

· 基础研究 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2026.02.007

网络首发 [https://link.cnki.net/urlid/50.1097.R.20250928.1836.013\(2025-09-29\)](https://link.cnki.net/urlid/50.1097.R.20250928.1836.013(2025-09-29))

## 炎症对成骨细胞 circRNA014222 和 NFAT5 表达的影响\*

梁裕彤<sup>1</sup> 李小宇<sup>1</sup> 葛青<sup>1</sup> 陈希立<sup>1</sup> 方颖<sup>1</sup> 王海霞<sup>2△</sup>

(1. 广州医科大学附属口腔医院种植科/广东省口腔组织修复与重建工程技术研究中心/广州市口腔再生医学基础与应用研究重点实验室, 广州 510182; 2. 联勤保障部队大连第九六七医院口腔科, 辽宁大连 116019)

**[摘要]** **目的** 探讨炎症对成骨细胞环状 RNA(circRNA)014222 和活化 T 细胞核因子 5(NFAT5) 表达的影响及其在骨生成中的作用。**方法** 利用脂多糖(LPS)刺激成骨细胞模拟体外炎症对骨组织的影响,通过 circRNA 芯片检测、小干扰 RNA(siRNA)干扰、RT-qPCR 等实验,筛选和验证出炎症相关 circRNA014222 及其相关 miR-7212-3p、目的基因 NFAT5,并研究其相互作用。**结果** LPS 刺激不会影响成骨细胞的增殖活性,但明显抑制了碱性磷酸酶(ALP)表达及矿化。LPS 刺激 24 h 后,成骨细胞 circRNA014222 表达明显降低,miR-7212-3p 和 NFAT5 表达明显升高,抑制 miR-7212-3p 表达,circRNA014222 和 NFAT5 的相对表达水平明显升高( $P < 0.05$ )。**结论** 在炎症状态下成骨细胞 circRNA014222 可能通过 miR-7212-3p 影响 NFAT5 的表达,进而在炎症性骨疾病中发挥一定作用。

**[关键词]** 成骨细胞;环状 RNA;活化 T 细胞核因子 5;脂多糖;碱性磷酸酶

**[中图分类号]** R780.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2026)02-0278-07

## The impact of inflammation on the expression of osteoblast circRNA014222 and NFAT5\*

LIANG Yutong<sup>1</sup>, LI Xiaoyu<sup>1</sup>, GE Qing<sup>1</sup>, CHEN Xili<sup>1</sup>, FANG Ying<sup>1</sup>, WANG Haixia<sup>2△</sup>

(1. Department of Dental Implantation, Affiliated Stomatology Hospital of Guangzhou Medical University/Guangdong Engineering Research Center of Oral Restoration and Reconstruction/Guangzhou Key Laboratory of Basic and Applied Research of Oral Regenerative Medicine, Guangzhou, Guangdong 510182, China; 2. Department of Stomatology, The 967 Hospital of Joint Logistics Support Force, Dalian, Liaoning 116019, China)

**[Abstract]** **Objective** To explore the effect of inflammation on the expression of circular RNA014222 and nuclear factor of activated T-cells 5 (NFAT5) in osteoblasts and its role in bone formation. **Methods** Osteoblasts were stimulated with lipopolysaccharide (LPS) to simulate the effect of inflammation on bone tissue in vitro. Through experiments such as circular RNA (circRNA) microarray detection, siRNA interference, and RT-qPCR, inflammation-related circRNA014222 and its related miRNA-7212-3p, as well as the target gene NFAT5, were screened and verified, and their interactions were studied. **Results** LPS stimulation did not affect the proliferative activity of osteoblasts, but significantly inhibits its alkaline phosphatase (ALP) expression and mineralization. After 24 h of LPS stimulation, the expression of circRNA014222 in osteoblasts was significantly decreased, while the expressions of miRNA-7212-3p and NFAT5 were significantly increased. Inhibition of miRNA-7212-3p expression significantly increased the expressions of circRNA014222 and NFAT5. **Conclusion** Osteoblasts circRNA014222 might regulate the expression of NFAT5 through miRNA-7212-3p in the inflammatory state, which might play a role in inflammatory bone diseases.

