breast cancers [J]. Int J Pharm, 2019, 569: 118605. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2019.118605.
[57] MANDA K, JUERß D, FISCHER P, et al. Simvastatin treatment varies the radiation response of human breast cells in 2D or 3D culture[J]. Invest New Drugs, 2021,39(3):658-669.
[58] HUANG SW, CHYUAN IT, SHIUE C, et al. Lovastatin-mediated MCF-7 cancer cell death involves LKB1-AMPK-p38MAPK-p53-survivin signalling cascade[J]. J Cell Mol Med, 2020, 24 (2):1822-1836.
[59] WANG L, WANG Y, CHEN A, et al. Pitavastatin slows tumor progression and alters urine-derived volatile organic compounds through the mevalonate pathway[J]. FASEB J, 2019, 33(12): 13710-13721.
[60] BYTAUTAITE M, PETRIKAITE V. Comparative study of lipophilic statin activity in 2D and 3D in vitro models of human breast cancer cell lines MDA-MB-231 and MCF-7[J]. Onco Targets Ther, 2020,13:13201-13209.
[61] LIU X, BAO X, HU M, et al. Inhibition of PCSK9 potentiates immune checkpoint therapy for cancer[J]. Nature, 2020, 588 (7839):693-698.
[62] 李秋影,王晓军,陈飞儿,等.野黄芩苷对代谢综合征的防治[J].吉林医药学院学报,2018,39(1):54-56.
[63] WANG H, GUAN L, LI J, et al. The Effects of Berberine on the gut microbiota in apc min/+mice fed with a high fat diet[J]. Molecules, 2018,23(9):2298.
[64] CAMPBELL KL, WINTERS-STONE KM, WISKEMANN J, et al. Exercise guidelines for cancer survivors: consensus statement from international multidisciplinary roundtable [J]. Med Sci Sports Exerc, 2019,51(11):2375-2390.
[65] PATEL AV, FRIEDENREICH CM, MOORE SC, et al. American college of sports medicine roundtable report on physical activity, sedentary behavior, and cancer prevention and control[J]. Med Sci Sports Exerc, 2019,51(11):2391-2402.
[66] KOELWYN GJ, QUAIL DF, ZHANG X, et al. Exercise-dependent regulation of the tumour microenvironment[J].Nat Rev Cancer, 2017,17(10):620-632.

(收稿日期:2022-09-30,修回日期:2022-11-12)

引用本文:张晓彤,郝婧婧,李芳,等.长链的非编码RNA生长停滞特异性转录本5在骨关节炎中的研究进展[J].安徽医药,2024,28(5):870-873.**DOI:10.3969/j.issn.1009-6469.2024.05.005.**

◇综述◇

长链的非编码RNA生长停滞特异性转录本5在骨关节炎中的研究进展

张晓彤[1],郝婧婧[1],李芳[2],纪斌平[3],张芳芳[3]

作者单位:[1]山西医科大学第二临床医学院,山西 太原030000;
[2]山西医科大学第二医院风湿免疫科,山西 太原030000;
[3]山西华晋骨科医院骨科,山西 太原030400

通信作者:李芳,女,教授,硕士生导师,研究方向为风湿免疫,Email:sunshine5670@hotmail.com

基金项目:山西省归国留学人员科研基金(晋财社〔2018〕123号);山西省华晋骨科公益基金(20210401)

摘要 骨关节炎(OA)是一种以软骨退变、骨重建为主要病理特点的慢性关节疾病。目前没有可治愈该疾病的药物及手段,治疗策略有限的根本原因是对其潜在发病机制的认识不足。长链的非编码RNA(LncRNAs)被认为是许多疾病中的一类新的调控因子,是目前研究OA发病机制的一个重要切入点。LncRNA生长停滞特异性转录本5(Cas5)参与调控细胞的增殖、分化及凋亡,是一种在软骨细胞中特异性高表达的LncRNA。然而,由于LncRNA Cas5作用机制复杂,其与OA相关具体分子机制目前仍不明确。该文针对LncRNA Cas5在OA中的软骨细胞凋亡、软骨基质代谢成骨分化及治疗方面的作用进行综述。

