

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2023.01.003

circPPP1R12A 激活 p53 信号通路调控骨关节炎中软骨细胞增殖和凋亡*

程建岗¹ 李伟华² 孟国林¹ 毕 龙¹ 成千亮^{3Δ}(1 空军军医大学第一附属医院骨科 陕西 西安 710032; 2 空军军医大学第一附属医院综合诊疗科 陕西 西安 710032;
3 通用技术西安宝石花长庆医院骨科 陕西 西安 710200)

摘要 目的:探讨 circPPP1R12A(circ_0000423)调控 p53 信号通路对骨关节炎(osteoarthritis, OA)中软骨细胞增殖和凋亡的影响。**方法:**采用 qRT-PCR 检测 circPPP1R12A 在 OA 软骨细胞中的表达水平。在 OA 软骨细胞中分别转染 oe-circPPP1R12A 和 sh-circPPP1R12A 后,采用 CCK-8 检测细胞增殖情况;免疫荧光检测 Ki-67 阳性细胞表达率;流式细胞术检测细胞凋亡情况;qRT-PCR 检测 Ki-67 和 p53 表达水平;Western Blot 检测 Cleaved-caspase3、P53、BCL-2 和 BAX 的表达水平。**结果:**OA 软骨细胞中 circPPP1R12A 的表达水平明显高于正常软骨细胞。过表达 circPPP1R12A 能够抑制 OA 软骨细胞增殖和促进细胞凋亡,通过上调 p53 表达激活 p53 信号通路,低表达 circPPP1R12A 能够促进 OA 软骨细胞增殖和抑制细胞凋亡,通过下调 p53 表达阻滞 p53 信号通路。在 OA 软骨细胞中同时低表达 circPPP1R12A 和过表达 p53 能够反转单独低表达 circPPP1R12A 对 OA 软骨细胞增殖和凋亡的影响。**结论:**circPPP1R12A 在 OA 软骨细胞中明显高表达,circPPP1R12A 能够通过激活 p53 信号通路抑制骨 OA 软骨细胞增殖和促进软骨细胞凋亡。circPPP1R12A 可能成为 OA 治疗的干预靶点。

关键词:骨关节炎;circPPP1R12A;增殖;凋亡;p53 信号通路

中图分类号:R684.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2023)01-14-06

CircPPP1R12A Activates p53 Signaling Pathway to Regulate Chondrocyte Proliferation and Apoptosis in Osteoarthritis*

CHENG Jian-gang¹, LI Wei-hua², MENG Guo-lin¹, BI Long¹, CHENG Qian-liang^{3Δ}

(1 Department of Orthopaedics, the First Affiliated Hospital of Air Force Military Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710032, China;

2 Department of comprehensive diagnosis and treatment, the First Affiliated Hospital of Air Force Military Medical University,

Xi'an, Shaanxi, 710032, China; 3 Department of Orthopaedics, baoshihua Changqing Hospital of general technology,

Xi'an, Shaanxi, 710200, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the effect of circPPP1R12A (circ_0000423) regulating p53 signaling pathway on chondrocyte proliferation and apoptosis in osteoarthritis (OA). **Methods:** The expression level of circPPP1R12A in OA chondrocytes was detected by qRT-PCR. After transfection of oe-circPPP1R12A and sh-circPPP1R12A in OA chondrocytes, CCK-8 was used to detect cell proliferation; immunofluorescence was used to detect the expression rate of Ki-67 positive cells; flow cytometry was used to detect cell apoptosis; qRT-PCR was used to detect the expression levels of Ki-67 and p53; Western Blot was used to detect the expression levels of Cleaved-caspase3, P53, BCL-2 and BAX. **Results:** The expression level of circPPP1R12A in OA chondrocytes was significantly higher than that in normal chondrocytes. Overexpression of circPPP1R12A inhibited OA chondrocyte proliferation and promoted apoptosis, and activated p53 signaling pathway by up-regulating p53 expression. Low expression of circPPP1R12A promoted OA chondrocyte proliferation and inhibited cell apoptosis, and downregulated p53 expression to block p53 signaling pathway. Simultaneous low expression of circPPP1R12A and overexpression of p53 in OA chondrocytes reversed the effects of low expression of circPPP1R12A alone on the proliferation and apoptosis of OA chondrocytes. **Conclusions:** circPPP1R12A was significantly highly expressed in OA chondrocytes, and circPPP1R12A inhibited the proliferation of bone OA chondrocytes and promoted chondrocyte apoptosis by activating the p53 signaling pathway. circPPP1R12A may become an intervention target for OA treatment.

