMOHSEN K, KUWANO Y, KIM HH, et al. Posttranscriptional gene regulation by RNA-binding proteins during oxidative stress: implications for cellular senescence[J]. Biol Chem, 2008, 389(3): 243 - 255.
- [11] YIN QF, YANG L, ZHANG Y, et al. Long noncoding RNAs with snoRNA ends[J]. Mol Cell, 2012, 48(2): 219 - 230.
- [12] QU S, YANG X, LI X, et al. Circular RNA: A new star of noncoding RNAs[J]. Cancer Lett, 2015, 365(2): 141 - 148.
- [13] CHEN CY, SARNOW P. Initiation of protein synthesis by the eukaryotic translational apparatus on circular RNAs[J]. Science, 1995, 268(529): 415 - 417.
- [14] CONN SJ, PILLMAN KA, TOUBIA J, et al. The RNA binding protein quaking regulates formation of circRNAs[J]. Cell, 2015, 160(6): 1125 - 1134.

- [15] YANG Y, FAN XJ, MAO MW, et al. Extensive translation of circular RNAs driven by N-6-methyladenosine [J]. Cell Res, 2017, 27(5): 626-641.
- [16] PAMUDURTI NR, BARTOK O, JENS M, et al. Translation of CircRNAs [J]. Mol Cell, 2017, 66(1): 9-21.
- [17] WU Y, ZHANG Y, ZHANG Y, et al. CircRNA hsa_circ_0005105 upregulates NAMPT expression and promotes chondrocyte extracellular matrix degradation by sponging miR-26a [J]. Cell Biol Int, 2017, 41(12): 1283-1289.
- [18] ZHOU ZB, DU D, HUANG GX, et al. Circular RNA Atp9b, a competing endogenous RNA, regulates the progression of osteoarthritis by targeting miR-138-5p [J]. Gene, 2018, 646: 203-209.
- [19] LI BF, ZHANG Y, XIAO J, et al. Hsa_circ_0045714 regulates chondrocyte proliferation, apoptosis and extracellular matrix synthesis by promoting the expression of miR-193b target gene IGF1R [J]. Hum Cell, 2017, 30(4): 311-318.
- [20] GOOCH KJ, BLUNK T, COURTER DL, et al. IGF-I and mechanical environment interact to modulate engineered cartilage development [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2001, 286(5): 909-915.
- [21] TAKADA Y, TAKADA YK, FUJITA M. Crosstalk between insulin-like growth factor (IGF) receptor and integrins through direct integrin binding to IGF1 [J]. Cytokine & Growth Factor Reviews, 2017, 34: 67-72.
- [22] ZHANG Y, MOERKENS M, RAMAIAHGARI S, et al. Elevated insulin-like growth factor 1 receptor signaling induces antiestrogen resistance through the MAPK/ERK and PI3K/Akt signaling routes [J]. Breast Cancer Res, 2011, 13(3): 52.
- [23] LIU Q, ZHANG X, HU X, et al. Circular RNA related to the chondrocyte ECM regulates MMP13 expression by functioning as a miR-136 'sponge' in human cartilage degradation [J]. Sci Rep, 2016, 6: 22572.
- [24] LIU Q, ZHANG X, HU X, et al. Emerging roles of circRNA related to the mechanical stress in human cartilage degradation of osteoarthritis [J]. Mol Ther Nucleic Acids, 2017, 7(4): 223-230.
- [25] DIEPPE P, CUSHNAGHAN J, YOUNG P, et al. Prediction of the progression of joint space narrowing in osteoarthritis of the knee by bone scintigraphy [J]. Ann Rheum Dis, 1993, 52(8): 557-563.
- [26] DAY JS, VAN DER LINDEN JC, BANK RA, et al. Adaptation of subchondral bone in osteoarthritis [J]. Biorheology, 2004, 41(3/4): 359-368.
- [27] 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.
- [28] ZUO B, ZHU J, LI J, et al. microRNA-103a functions as a mechanosensitive microRNA to inhibit bone formation through targeting Runx2 [J]. J Bone Miner Res, 2015, 30(2): 330-345.
- [29] SUN Z, CAO X, HU Z, et al. MiR-103 inhibits osteoblast proliferation mainly through suppressing Cav1.2 expression in simulated microgravity [J]. Bone, 2015, 76: 121-128.
- [30] QIAN DY, YAN GB, BAI B, et al. Differential circRNA expression profiles during the BMP2-induced osteogenic differentiation of MC3T3-E1 cells [J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2017, 90: 492-499.

(收稿日期: 2018-05-20 本文编辑: 时红磊)

· 简 讯 ·

《中医正骨》2019 年征订启事

《中医正骨》杂志 [CN 41-1162/R, ISSN 1001-6015] 是由国家中医药管理局主管、河南省正骨研究院与中华中医药学会联合主办的中医骨伤科学术性期刊, 也是《中国学术期刊影响因子年报》统计源期刊、全国中医药优秀期刊、波兰《哥白尼索引》收录期刊, 由我国中医药界首位“白求恩奖章”获得者、首批国家级非物质文化遗产项目——中医正骨疗法的代表性传承人之一、洛阳平乐郭氏正骨第六代传人郭维淮主任医师担任主编, 创刊于 1989 年。

《中医正骨》具有中医特色突出、临床实用性强、办刊定位准确、发行量大、图文并茂等特点, 办刊宗旨是: 突出中医骨伤特色, 反映学术进展, 交流新经验, 报道新成果, 传递新信息, 为促进中医骨伤科现代化服务。

该刊为月刊, 大 16 开本, 84 页, 国内外公开发行, 每月 20 日出版, 铜版纸彩色印刷, 每期定价 RMB 15.00 元, 全年定价 RMB 180.00 元。国内读者请继续到当地邮政分公司订阅, 邮发代号: 36-129; 国外读者请与中国国际图书贸易集团有限公司联系 (邮政编码: 100048, 北京 399 信箱, 国外代号: M 4182)。创办近 30 年的《中医正骨》杂志将继续坚持办刊宗旨, 为广大读者、作者提供更加充足、快捷的科技信息。

编辑部地址: 河南省洛阳市瀍河区启明南路 82 号 邮政编码: 471002
http://www.zygzgzz.com

联系电话: 0379-63551943 或 63546705
E-mail: zygz1989@126.com

欢 迎 订 阅

欢 迎 投 稿