关键词 骨关节炎; 长链非编码RNA; 生长停滞特异性转录本5

Research progress of LncRNA GAS5 in osteoarthritis

ZHANG Xiaotong[1],HAO Jingjing[1],LI Fang[2],JI Binping[3],ZHANG Fangfang[3]

Author Affiliations:[1]*Second Clinical Medical College of Shanxi Medical University, Taiyuan, Shanxi* 030000,*China;*
[2]*Department of Rheumatology and Immunology, The Second Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan, Shanxi* 030000, *China;*[3]*Department of Orthopaedics, Shanxi Huajin Orthopaedic Hospital, Taiyuan, Shanxi* 030400, *China*

Abstract Osteoarthritis (OA) is a chronic joint disease with cartilage degeneration and bone reconstruction as its main pathologic features. At present, there are no drugs and means to cure the disease, and the primary cause of the limited treatment strategies is the insufficient understanding of the underlying pathogenesis. Long non-coding RNAs (LncRNAs) are considered as a new class of regulators for many diseases and an important point for studying the pathogenesis of OA. LncRNA growth arrest specific transcript 5 (GAS5) is involved in the regulation of cell proliferation, differentiation and apoptosis, and is an LncRNA specifically and highly expressed in chondrocytes. However, due to the complex mechanism of LncRNA GAS5, the specific molecular mechanism associated with osteoarthritis is still unclear. This review addressed the role of LncRNA GAS5 in chondrocyte apoptosis, the metabolism and osteogenic differentiation of cartilage matrix, and its treatment.

Keywords Osteoarthritis; Long noncoding RNA; Growth arrest-specific 5

骨关节炎(osteoarthritis,OA)是一种可致残的慢性、退行性疾病。据估计,全世界有3亿人患有OA[1]。作为最常见的关节炎,OA与多种危险因素有关,大体可分为两类:关节因素,如创伤、异常机械应力及对线不良,以及非关节因素,如衰老、肥胖、性别和遗传,在以上一系列因素的独立或相互作用下,机体出现代谢异常、关节内稳态破坏、氧化应激、免疫紊乱及炎症等异常反应而导致OA的发生。关节疼痛、僵硬及肿胀为其典型症状,随着病情的发展,关节活动性和功能终将丧失。随着老龄化进程的加快和预期寿命的延长,未来OA的患病率将不断增加,这不仅加重了人类的健康负担,甚至对卫生系统及社会经济产生巨大影响。

长链的非编码RNA(long noncoding RNA,LncRNAs)是由RNA聚合酶Ⅱ转录而成,具有高度保守性的长度≥200个核苷酸的核糖核酸。在过去,lncRNAs被认为是在功能上不能定性的“暗物质”。然而,LncRNAs通常位于细胞核和细胞质中,经转录后修饰,在众多生物学过程中发挥着关键作用,比如调控表观遗传、调节基因表达转录、组织蛋白复合物、传递细胞间通讯以及参与核亚结构的形成。研究报道,lncRNAs是多种慢性疾病发病机制中的关键参与者,例如癌症、心血管疾病、神经系统疾病[2-3]。先前还有研究表明,大量的lncRNAs参与了OA的主要病理过程[4]。一项研究利用Illumina测序平台在OA软骨中检测出多种差异性表达的lncRNAs,其中包括Lnc RNA生长停滞特异性转录本5(growth arrest-specific 5,Gas5)[5]。可见LncRNA Gas5是影响OA发生发展的重要物质。现对LncRNA Gas5在OA中的研究进行综述,为OA的分子机制提供参考依据。