Key words: Osteoarthritis; circPPP1R12A; Proliferation; Apoptosis; p53 signaling pathway

Chinese Library Classification(CLC): R684.3 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2023)01-14-06

前言

骨关节炎(osteoarthritis, OA)作为最常见的关节炎,严重影

* 基金项目:国家重点研发计划重点专项子课题(2016YFC1100300)

作者简介:程建岗,硕士,副主任医师,主要研究方向:创伤骨科,E-mail: 41930719@qq.com

Δ 通讯作者:成千亮(1981-),本科,主治医师,主要研究方向:创伤骨科,E-mail: 426117@qq.com

(收稿日期:2022-07-10 接受日期:2022-08-07)

响着中老年人的健康和生活质量^[12]。OA 的主要临床症状为关节疼痛、肿胀、僵硬、畸形和功能障碍^[3,4]。然而,骨关节炎的发病机制尚未完全清楚。环状 RNA(circRNA)是一种新型的非编码 RNA,具有共价闭环结构,没有 5'-3' 极性和多腺苷尾^[5]。近期研究表明,CircRNAs 与 OA 软骨细胞增殖分化、炎症反应、细胞外基质(Extracellular matrix,ECM)降解、信号通路等的发生发展密切相关^[6,7]。研究显示在 OA 中存在 136 个差异性表达 CircRNAs,其中 64 个 CircRNAs 上调和 72 个 CircRNAs 下调^[8]。最近有研究显示 circPPP1R12A(circ_0000423)在 OA 中明显高表达,并能够调控 miRNA-27b-3p/MMP-13 轴促进 OA 软骨细胞 ECM 降解^[9]。然而 circPPP1R12A 对 OA 软骨细胞的生物学功能未完全明确。因此,本研究在 OA 软骨细胞中分别过表达和低表达 circPPP1R12A 后,探讨 circPPP1R12A 对 OA 软骨细胞增殖和凋亡的影响及机制。

1 材料和方法

1.1 主要试剂

青霉素-链霉素溶液(100X)、BCA 蛋白浓度测定试剂盒、PVDF 膜、超敏 ECL 化学发光试剂盒、CKK-8 试剂盒和 Annexin V-FITC 细胞凋亡检测试剂盒购自中国上海碧云天生物技术有限公司。TRIZol 试剂和 SYBR Green 荧光定量 PCR 试剂盒购自日本 TaKaRa 公司。DMEM 培养基和 FBS 购自美国 Gibco 公司 lipofectamine 3000 购自美国 Invitrogen 公司。Cleaved-caspase3、P53、BCL-2、BAX 和 GAPDH 抗体购自美国 abcam 公司。转染质粒购自中国上海吉凯基因有限公司。qRT-PCR 引物购自上海生工生物工程技术有限公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养与转染 OA 软骨细胞和正常软骨细胞采用两步酶消化法进行分离,第 3 代用于后续实验。细胞在含 10%FBS 和 1%青霉素-链霉素的 DMEM/F12 细胞培养基在 37℃、5% CO₂ 平衡湿度培养箱中培养。采用 lipofectamine 3000 分别转染 oe-NC、oe-circPPP1R12A、sh-NC、sh-circPPP1R12A 和 sh-circPPP1R12A+p53 至 OA 软骨细胞。根据细胞转染情况不同分为 oe-NC 组、oe-circPPP1R12A 组、sh-NC 组、sh-circPPP1R12A 组和 sh-circPPP1R12A+p53 组。

1.2.2 qRT-PCR 采用 Trizol 试剂提取软骨细胞中的总 RNA。通过逆转录试剂盒逆转录合成 cDNA。SYBR Green PCR 试剂盒实时荧光定量 PCR 检测 Ki-67 和 p53 表达水平。以 GAPDH 作为内参,采用 2^{-ΔΔCt} 法计算相对表达量。

1.2.3 流式细胞术检测细胞凋亡 细胞转染 48 h 后,PBS 清洗和重悬细胞,加入 Annexin-V-FITC 和 PI 在室温下避光 10 min 后上机检测,ModFit LT 软件分析凋亡数据。

1.2.4 Western blot 收集转染 48 h 后的细胞,RIPA 裂解液提取总蛋白。BCA 试剂盒测量蛋白质浓度。将 40 μg 蛋白质添加到 SDS-PAGE 凝胶,250 mA,110 V 电泳后转移至 PVDF 膜,5%脱脂奶粉 37℃ 封闭 1 小时。加入 Cleaved-caspase3、P53、BCL-2、BAX 和 GAPDH 蛋白一抗,并在 4℃ 条件下孵育过夜。TBST 洗涤 3×10 min,二抗 37℃ 孵育 1 h,然后 TBST 洗涤 3×30 min,ECL 显色。以 GAPDH 作内参分析各组蛋白的相对表达水平。

1.2.5 免疫荧光 收集转染 48 h 后的细胞,用 PBS 清洗细胞,加入冷甲醇固定细胞 20 min,0.1% Triton X-100 通透 10 min,PBS 洗涤。使用 LC3 的一抗在 4℃ 下在含 1% BSA 的 PBS 中处理细胞过夜,然后在室温下加入二抗 1 h。细胞核用 DAPI 染色 5 min,然后将盖玻片固定在载玻片上,用 Leica 荧光显微镜观察细胞并拍照。