**[Key words]** osteoblast; circular RNA; nuclear factor of activated T-cells 5; lipopolysaccharide; alkaline phosphatase

种植体周围炎是引起种植修复失败的主要原因。脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)是一种慢性炎症刺激因子,可以引起种植体周围炎,破坏种植体骨整合,但其机制尚不清楚。环状 RNA (circular RNA, cir-

\* 基金项目:广东省医学科研基金立项项目(A2016229);广州市卫生科技健康一般引导项目(20191A011107)。△ 通信作者, E-mail: 2728507798@qq.com。

cRNA)是一种新型的内源性非编码 RNA 分子,可以通过与 miRNA 结合调控靶基因发挥作用。本课题组前期实验发现, LPS 可以引起成骨细胞 circRNA014222 及其下游基因活化 T 细胞核因子 5(nuclear factor of activated T-cells 5, NFAT5) 表达异常,有研究表明, NFAT5 不仅是核因子  $\kappa$ B 受体活化因子配体(receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand, RANKL)介导的破骨细胞分化的重要转录因子,还可以抑制成骨细胞分化和骨形成<sup>[1-3]</sup>。因此本研究通过细胞实验,利用 LPS 刺激成骨细胞模拟种植体周围炎对骨组织的影响,探讨成骨细胞 circRNA014222 对 NFAT5 表达的调控及其在骨炎性疾病中的作用,为临床预防和治疗种植体周围炎提出新的思路和方法。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

小鼠胚胎成骨细胞前体细胞 MC3T3-E1 Subclone 14, 购自武汉普诺赛生命科技有限公司。

### 1.2 主要试剂与仪器

最低必需( $\alpha$ -minimum essential medium,  $\alpha$ -MEM)培养基(美国 Gibco 公司), 10%胎牛血清(美国 Gibco 公司), 青霉素/链霉素(美国 Gibco 公司), 0.02% EDTA(美国 Gibco 公司), 细胞计数板(美国 Thermo 公司), LPS(美国 E coli, Sigma 公司), 细胞计数试剂盒 8(CCK-8, 日本株式会社同仁化学研究所),  $\beta$ -甘油磷酸钠(美国 Sigma 公司), 抗坏血酸(中国北京索莱宝科技有限公司), 地塞米松(美国 Sigma 公司), 5-溴-4-氯-3-吡啶基磷酸盐/四唑硝基蓝(5-bromo-4-chloro-3-indolyl phosphate/nitrotetrazolium blue, BCIP/NBT)碱性磷酸酶显色试剂盒(中国上海碧云天生物技术股份有限公司), 茜素红染色剂(中国上海碧云天生物技术股份有限公司), 细胞计数仪(美国 Thermo 公司), 酶标仪(美国 Thermo 公司), 低速离心机(美国 Beckman 公司)。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 LPS 对成骨细胞增殖和矿化的影响

MC3T3-E1 细胞加入  $\alpha$ -MEM 培养基中,同时加入 10%胎牛血清、100 U/mL 青霉素和 100  $\mu$ g/mL 链霉素培养于 CO<sub>2</sub> 培养箱中,每 2~3 d 换一次液。当细胞融合达到 80%时,用含有 0.02% EDTA 的 0.25%胰蛋白酶消化细胞,然后离心,弃上清液。使用含有 10%胎牛血清的 DMEM 培养基制备细胞悬液。用细胞计数板计数,并将细胞稀释至  $5 \times 10^4$ /mL 的密度接种至 96 孔板(100  $\mu$ L/孔)上,将细胞在培养箱中培养 24 h(37  $^{\circ}$ C, 5% CO<sub>2</sub>)。未用 LPS 处理的细胞为空白对照组,用 100 ng/mL、500 ng/mL、1  $\mu$ g/mL、2  $\mu$ g/mL LPS 处理 MC3T3-E1 细胞 1、3、5、7 d 后,将 CCK-8 试剂加入 96 孔板中,在培养箱(37  $^{\circ}$ C, 5% CO<sub>2</sub>)中孵育 2 h,使用酶标仪检测波长为 450 nm

的光密度。

将 MC3T3-E1 细胞( $2 \times 10^4$  个细胞/孔, 48 孔板)培养在含有 10%胎牛血清、100 U/mL 青霉素和 100  $\mu$ g/mL 链霉素、10 mmol/L  $\beta$ -甘油磷酸钠、50  $\mu$ g/mL 抗坏血酸和 100 nmol/L 地塞米松的  $\alpha$ -MEM 培养基中。MC3T3-E1 细胞用含或不含有 1  $\mu$ g/mL LPS 的成骨诱导培养基培养 7、14、21、28 d,在此期间每 3 d 更换一次培养基。在第 7、14 天进行碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)染色;对 LPS 处理后的 MC3T3-E1 细胞中 ALP 的表达及矿化结节的形成进行研究,以探讨 LPS 对 MC3T3-E1 早期及晚期的成骨分化能力的影响。分别在用完全培养基作为阴性对照组、成骨诱导培养基作为阳性对照组和用成骨诱导培养基配制的 1  $\mu$ g/mL 的 LPS 培养 MC3T3-E1 细胞 7、14 d 后,对 ALP 的活性进行了评估。第 21、28 天进行茜素红染色。本研究在分别用完全培养基作为阴性对照组、成骨诱导培养基作为阳性对照组和用成骨诱导培养基配置的 1  $\mu$ g/mL LPS 培养 MC3T3-E1 细胞 21、28 d 后,用茜素红染色来观察 MC3T3-E1 细胞的矿化水平。