1 LncRNA Gas5概述与其生理学功能

LncRNA Gas5基因最初是从小鼠基因组DNA中分离出来的,因存在于生长停滞细胞的细胞质中而命名。该基因位于染色体1q25.1上,由12个外显子和11个内含子组成,内含子通过剪接产生两个成熟的LncRNAs(Gas5a和Gas5b)与多个小核仁RNA(small nucleolar RNA, SnoRNAs)。尽管LncRNA Gas5带有一个短的开放阅读框架,但它不能编码蛋白质,从而成为SnoRNAs的宿主。由于终止密码子的存在,没有转录本被翻译成蛋白质,它们通过衰变途径被降解。Gas5的水平由其降解控制,而不是由其转录程度控制[6-8]。LncRNA Gas5具有不同的转录起始点和多种剪接形式[9]。这一特点尤其可以解释LncRNA Gas5可以发挥多种生物学功能。

近年来,LncRNA Gas5被证明与人类许多疾病有关,特别是癌症,其表达水平在多种恶性肿瘤中下调,包括包括非小细胞肺癌、乳腺癌、肝细胞癌、食管癌、胃癌、结肠癌、胰腺癌、宫颈癌、卵巢癌、肾细胞癌。在功能上,LncRNA Gas5参与细胞增殖、凋亡、迁移、侵袭和上皮-间质转化以及DNA修复。这些功能是通过 多种分子机制调节靶基因实现的,比如(1)核转录抑制类固醇激素调节转录;(2)序列结合DNA形成RNA-DNA三链复合体,触发或抑制基因表达;(3)结合蛋白以表观遗传方式调控靶基因表达的启动子组蛋白甲基化;(4)特异结合miRNAs,发挥竞争性内源RNA的功能,调控mRNAs的表达;(5)通过激酶信号调节途来调节基因表达[10]。令人感兴趣的是,近来越来越多的研究提示LncRNA Gas5与OA的发生发展密切相关。

2 LncRNA Gas与OA

2.1 LncRNA Gas5与OA的软骨细胞凋亡 参与OA发病机制的主要过程是关节软骨退化,软骨细胞凋亡在其中起重要作用。在正常情况下,软骨细胞的增殖和凋亡过程在软骨组织中以有序的方式进行协调。当软骨细胞发生过度凋亡时,会发生软骨内部紊乱,导致软骨功能异常。Blanco等[11]证明,OA软骨中凋亡软骨细胞的比例明显高于正常组织中的比例(11%比5.1%,P<0.01),这证实了软骨细胞凋亡与OA相关。Gao等[12]的实验结果显示,Gas5在OA病人血清和软骨中表达上调,并通过下调miR-137诱导软骨细胞凋亡和抑制其增殖。在OA的软骨损伤中,软骨细胞的增殖和凋亡打破动态平衡,软骨细胞启动自噬机制,促进溶酶体分解受损

的细胞和细胞器，抑制细胞凋亡。Ji 等[13]的研究进一步证明，LncRNA Gas5 在 OA 软骨组织中高表达，并随着 OA 的进展而增加。LncRNA Gas5 抑制软骨细胞自噬并促进其凋亡，其抑制自噬作用是通过竞争性地与 miR-144 结合，调节 mTOR 的表达实现的。此外，他们的另一研究通过双荧光素酶检测得到验证，LncRNA Gas5 通过 miR-34a/Bcl2 轴调节软骨细胞的生物学行为，miR-34a 过表达抑制细胞凋亡，LncRNA Gas5 被敲除后，miR-34a 水平显著上调，Bcl2 水平显著下调，，从而抑制软骨细胞凋亡[14]。研究表明，miR-21 会刺激软骨细凋亡，并抑制一些自噬复合体的表达，而 LncRNA Gas5 的异位表达能够抑制 miR-21 的诱导[15]。在体外实验中，当软骨细胞受到脂多糖刺激时，软骨细胞凋亡显著，而 LncRNA Gas5 的过表达可以通过抑制核因 NF-kB 和 Notch 信号通路减轻脂多糖引起的小鼠软骨细胞细胞凋亡及炎症反应[16]。由此可见，LncRNA Gas5 是维持软骨细胞正常代谢的重要物质，可以调控不同的下游靶点及通路进而调节软骨细胞凋亡。