1.3 统计学分析

所有计量资料以平均值±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,并使用 GraphPad Prism 9.0 进行统计学分析。用 t 检验分析两组间的差异,用 ANOVA 比较多组间方差的统计学意义。 $P < 0.05$ 被认为具有统计学意义。

2 结果

2.1 circPPP1R12A 对 OA 软骨细胞增殖的影响

采用 qRT-PCR 检测 circPPP1R12A 在 OA 软骨细胞中的表达水平,结果显示 circPPP1R12A 在 OA 软骨细胞中明显高表达(图 1A, $P < 0.05$)。为进一步检测 circPPP1R12A 对 OA 软骨细胞生物学功能的影响,在 OA 软骨细胞中分别转染 oe-circPPP1R12A 和 sh-circPPP1R12A 后,转染效率尚可(图 1B 和 C, $P < 0.05$)。过表达 circPPP1R12A 后,OA 软骨细胞增殖情况明显被抑制(图 1D, $P < 0.05$),Ki-67 mRNA 相对表达水平明显下调(图 1F, $P < 0.05$),同时 Ki-67 相对阳性表达细胞数明显减少(图 1H 和 J, $P < 0.05$)。在低表达 circPPP1R12A 后,OA 软骨细胞增殖情况明显增加(图 1E, $P < 0.05$),Ki-67 mRNA 相对表达水平明显上调(图 1G, $P < 0.05$),同时 Ki-67 相对阳性表达细胞数明显减少(图 1I 和 J, $P < 0.05$)。这提示 circPPP1R12A 能够抑制 OA 软骨细胞的增殖。

2.2 circPPP1R12A 对 OA 软骨细胞凋亡的影响

进一步分析 circPPP1R12A 对 OA 软骨细胞凋亡的影响,结果显示在过表达 circPPP1R12A 后,OA 软骨细胞凋亡率明显增加(图 2A 和 B, $P < 0.05$),凋亡相关蛋白 Cleaved-caspase3 的表达明显上调(图 2E 和 F, $P < 0.05$),低表达 circPPP1R12A 后,OA 软骨细胞凋亡率明显降低(图 2C 和 D, $P < 0.05$),凋亡相关蛋白 Cleaved-caspase3 的表达明显下调(图 2G 和 H, $P < 0.05$)。这提示 circPPP1R12A 能够促进 OA 软骨细胞的凋亡。

2.3 circPPP1R12A 对 OA 软骨细胞中 p53 信号通路的影响

进一步分析 circPPP1R12A 调控 OA 软骨细胞增殖和凋亡的影响,在 OA 软骨细胞中分别转染 oe-circPPP1R12A 和 sh-circPPP1R12A 后,过表达 circPPP1R12A 明显促进 p53 mRNA 的表达水平(图 3A, $P < 0.05$),低表达 circPPP1R12A 明显抑制 p53 mRNA 的表达水平(图 3B, $P < 0.05$)。同时在过表达 circPPP1R12A 后,P53 和 BCL-2 蛋白的表达上调,BAX 蛋白的表达水平下调(图 3C 和 E, $P < 0.05$);低表达 circPPP1R12A 后,P53 和 BCL-2 蛋白的表达下调,BAX 蛋白的表达水平上调(图 3D 和 F, $P < 0.05$)。这提示过表达 circPPP1R12A 能够激活 p53 信号通路,低表达 circPPP1R12A 能够阻滞 p53 信号通路。