#### 1.3.2 LPS 刺激下成骨细胞 circRNA 标本的制备、筛选和验证

37  $^{\circ}$ C 水浴预热培养基( $\alpha$ -MEM + 10%胎牛血清 + 双抗),从液氮中取出成骨细胞株 MC3T3-E1,将细胞迅速放入 37  $^{\circ}$ C 水浴快速解冻,转入离心管中,1 000 r/min 离心 5 min,弃上清液,加入 3 mL 培养基重悬细胞后转入 T25 培养瓶中,轻轻晃匀,置于 37  $^{\circ}$ C, 5% CO<sub>2</sub> 培养箱中培养;第 2 天,用新鲜的培养基给细胞换液后继续培养,当细胞融合度达到 90%以上时,将细胞传代至 6 孔板中,分为两组:对照组和 LPS 组,每组 3 孔。加入 1  $\mu$ g/mL LPS 刺激 24 h 后,加入 Trizol 试剂 1 mL/孔裂解细胞,移至 EP 管中,送生物公司做质量鉴定和 MC3T3-E1 细胞 circRNA 芯片检测。

采用生物信息学技术,分析 circRNA 芯片检测数据,对比 LPS 组与对照组中表达升高或降低的 circRNA,将数据分为两大类,综合考虑变化倍数、基因型、circRNA 大小、microRNA 结合位点、炎症和骨代谢相关基因等条件筛选出 18 条 circRNA,它们在 LPS 刺激的 MC3T3-E1 细胞中表达不同于正常细胞。其中 4 条 circRNA 表达上调,14 条 circRNA 表达下调。随后进一步筛选出 circRNA014222 及其相关 miR-7212-3p 和靶基因 NFAT5。复苏 MC3T3-E1 细胞后,当细胞融合度达到 90%以上时,将细胞传代至 T25 培养瓶中,分 2 组:正常组和 LPS 刺激组,每组 3 瓶。加入 1  $\mu$ g/mL LPS 刺激 24 h 后,采用 Trizol 1 mL/孔裂解细胞,移至 EP 管中。Trizol 法提取总 RNA,去除基因组 DNA,反转录成 cDNA。采用 Primer Premier 5.0 软件设计筛选出的成骨细胞炎症

相关性 circRNA014222 引物。根据 Takara 公司的 RT-qPCR 试剂盒操作步骤完成挑选出的 circRNA014222 的 RT-qPCR 和 DNA 电泳验证,并将 RT-qPCR 产物送生物公司测序。

### 1.3.3 LPS 对成骨细胞 MC3T3-E1 中 circRNA014222 及其相关 miR-7212-3p 和靶基因 NFAT5 表达的影响

MC3T3-E1 细胞复苏后,当细胞融合度达到 90% 以上时,将细胞传代至 T25 培养瓶中,分为两组:正常组和 LPS 刺激组,每组 3 瓶。加入 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  LPS 刺激 24 h 后,加入 Trizol 试剂 1 mL/孔裂解细胞,移至 EP 管中。Trizol 法提取总 RNA,去除基因组 DNA,反转录成 cDNA。设计合成 NFAT5 引物,正向:5'-CAG CCA ACC TCA AGT AAA CCT-3';反向:3'-GAA GTG ACA TCA TCT CGC TCC-5',扩增产物长度 119 bp。设计合成 miR-7212-3p 上游引物 TAA CAC ACA CGT CTC CAG GTC,三步法 RT-qPCR 检测 circRNA014222、NFAT5 和 miR-7212-3p 表达情况。

### 1.3.4 miR-7212-3p 对 NFAT5 表达的影响

设计合成 miR-7212-3p inhibitor,通过转染试剂 Lipofectamine 3000(美国赛默飞世尔公司)转入成骨细胞。步骤如下:MC3T3-E1 细胞复苏后,当细胞融合度达到 90% 以上时,将细胞传代至 6 孔板中,分为正常组和 inhibitor 组。培养 48 h 后,提取总 RNA,去除基因组 DNA,反转录成 cDNA,RT-qPCR 检测 circRNA014222 和 NFAT5 的表达。

### 1.4 统计学处理

采用 SPSS25.0 统计软件对数据进行分析。计量资料采用  $\bar{x} \pm s$  表示,两组间比较采用 *t* 检验,多组间比较采用单因素方差分析。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结 果