2.2 LncRNA Gas5 与 OA 的软骨基质代谢 软骨基质的代谢平衡是保证软骨组织正常功能的关键条件。软骨组织由软骨细胞和软骨基质共同构成。在健康关节中，软骨细胞嵌入软骨基质并负责其成分的合成与分泌，基质的主要成分是Ⅱ型胶原和蛋白聚糖。在 OA 中，软骨细胞释放炎性细胞因子继而诱导基质降解酶基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase，MMPs)和金属蛋白酶域蛋白(a disintegrin and metal - loproteinase with thrombospondinmotifs，ADAMTS)的表达来降解软骨 ECM，进而导致软骨退变。lncRNA GAS5 在调节软骨基质的动态平衡方面发挥重要作用。研究发现，LncRNA Gas5 的过表达增加了几种 MMPs 的表达水平，如 MMP-2、MMP-3、MMP-9、MMP-13 和 ADAMTS-4[16]，这一作用会刺激软骨基质降解。一项动物实验结果表明，抑制 LncRNA Gas5 的表达会下调 MMP-9、MMP-13 的表达，上调金属蛋白酶抑制剂(tissueinhibitorofmetalloprotein-ase，TIMP)-1、TIMP-3 和Ⅱ型胶原的表达，从而调节细胞外基质的动态平衡[17]。TIMP-3 被证明参与软骨基质的修复与重建，在 OA 病人的软骨细胞中有表达，且能抑制 MMPs 对软骨基质的降解[18]。何小文等[19]的实验发现，TIMP-3 在软骨组织中低表达，而 LncRNA Gas5 为高表达；LncRNA Gas5 经富集 DNA 甲基化转移酶，抑制了 TIMP-3 的表达，从而促进软骨细胞胶原蛋白降解。Zheng 等[20]的研究发现，机械刺激可显著增加 MMP-13 和 LncRNA Gas5 的表达，促进软骨基质的降解。另外，他们验证了 miR-27a 是 LncRNA Gas5 的靶点，miR-27a 的过表达下调了 MMP-13 的表达，对机械刺激诱导的基质降解起到保护作用。也就是说，LncRNA Gas5 可通过调控软骨细胞中 MMP-9、MMP-13、ADAMT-5 以及 TIMP-3 等的表达维持软骨基质的代谢平衡。

2.3 LncRNA Gas5 与 OA 的成骨分化 在正常的骨组织中，成骨细胞介导的骨形成和破骨细胞介导的骨吸收通常处于动态平衡以维持骨稳态。在 OA 中，成骨细胞功能失调，破坏了骨形成与骨吸收间相互作用的平衡，导致软骨下硬化，骨赘形成。成骨细胞是间充质细胞的衍生细胞，在早期骨形成和骨重建中负责成骨和矿化。多项研究显示，LncRNA Gas5 是成骨分化的重要调节因子。Li 等[21]的研究表明，LncRNA Gas5 的表达与成骨细胞的分化呈正相关。从机制上讲，Smad7 在成骨分化中起负向调节的作用，LncRNA Gas5 通过特异性结合和聚集 UPF1，加速 Smad7 的降解，从而促进成骨细胞分化。Runx2、Col1a1 和骨钙素是关键的成骨标记基因，ALP 活性是成骨的早期标志。在 Wang 等[22]的实验中，LncRNA Gas5 的上调显著增加了 Runx2、Col1a1 和骨钙素的表达，并增加了 ALP 活性和基质矿化，并通过海绵 miR-135a-5p 正向调节 FOXO1 的表达，促进 BMSCs 的成骨能力。miR-222-3p 低表达可通过 IGF- 1 / ERK 途径和 Smad5-Runx2 信号轴促进骨髓间充质干细胞成骨分化。郭烨等[23]的研究发现，人牙周膜干细胞(human periodontal ligament stem cells，PDLSCs)成骨分化后 LncRNA Gas5 表达上调，LncRNA Gas5 低表达的 hPDLSCs 中 miR-222-3p 表达升高，LncRNA Gas5 通过结合 miR-222-3p 靶向调控 hPDLSCs 成骨分化。可见，LncRNA Gas5 在间充质干细胞成骨分化过程中起正向调控作用。间充质干细胞具有分化多种细胞的潜能，主要是向成骨细胞分化，对调控骨组织重建和代谢有重要作用，LncRNA Gas5 有望通过靶向调控间充质干细胞的成骨分化对 OA 产生影响。