2.4 circPPP1R12A 通过 p53 信号通路调控 OA 软骨细胞增殖和凋亡

为进一步验证 circPPP1R12A 通过 p53 信号通路调控 OA 软骨细胞增殖和凋亡,在 OA 软骨细胞中共转染 sh-cir-

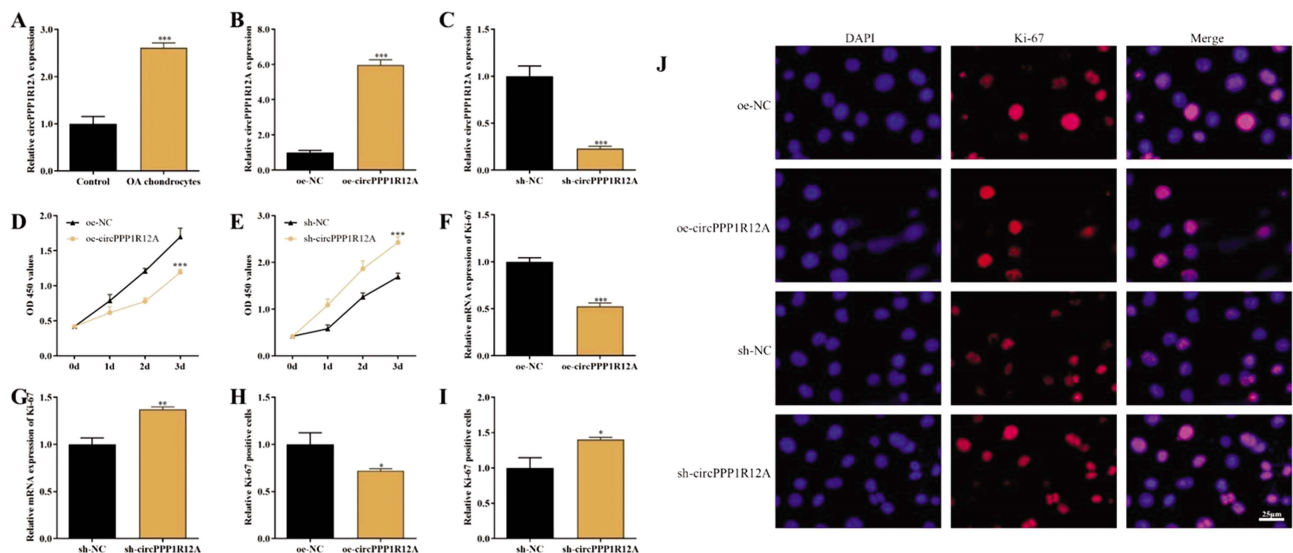


图1 circPPP1R12A 对 OA 软骨细胞增殖的影响

Fig. 1 The effect of circPPP1R12A on the proliferation of OA chondrocytes

注:与对照组相比,* $P<0.05$;** $P<0.01$;*** $P<0.001$ 。

(A. qRT-PCR 检测 circPPP1R12A 在 OA 软骨细胞和正常软骨细胞中的表达水平;B. OA 软骨细胞中分别转染 oe-NC 和 oe-circPPP1R12A 后 qRT-PCR 检测 circPPP1R12A 的表达水平;C. OA 软骨细胞中分别转染 sh-NC 和 sh-circPPP1R12A 后 qRT-PCR 检测 circPPP1R12A 的表达水平;D 和 E. OA 软骨细胞中分别转染 oe-circPPP1R12A 和 sh-circPPP1R12A 后 CCK8 检测细胞增殖情况;F 和 G. OA 软骨细胞中分别转染 oe-circPPP1R12A 和 sh-circPPP1R12A 后 qRT-PCR 检测 Ki-67 mRNA 相对表达水平;H-I. OA 软骨细胞中分别转染 oe-circPPP1R12A 和 sh-circPPP1R12A 后免疫荧光检测 Ki-67 相对阳性表达细胞数)

Note: Compared with the control group, * $P<0.05$; ** $P<0.01$; *** $P<0.001$.

(A. The expression level of circPPP1R12A in OA chondrocytes and normal chondrocytes was detected by qRT-PCR; B. The expression level of circPPP1R12A was detected by qRT-PCR in OA chondrocytes after transfection of oe-NC and oe-circPPP1R12A, respectively; C. The expression level of circPPP1R12A was detected by qRT-PCR in OA chondrocytes after transfection of sh-NC and sh-circPPP1R12A, respectively; D and E. Cell proliferation was detected by CCK8 in OA chondrocytes after transfection of oe-circPPP1R12A and sh-circPPP1R12A; F and G. The relative mRNA expression levels of Ki-67 were detected by qRT-PCR in OA chondrocytes after transfection of oe-circPPP1R12A and sh-circPPP1R12A; H-I. The relative number of Ki-67 positive cells was detected by immunofluorescence in OA chondrocytes after transfection of oe-circPPP1R12A and sh-circPPP1R12A)

cPPP1R12A 和 p53, 结果显示同时低表达 circPPP1R12A 和过表达 p53 能够反转单独低表达 circPPP1R12A 对 OA 软骨细胞增殖(图 4A, $P>0.05$), Ki-67 mRNA 表达水平(图 4B, $P>0.05$), 凋亡(图 4C 和 D, $P>0.05$), 以及凋亡相关蛋白 Cleaved-caspase3 (图 4E 和 F, $P>0.05$) 的影响。这提示 circPPP1R12A 能够通过调控 p53 信号通路抑制 OA 软骨细胞增殖和促进细胞凋亡。

3 讨论

关节软骨细胞破坏、细胞外基质降解和合成障碍是 OA 发生的重要因素, 然而其具体发病机制尚不清楚^[10,11]。CircRNAs 是一种非编码环状 RNA, 参与了多种疾病的病理生理过程, 越来越多的研究表明 CircRNAs 与 OA 的发生发展密切相关^[12,13]。circPPP1R12A 不仅在 OA 中发挥作用, 还能够参与胃癌和结直肠癌的发生发展^[9,14,15]。研究显示 circPPP1R12A 在结直肠癌中明显高表达, 能够通过激活 Hippo-YAP 信号通路促进结直肠癌细胞的增殖、侵袭和转移^[15]。circPPP1R12A 能够靶向 miR-375 调控 CTNNB1 介导结直肠癌细胞的增殖、凋亡和转移^[16]。circPPP1R12A 能够靶向 miR-582-3p/DIXDC1 轴调控胃癌细胞增殖、侵袭和转移^[14]。因此本研究将进一步探讨 circPPP1R12A 对 OA 软骨细胞生物学功能的影响。