### 2.1 LPS 对成骨细胞增殖和矿化的影响

#### 2.1.1 LPS 对成骨细胞增殖的影响

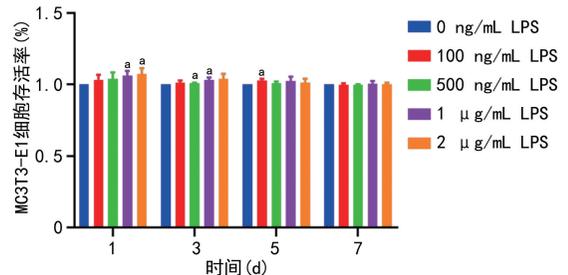
本实验通过 CCK-8 检测 LPS 对细胞增殖活性的影响。结果显示,用 100 ng/mL、500 ng/mL、1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、2  $\mu\text{g}/\text{mL}$  LPS 处理 MC3T3-E1 细胞 1、3、5、7 d 后,实验组的细胞存活率均超过 95%,未检测到明显的 MC3T3-E1 细胞活性降低,见图 1。

#### 2.1.2 LPS 对成骨细胞矿化的影响

对 LPS 处理后的 MC3T3-E1 细胞 ALP 的表达及矿化结节的形成进行研究,分别在用完全培养基作为阴性对照组、成骨诱导培养基作为阳性对照组和用成骨诱导培养基配置的 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  LPS 培养 MC3T3-E1 细胞 7、14 d 后,对 ALP 的活性进行了检测,结果显示,7 d 和 14 d 后,LPS 处理的 ALP 染色均比阴性对照组深,比阳性对照组浅,表明 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  LPS 抑制了 MC3T3-E1 细胞 ALP 的表达,见图 2A。

本研究通过茜素红染色来标记矿化结节的形成,

以评估 LPS 对于 MC3T3-E1 细胞晚期成骨的影响。结果显示在 21 d 和 28 d 后,LPS 处理组的茜素红染色颜色均比阴性对照组深、厚,且矿化结节形成更多,矿物质沉积的积累增加;比阳性对照组浅、薄,且矿化结节形成更少,矿物质沉积的积累减少。以上结果表明,1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  LPS 抑制 MC3T3-E1 细胞的矿化,见图 2B。