2.4 LncRNA Gas5 与 OA 的治疗 目前 OA 无法治愈，直至疾病终末期，侵入性的外科治疗不可避免。因此，非常有必要研发治疗 OA 的有效方案，进而阻止发病关节发生不可逆转性的破坏，从而改善疾病预后。郑若曦等[24]的实验表明，OA 组中 LncRNA Gas5 表达高于正常组，miR-21 低于正常组，MMP -3、MMP -9、MMP -13、ADAMTS -5mRNA 表达上升，经独活寄生汤和盐酸氨基葡萄糖胶囊治疗，MMP-3、MMP-9、MMP-13、ADAMTS-5 表达均下调，且独活寄生汤效果优于盐酸氨基葡萄糖。也就是说独活寄生汤可能通过调控 LncRNAGas5/miR-

21,延缓软骨细胞外基质降解,对OA起到治疗作用。与之相似,荣筋拈痛同样经调控LncRNAGas5/miR-21下调MMP-3、MMP -9,上调TIMP-3、Ⅱ型胶原和聚集蛋白聚糖的表达,延缓软骨基质降解,减轻软骨组织形态结构的破坏。因此,LncRNA Gas5有望成为有效治疗OA的新的靶点。

3 小结与展望

OA是一种高度致残的骨骼肌肉疾病,不仅给病人带来极大痛苦,也给家庭及社会造成重大经济负担。目前没有特异性治疗方法能够抑制或延缓OA的进展,针对OA的治疗仅限于早期疾病的镇痛和晚期疾病的手术关节置换。近年来,越来越多的研究证明lncRNA Gas5的异常表达与OA紧密相关。依据上述研究结果,LncRNA Gas5通过调控软骨细胞凋亡、软骨基质代谢和成骨分化进而影响OA的病变发展,但具体调控机制错综复杂。另外,LncRNA Gas5可能作为一种新的标志物在OA诊断及治疗中发挥作用。LncRNA Gas5在OA中的研究尚处于初始阶段,未来的研究领域将着重于探索LncRNA Gas5及其调控网络在OA发病机制中作用,寻求治疗OA的有效靶点。

参考文献

[1] SUN XS, ZHEN XM, HU XQ, et al. Osteoarthritis in the middle-aged and elderly in China: prevalence and influencing factors[J]. Int J Environ Res Public Health,2019,16(23):4701.

[2] MISHRA S, VERMA SS, RAI V, et al. Long non-coding RNAs are emerging targets of phytochemicals for cancer and other chronic diseases[J]. Cell Mol Life Sci,2019,76(10):1947-1966.

[3] MARTIN L,CHANG HY.Uncovering the role of genomic "dark matter" in human disease[J].J Clin Invest,2012,122(5):1589-1595.

[4] LIU Q, ZHANG X, DAI L, et al. Long noncoding RNA related to cartilage injury promotes chondrocyte extracellular matrix degradation in osteoarthritis[J]. Arthritis Rheumatol, 2014, 66(4): 969-978.

[5] XIAO K, YANG Y, BIAN Y, et al. Identification of differentially expressed long non-coding RNAs in human knee osteoarthritis[J]. J Cell Biochem,2019,120(3):4620-4633.

[6] FILIPPOVA EA, FRIDMAN MV, BURDENNYY AM, et al. Long noncoding RNA GAS5 in breast cancer: epigenetic mechanisms and biological functions[J].Int J Mol Sci,2021,22(13):6810.

[7] JIN F, WANG N, ZHU Y, et al.Downregulation of long noncoding RNA GAS5 affects cell cycle and insulin secretion in mouse pancreatic β cells[J].Cell Physiol Biochem,2017,43(5):2062-2073.

[8] RAHO G, BARONE V, ROSSI D , et al. The gas 5 gene shows four alternative splicing patterns without coding for a protein[J]. Gene, 2000,256(1/2):13-17.