在本研究中, circPPP1R12A 在 OA 软骨细胞中明显高表达, 过表达 circPPP1R12A 能够抑制 OA 软骨细胞增殖和促进

细胞凋亡, 低表达 circPPP1R12A 能够促进 OA 软骨细胞增殖和抑制细胞凋亡。这提示 circPPP1R12A 能够参与调控 OA 软骨细胞的增殖和凋亡。研究显示 circCDK14 在 OA 软骨细胞中明显低表达, 过表达 circCDK14 能够阻滞 miR-1183/KLF5 信号通路促进 OA 软骨细胞增殖和抑制细胞凋亡^[17]。研究显示 circ_0136474 在 OA 软骨细胞中明显高表达, 低表达 circ-CDK14 能够激活 miR-665/FGFR1 信号通路促进 OA 软骨细胞增殖和抑制细胞凋亡^[18]。这提示 CircRNAs 在 OA 中下调或上调均能够参与 OA 软骨细胞增殖和凋亡。

p53 是公认的对细胞凋亡至关重要的凋亡基因, 能够抑制细胞增殖和诱导细胞凋亡。研究显示 circSCAP 能够激活 p53 信号通路抑制非小细胞肺癌细胞的增殖和侵袭, 促进细胞凋亡^[19]。缺氧诱导的 circWSB1 通过与 USP10 相互作用调控 p53 稳定性促进乳腺癌进展^[20]。本研究结果显示过表达 circPPP1R12A 明显促进 p53 mRNA 的表达水平, 低表达 circPPP1R12A 明显抑制 p53 mRNA 的表达水平。同时在过表达 circPPP1R12A 后, P53 和 BCL-2 蛋白的表达上调, BAX 蛋白的表达水平下调; 低表达 circPPP1R12A 后, P53 和 BCL-2 蛋白的表达下调, BAX 蛋白的表达水平上调。这提示过表达 circPPP1R12A 能够激活 p53 信号通路, 低表达 circPPP1R12A 能够阻滞 p53 信号通路。研究显示 circ-DMNT1 能够靶向结合 p53 激活 JAK/STAT 信号通路调控滋养细胞增殖、凋亡、迁移和侵袭^[21]。研究显示