0 ng/mL LPS: 空白对照组,未加入 LPS 的正常 MC3T3-E1 细胞;<sup>a</sup>:  $P < 0.05$ ,与空白对照组比较。

图 1 LPS 对成骨细胞增殖的影响

### 2.2 LPS 刺激下成骨细胞 circRNA 标本的制备、筛选和验证

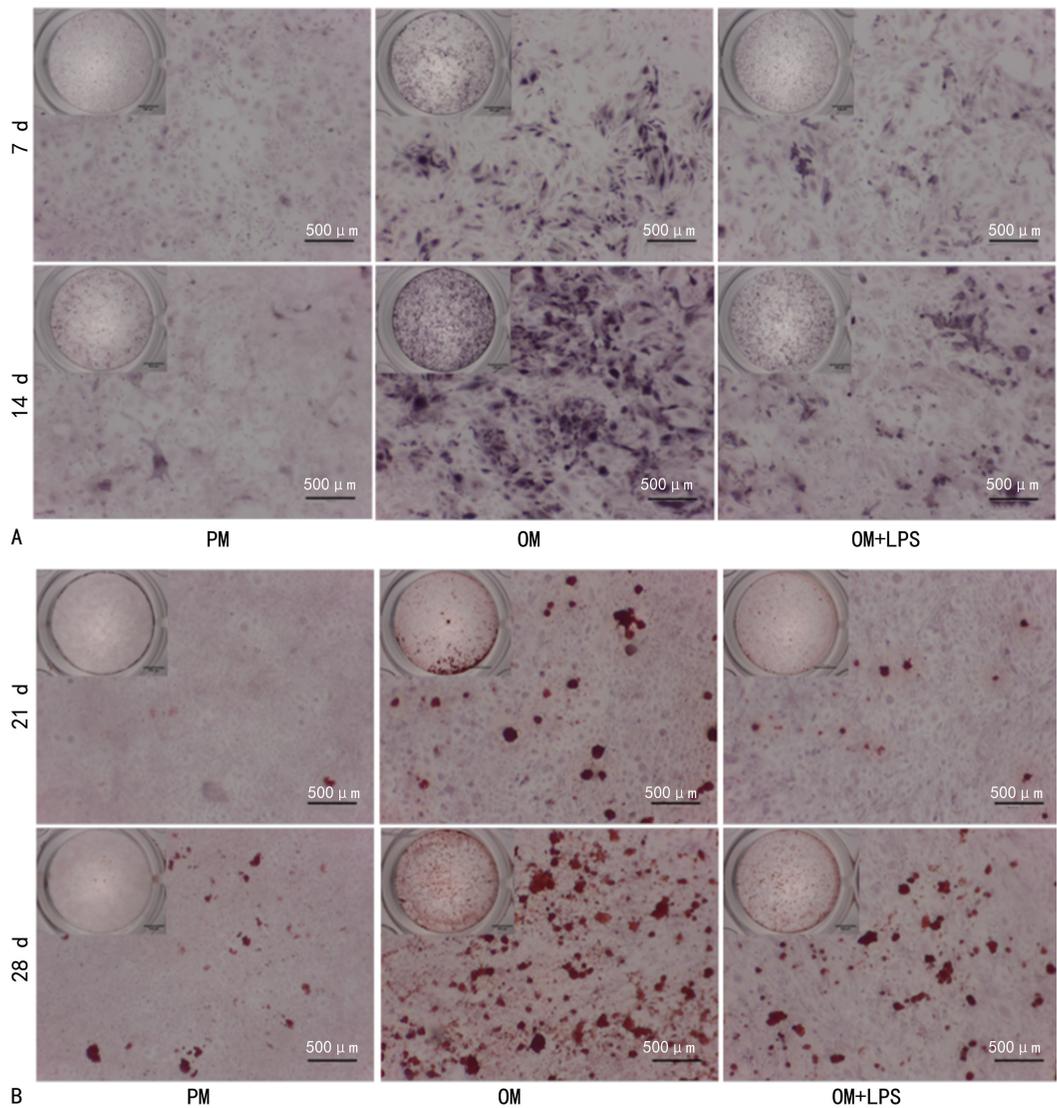
采用生物信息学技术,分析 circRNA 芯片检测数据,对比 LPS 组与对照组中表达升高或降低的 circRNA,将数据分为两大类,综合考虑变化倍数、基因型、circRNA 大小、microRNA 结合位点、炎症和骨代谢相关基因等条件筛选出 18 条 circRNA,它们在 LPS 刺激的 MC3T3-E1 细胞中表达不同于正常细胞。其中 4 条 circRNA 表达上调,14 条 circRNA 表达下调。为了验证 circRNA 芯片的结果,本研究对其表达变化进行 RT-qPCR 分析。DNA 电泳证实了 circRNA014222 在 MC3T3-E1 细胞中的表达,测序结果显示,在 LPS 刺激下,成骨细胞 circRNA014222 的表达明显降低,见图 3。miRDB (<http://mirdb.org/miRDB/index.html>)和 TargetScan/TargetScanS(<http://www.targetscan.org/>)软件预测 miR-7212-3p 与 circRNA014222 及 NFAT5 的表达相关,见图 4。

### 2.3 LPS 对成骨细胞 MC3T3-E1 circRNA014222 及其相关 miR-7212-3p 和靶基因 NFAT5 表达的影响

RT-qPCR 结果显示,1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  LPS 刺激 MC3T3-E1 24 h 后,与对照组比较,circRNA014222 表达水平明显降低,miR-7212-3p 和 NFAT5 相对表达水平明显升高,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),见图 5。

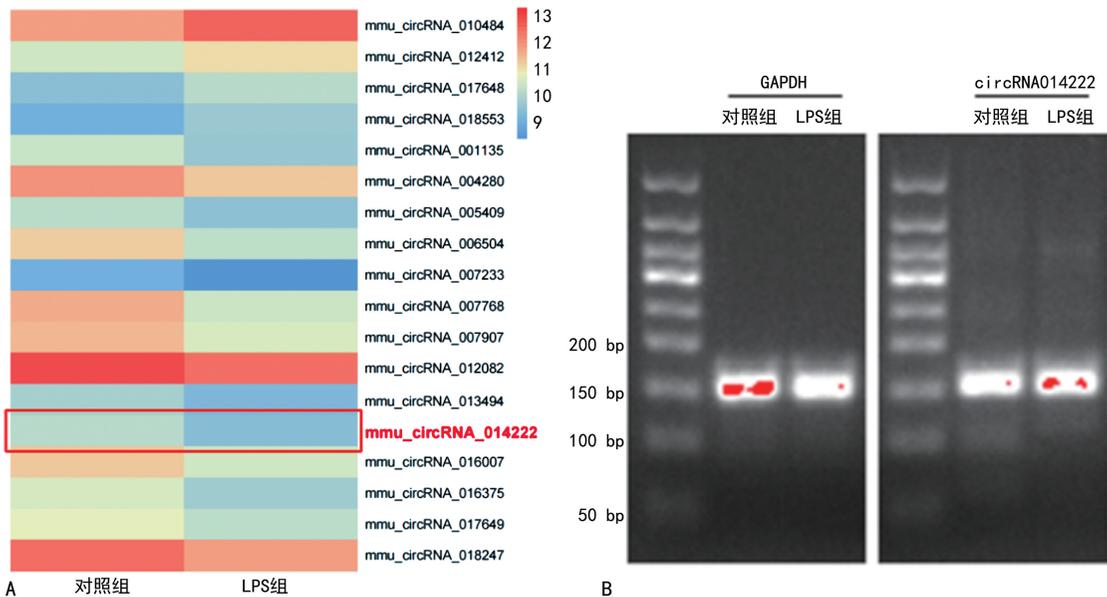
### 2.4 miR-7212-3p 对 circRNA014222 和 NFAT5 表达的影响