[9] GOUSTIN AS, THEPSUWAN P, KOSIR MA, et al.The growth-arrest-specific (GAS)-5 long non-coding RNA: a fascinating lncRNA widely expressed in cancers[J]. Noncoding RNA, 2019, 5(3):46.

[10] YU Y, HANN SS. Novel tumor suppressor lncRNA growth arrest-specific 5 (GAS5) in human cancer[J]. Onco Targets Ther, 2019,12:8421-8436.

[11] BLANCO FJ, GUITIAN R, VÁZQUEZ-MARTUL E, et al. Osteoarthritis chondrocytes die by apoptosis. A possible pathway for osteoarthritis pathology[J]. Arthritis Rheum,1998,41(2):284-289.

[12] GAO ST, YU YM, WAN LP, et al.LncRNA GAS5 induces chondrocyte apoptosis by down-regulating miR-137[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci,2020,24(21):10984-10991.

[13] JI Q, QIAO X, LIU Y, et al. Expression of long-chain noncoding RNA GAS5 in osteoarthritis and its effect on apoptosis and autophagy of osteoarthritis chondrocytes[J]. Histol Histopathol,2021,36(4):475-484.

[14] JI Q, QIAO X, LIU Y, et al.Silencing of long-chain non-coding RNA GAS5 in osteoarthritic chondrocytes is mediated by targeting the miR-34a/Bcl-2 axis[J].Mol Med Rep,2020,21(3):1310-1319.

[15] SONG J, AHN C, CHUN CH, et al. A long non-coding RNA, GAS5, plays a critical role in the regulation of miR-21 during osteoarthritis[J]. J Orthop Res,2014,32(12):1628-1635.

[16] LI F, SUN J, HUANG S, et al. LncRNA GAS5 overexpression reverses LPS-induced inflammatory injury and apoptosis through up-regulating KLF2 expression in ATDC5 chondrocytes[J]. Cell Physiol Biochem,2018,45(3):1241-1251.

[17] FU C, QIU Z, HUANG Y, et al. Protective role of achyranthes bidentata polysaccharides against chondrocyte extracellular matrix degeneration through lncRNA GAS5 in osteoarthritis[J]. Exp Ther Med,2022,24(2):532.

[18] YAMAMOTO K, OKANO H, MIYAGAWA W, et al. MMP-13 is constitutively produced in human chondrocytes and co-endocytosed with ADAMTS-5 and TIMP-3 by the endocytic receptor LRP1[J]. Matrix Biol,2016,56:57-73.

[19] 何小文,丁徐,张东华,等.LncRNA GAS5通过TIMP-3启动子甲基化促进软骨胶原蛋白降解的实验研究[J].实用骨科杂志,2021,27(11):999-1004.

[20] ZHENG T, ZHOU Q, HUANG J, et al. Xanthohumol inhibited mechanical stimulation-induced articular ECM degradation by mediating lncRNA GAS5/miR-27a axis[J]. Front Pharmacol, 2021, 12:737552.DOI:10.3389/fphar.2021.737552.

[21] LI M, XIE Z, LI J, et al. GAS5 protects against osteoporosis by targeting UPF1/SMAD7 axis in osteoblast differentiation[J/OL]. Elife, 2020,9:e59079.DOI:10.7554/eLife.59079.

[22] WANG X, ZHAO D, ZHU Y, et al. Long non-coding RNA GAS5 promotes osteogenic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells by regulating the miR-135a-5p/FOXO1 pathway[J]. Mol Cell Endocrinol, 2019, 496: 110534. DOI: 10.1016/j.mce.2019.110534.

[23] 郭烨,马庆云,赵文丽,等.GAS5靶向miR-222-3p对牙周膜干细胞成骨分化的影响机制[J].实用口腔医学杂志,2021,37(2):271-274.

[24] 郑若曦,陈俊,叶锦霞,等.基于LncRNA GAS5/miR-21调控软骨基质代谢探讨独活寄生汤干预大鼠膝骨关节炎的作用机制[J].福建中医药,2021,52(1):46-49.

(收稿日期:2022-11-15,修回日期:2022-12-26)