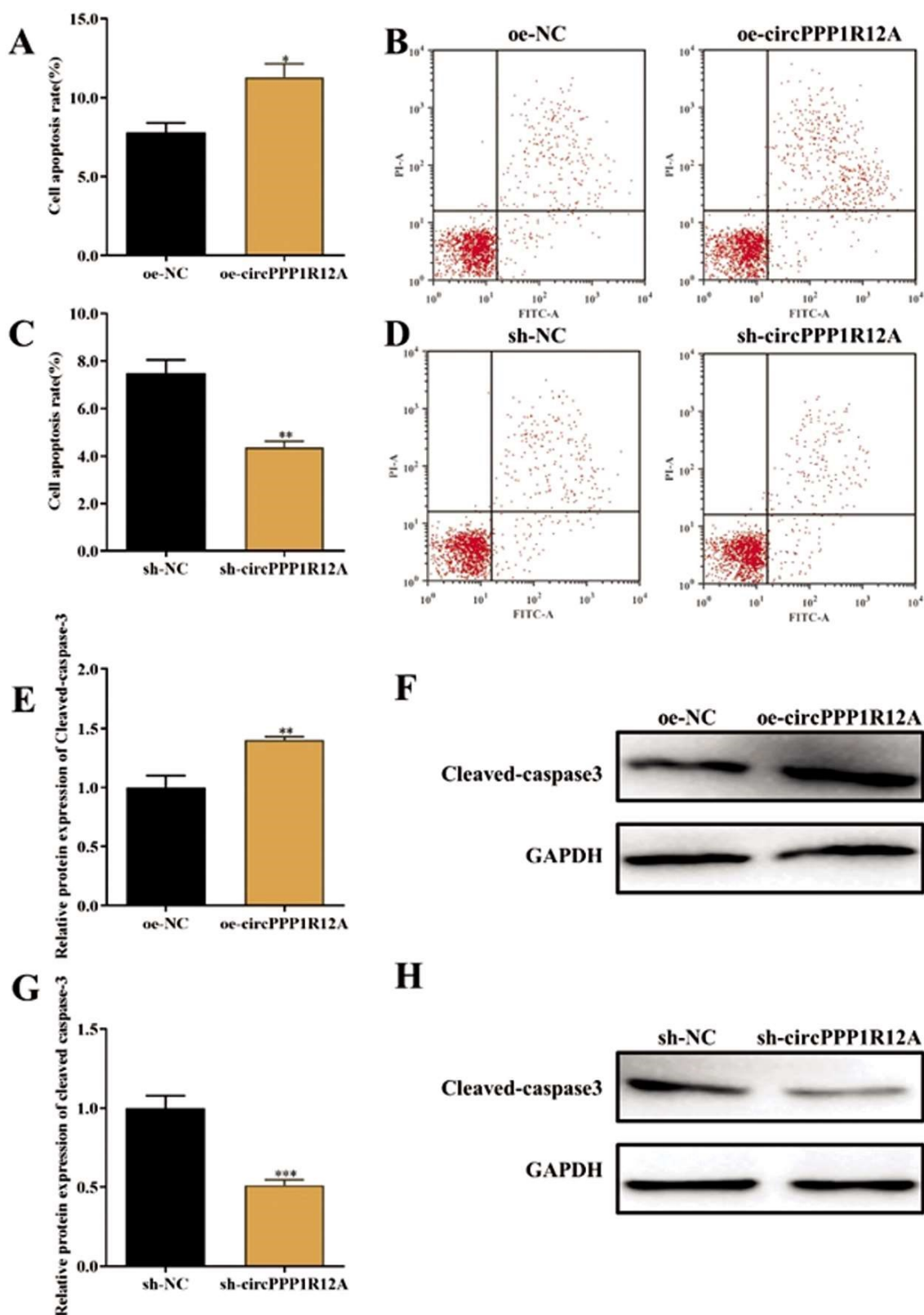


图 2 circPPP1R12A 对 OA 软骨细胞凋亡的影响

Fig. 2 The effect of circPPP1R12A on apoptosis of OA chondrocytes

注:与对照组相比,* $P<0.05$;** $P<0.01$ *** $P<0.001$ 。

(A-D. OA 软骨细胞中分别转染 oe-circPPP1R12A 和 sh-circPPP1R12A 后流式细胞术检测细胞凋亡情况;E-H. OA 软骨细胞中 OA 软骨细胞中分别转染 oe-circPPP1R12A 和 sh-circPPP1R12A 后 WB 检测 Cleaved-caspase-3 蛋白的表达水平)

Note: Compared with the control group, * $P<0.05$; ** $P<0.01$; *** $P<0.001$.

(A-D. The apoptosis was detected by flow cytometry in OA chondrocytes after transfection of oe-circPPP1R12A and sh-circPPP1R12A; E-H. The protein expression level of Cleaved-caspase-3 was detected by WB in OA chondrocytes after transfection of oe-circPPP1R12A and sh-circPPP1R12A)

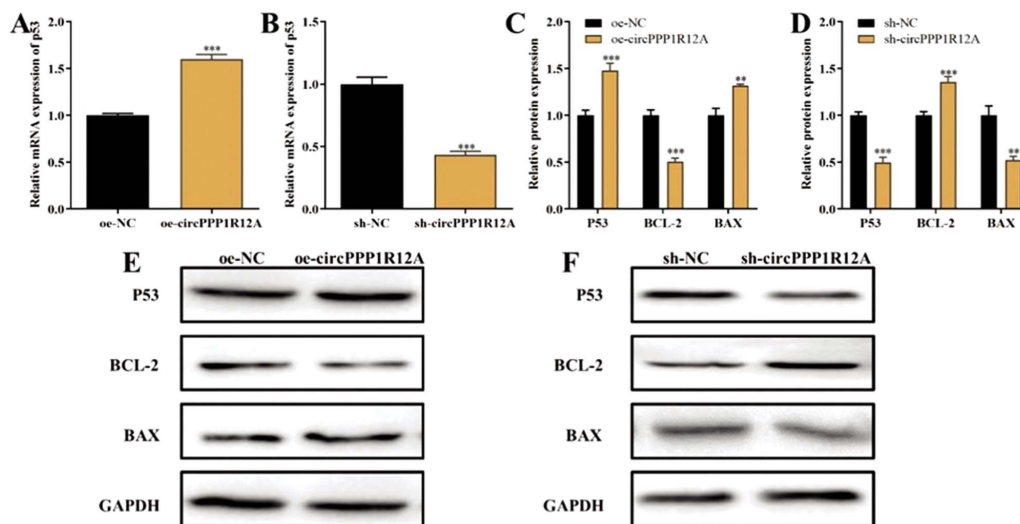


图3 circPPP1R12A 对 OA 软骨细胞中 p53 信号通路的影响

Fig. 3 The effect of circPPP1R12A on p53 signaling pathway in OA chondrocytes

注:与对照组相比, ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$ 。

(A-B. OA 软骨细胞中分别转染 oe-circPPP1R12A 和 sh-circPPP1R12A 后 qRT-PCR 检测 p53 mRNA 的表达水平; C-F. OA 软骨细胞中分别转染 oe-circPPP1R12A 和 sh-circPPP1R12A 后 WB 检测 P53、BCL-2 和 BAX 表达水平)

Note: Compared with the control group, ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$.