设计合成 miR-7212-3p 的 inhibitor,检测 miR-7212-3p 对 MC3T3-E1 细胞 circRNA014222 和 NFAT5 相对表达水平的影响。RT-qPCR 结果显示,与正常组相比,inhibitor 组 circRNA014222 和 NFAT5 相对表达水平明显升高( $P < 0.05$ ),见图 6。



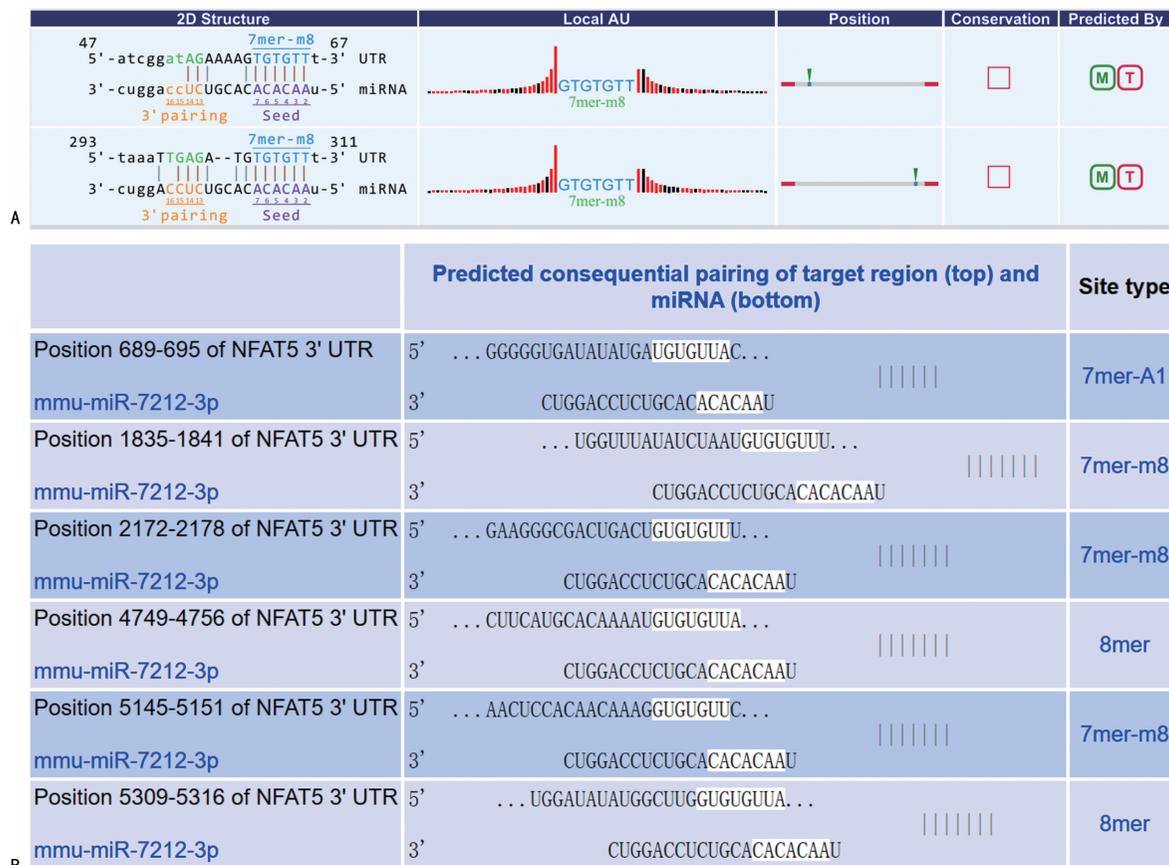
A: ALP 染色结果图; B: 茜素红染色结果图。PM: 阴性对照组, 完全培养基培养的 MC3T3-E1 细胞; OM: 阳性对照组, 成骨诱导培养基培养的 MC3T3-E1 细胞; OM+LPS: 实验组, 成骨诱导培养基培养的 MC3T3-E1 细胞中加入 1 μg/mL LPS 处理。