(A-B. The mRNA expression levels of p53 were detected by qRT-PCR in OA chondrocytes after transfection of oe-circPPP1R12A and sh-circPPP1R12A; C-F. The expression levels of P53, BCL-2 and BAX were detected by WB in OA chondrocytes after transfection of oe-circPPP1R12A and sh-circPPP1R12A)

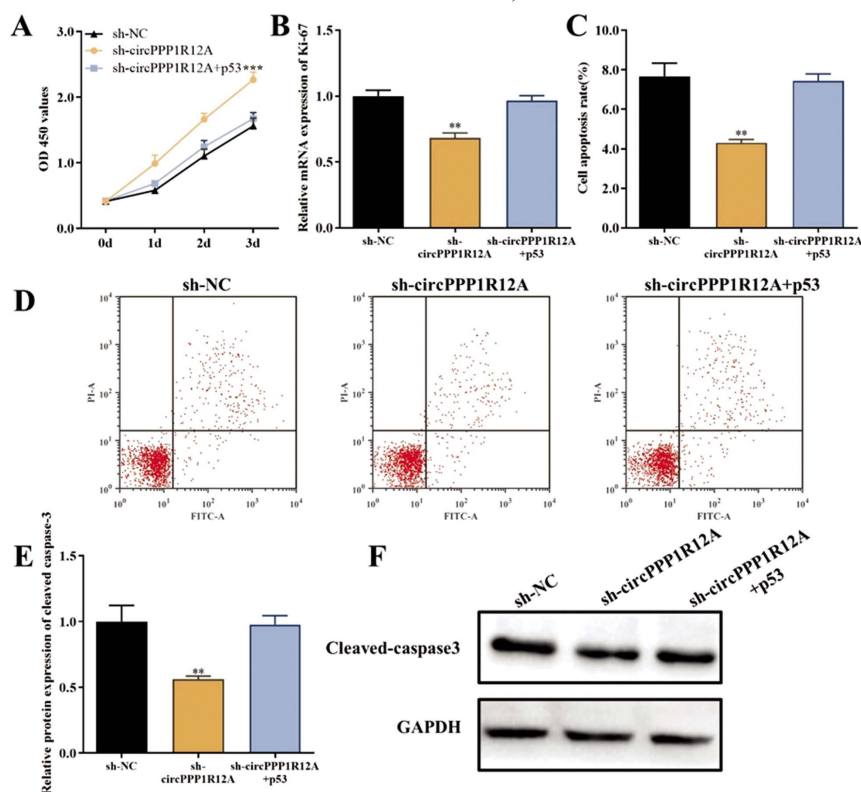


图4 circPPP1R12A 通过 p53 信号通路调控 OA 软骨细胞增殖和凋亡

Fig. 4 circPPP1R12A regulated OA chondrocyte proliferation and apoptosis through p53 signaling pathway

注:与对照组相比, ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$ 。

(A. OA 软骨细胞中转染 sh-circPPP1R12A+p53 后 CCK8 检测细胞增殖情况; B. OA 软骨细胞中转染 sh-circPPP1R12A+p53 后 qRT-PCR 检测 Ki-67 mRNA 的表达水平; C 和 D. 流式细胞术检测细胞凋亡情况; E 和 F. OA 软骨细胞中转染 sh-circPPP1R12A+p53 后 WB 检测 Cleaved-caspase-3 蛋白的表达水平)

Note: Compared with the control group, ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$.

(A. Cell proliferation was detected by CCK8 in OA chondrocytes after transfection of sh-circPPP1R12A+p53; B. The mRNA expression levels of Ki-67 were detected by qRT-PCR in OA chondrocytes after transfection of sh-circPPP1R12A+p53; C and D. The protein expression level of Cleaved-caspase-3 was detected by WB in OA chondrocytes after transfection of sh-circPPP1R12A+p53)

circ_0072309 能够抑制 p53 泛素化, 增加 p53 蛋白的稳定性, 进而参与胶质瘤的发生发展^[2]。这提示 circPPP1R12A 可能通过调控 p53 信号通路参与 OA 软骨细胞的增殖和凋亡。

在回复实验中, 同时低表达 circPPP1R12A 和过表达 p53 能够反转单独低表达 circPPP1R12A 对 OA 软骨细胞增殖和凋亡的影响。研究显示 circ-Sirt1 通过抑制血管平滑肌细胞中 p53 的激活来减缓衰老, 改善新生内膜的形成^[23]。这提示 circPPP1R12A 能够通过调控 p53 信号通路抑制 OA 软骨细胞增殖和促进细胞凋亡。

综上所述, circPPP1R12A 在 OA 软骨细胞中明显高表达, circPPP1R12A 能够通过激活 p53 信号通路抑制骨 OA 软骨细胞增殖和促进软骨细胞凋亡。circPPP1R12A 可能成为 OA 治疗的干预靶点。

参考文献(References)

- [1] Boer C G, Hatzikotoulas K, Southam L, et al. Deciphering osteoarthritis genetics across 826,690 individuals from 9 populations [J]. *Cell*, 2021, 184(18): 4784-4818
- [2] Dantas L O, Salvini T F, Mcalindon T E. Knee osteoarthritis: key treatments and implications for physical therapy [J]. *Braz J Phys Ther*, 2021, 25(2): 135-146
- [3] Coryell P R, Diekmann B O, Loeser R F. Mechanisms and therapeutic implications of cellular senescence in osteoarthritis [J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2021, 17(1): 47-57
- [4] Jang S, Lee K, Ju J H. Recent Updates of Diagnosis, Pathophysiology, and Treatment on Osteoarthritis of the Knee [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(5): 2619
- [5] Wang C, Li N, Liu Q, et al. The role of circRNA derived from RUNX2 in the serum of osteoarthritis and its clinical value[J]. *J Clin Lab Anal*, 2021, 35(7): e23858
- [6] Wu X, Bian B, Lin Z, et al. Identification of exosomal mRNA, lncRNA and circRNA signatures in an osteoarthritis synovial fluid-exosomal study[J]. *Exp Cell Res*, 2022, 410(1): 112881
- [7] Kong H, Sun M L, Zhang X A, et al. Crosstalk Among circRNA/lncRNA, miRNA, and mRNA in Osteoarthritis [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 774370
- [8] Liu P, Gao G, Zhou X, et al. Circular RNA profiles of osteoarthritic synovium[J]. *Mol Omics*, 2022, 18(5): 439-448
- [9] Li X, Xie C, Xiao F, et al. Circular RNA circ_0000423 regulates cartilage ECM synthesis via circ_0000423/miRNA-27b-3p/MMP-13 axis in osteoarthritis[J]. *Aging*, 2022, 14(8): 3400-3415
- [10] Hu Y, Chen X, Wang S, et al. Subchondral bone microenvironment in osteoarthritis and pain[J]. *Bone Res*, 2021, 9(1): 20
- [11] Molnar V, Maticic V, Kodvanj I, et al. Cytokines and Chemokines Involved in Osteoarthritis Pathogenesis [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(17): 9208
- [12] Liao H, Tu Q, Kang Y, et al. CircNFIX regulates chondrogenesis and cartilage homeostasis by targeting the miR758-3p/KDM6A axis [J]. *Cell Proliferation*, 2022: e13302
- [13] Liu Y, Yang Y, Lin Y, et al. N6-methyladenosine-modified circRNA RERE modulates osteoarthritis by regulating β -catenin ubiquitination and degradation[J]. *Cell Proliferation*, 2022: e13297
- [14] Huang C, Yang P, Liu J, et al. Circular RNA circ_0000423 promotes gastric cancer cell proliferation, migration and invasion via the miR-582-3p/Dishevelled-Axin domain containing 1 axis [J]. *Bioengineered*, 2021, 12(2): 12755-12766
- [15] Zheng X, Chen L, Zhou Y, et al. A novel protein encoded by a circular RNA circPPP1R12A promotes tumor pathogenesis and metastasis of colon cancer via Hippo-YAP signaling[J]. *Molecular Cancer*, 2019, 18(1): 47
- [16] Wei Z, Tian Z, Zhang L. CircPPP1R12A promotes the progression of colon cancer through regulating CTNNB1 via sponging miR-375 [J]. *Anti-Cancer Drugs*, 2021, 32(6): 635-646
- [17] Lai X, Song Y, Tian J. CircCDK14 ameliorates interleukin-1 β -induced chondrocyte damage by the miR-1183/KLF5 pathway in osteoarthritis[J]. *Autoimmunity*, 2022: 1-10
- [18] Pan F, Li Z, Luo Y, et al. Circ_0136474 contributes to the IL-1 β -induced chondrocyte injury by binding to miR-665 to induce the FGFR1 upregulation[J]. *Transplant Immunology*, 2022: 101615
- [19] Chen D, Zhou H, Cai Z, et al. CircSCAP interacts with SF3A3 to inhibit the malignance of non-small cell lung cancer by activating p53 signaling[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2022, 41(1): 120
- [20] Yang R, Chen H, Xing L, et al. Hypoxia-induced circWSB1 promotes breast cancer progression through destabilizing p53 by interacting with USP10[J]. *Molecular cancer*, 2022, 21(1): 88
- [21] Bao D, Zhuang C, Jiao Y, et al. The possible involvement of circRNA DMNT1/p53/JAK/STAT in gestational diabetes mellitus and preeclampsia[J]. *Cell Death Discovery*, 2022, 8(1): 121
- [22] Yuan F, Zhang S, Sun Q, et al. Hsa_circ_0072309 enhances autophagy and TMZ sensitivity in glioblastoma [J]. *CNS Neuroscience & Therapeutics*, 2022, 28(6): 897-912
- [23] Kong P, Li C, Dou Y, et al. circ-Sirt1 Decelerates Senescence by Inhibiting p53 Activation in Vascular Smooth Muscle Cells, Ameliorating Neointima Formation [J]. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*, 2021, 8: 724592