图 2 LPS 对 MC3T3-E1 成骨矿化作用的影响



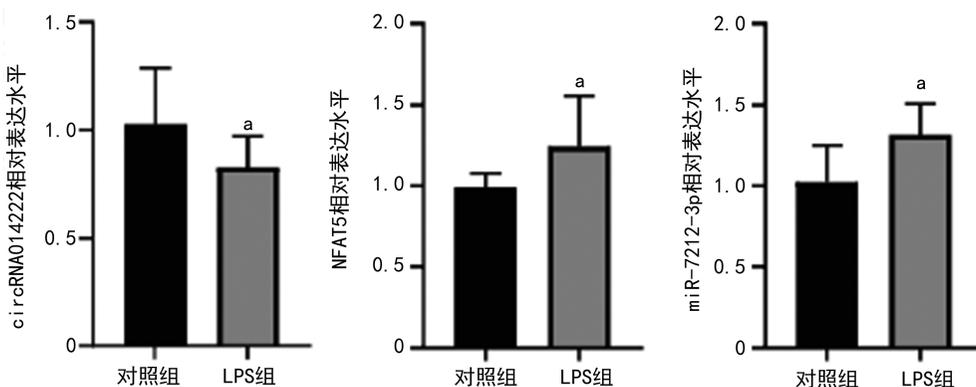
A: 热图; B: DNA 电泳测序。

图 3 LPS 刺激下 MC3T3-E1 的 circRNA014222 表达



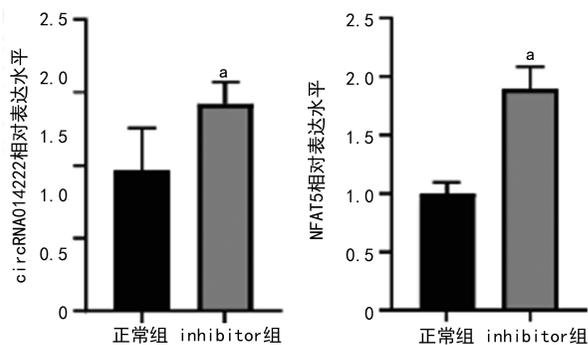
A: circRNA014222 和 miR-7212-3p 结合位点预测; B: miR-7212-3p 与 NFAT5 结合位点预测。

图 4 结合位点预测



<sup>a</sup>:  $P < 0.05$ , 与对照组比较。

图 5 LPS 对 circRNA014222、NFAT5 和 miR-7212-3p 表达水平的影响



<sup>a</sup>:  $P < 0.05$ , 与正常组比较。

图 6 抑制 miR-7212-3p 表达后 circRNA014222、相对 NFAT5 的表达水平

### 3 讨论

circRNA 是近年来被发现的一种特殊的新型内源性非编码 RNA, 与传统的线型 RNA 不同, circRNA 分子呈封闭环状结构, 不受 RNA 外切酶影响, 表达更稳定, 不易降解。circRNA 由特殊的选择性剪切产生, 大量存在于真核细胞的细胞质中, 具有一定的组织、时间和疾病特异性。circRNA 分子富含 miRNA 的结合位点, 它可以作为 miRNA 的海绵, 并调节靶基因的表达<sup>[4-6]</sup>。更重要的是, circRNA 在细胞质中含量丰富、保守且稳定, 在许多疾病中或能作为靶向治疗的新靶点, 如动脉粥样硬化、神经系统疾病、朊病毒疾病和癌症<sup>[7-9]</sup>。牙种植体已被广泛用于

牙列的修复和重建,但种植体周围炎是引起种植失败的主要原因之一,导致种植体松动、脱落,目前这种疾病的机制仍然未知<sup>[10]</sup>。miRNA 的异常表达是骨质疏松和其他骨相关疾病的重要病理因素。研究表明,在骨细胞的分化过程中,每一个相关 miRNA 都会对其生物学转导产生显著的影响,使得 miRNA 的功能异常可能导致骨疾病的发生。因此本课题组推测通过与疾病关联的 miRNA 相互作用,circRNA 可能在骨疾病中发挥着重要的调控作用,为种植体周围炎的预防和治疗提供新的思路<sup>[11]</sup>。本研究采用阵列分析检查了 LPS 刺激的 MC3T3-E1 细胞中 circRNA 的表达谱,发现 circRNA014222 表达明显降低 ( $P < 0.05$ )。根据 circBase 数据库,circRNA014222 是 mm9\_circ\_014222 (<http://www.circbase.org>) 的别名。circRNA014222 源自外显子,由 chr17:65592290-65595054 生成,其相关基因符号为 Vapa。研究显示,circRNA 主要由外显子组成,外显子主要存在于细胞质中,可能具有 miRNA 反应元件<sup>[4-7,12]</sup>。HANSEN 等<sup>[13]</sup>发现了一种 circRNA,也称为 CDR1as,其含有 60 多个常规 miR-7 结合位点,具有 miR-7 抑制剂的功能。本研究采用 TargetScan 和 miRDB 软件预测 circRNA014222 内 miR-7212-3p 的结合位点及相关基因 NFAT5。阵列分析结果表明,circRNA014222 有两个 miRNA 结合位点。

选择 circRNA014222 进行这项研究的原因是,根据 miRDB 和 TargetScanS 的生物信息学分析结果,它的亲本基因是 NFAT5。研究表明,NFAT 是一类具有多向调节功能的转录因子,在免疫反应中对诱导基因转录起重要作用<sup>[14]</sup>。这类蛋白质还可以在多种免疫细胞上表达,如 B 淋巴细胞、肥大细胞、嗜酸性粒细胞等,其活性受到  $Ca^{2+}$  依赖的钙调神经磷酸酶的调节,在机体免疫应答中诱导细胞因子及其他基因的转录<sup>[15-16]</sup>。多项研究表明,炎症性肠病、骨质疏松、骨关节炎、心肌炎等多种急慢性疾病的发病都与 NFAT 的活化相关,因而日益受到重视<sup>[11,17-18]</sup>。LEE 等<sup>[19]</sup>认为 NFAT 不仅是 RANKL 介导的破骨细胞分化的重要转录因子,降低成骨细胞 MC3T3-E1 NFATc1 和 NFATc3 的表达,还可以促进高浓度  $Ca^{2+}$  介导的 RANKL 的表达,钙调神经磷酸酶/NFAT 信号传导通路在其中可能发挥重要作用。ZANOTTI 等<sup>[3]</sup>研究发现,激活 NFAT2 可以抑制成骨细胞功能和骨形成,导致骨质减少。CHOO 等<sup>[20]</sup>体内外研究表明,抑制 NFAT 信号通路可以促进成骨细胞分化和骨形成,激活 NFATc1 可以抑制 ALP 的活性,以及成骨细胞分化早期及晚期的标志物 Osterix(一种成骨相关转录因子)和骨钙素的基因表达。但是,关于 NFAT5 对成骨细胞功能的影响及调控机制还不清楚。种植体周围炎的特征是破骨细胞活性增加及成骨细胞和破骨细胞之间平衡的改变导致骨吸收增加<sup>[21-23]</sup>。研

究表明,NFAT 不仅是 RANKL 介导的破骨细胞分化的重要转录因子,还可以抑制成骨细胞分化和骨形成<sup>[1,24-25]</sup>。本研究结果显示,在炎症环境下,成骨细胞增殖没有明显改变,但矿化受到明显抑制,同时 LPS 刺激可以引起 NFAT5 相对表达水平明显升高。因此,炎症刺激可能通过改变 NFAT5 表达,对成骨细胞和破骨细胞之间的相互作用产生影响,从而抑制了成骨细胞矿化。

本研究发现,LPS 刺激可以引起 MC3T3-E1 细胞中 circRNA014222 相对表达水平明显降低,而 miR-7212-3p 相对表达水平明显升高。此外,抑制 miR-7212-3p 的表达则使 circRNA014222 和 NFAT5 相对表达水平升高,说明 MC3T3-E1 细胞中 circRNA014222 对 miR-7212-3p 的表达产生抑制作用。成熟的 miRNA 可以通过靶向调控机制,即通过与 mRNA 的 3'UTR 互补配对抑制目的基因的转录和翻译。本研究预测了 miR-7212-3p 与 NFAT5 的 3'UTR 互补配对结合位点,研究结果也表明抑制 miR-7212-3p 表达可以引起 NFAT5 表达明显升高,猜测 miR-7212-3p 对 NFAT5 产生抑制作用。

综上所述,在炎症刺激下 MC3T3-E1 细胞 circRNA014222 可以通过 miRNA-7212-3p 来调节 NFAT5 的表达,从而影响骨改建。关于 circRNA014222 是否可以用作骨炎性疾病的潜在靶标还需要进一步研究。

**利益冲突:**所有作者声明不存在利益冲突

## 参考文献

- [1] CHEN Y, XIE Z, ZHANG Y, et al. Shikonin relieves osteoporosis of ovariectomized mice by inhibiting RANKL-induced NF- $\kappa$ B and NFAT pathways [J]. *Exp Cell Res*, 2020, 394 (1): 112115.
- [2] REN R, GUO J, CHEN Y, et al. The role of  $Ca^{2+}$ /Calcineurin/NFAT signalling pathway in osteoblastogenesis [J]. *Cell Prolif*, 2021, 54 (11): e13122.
- [3] ZANOTTI S, CANALIS E. Activation of Nfatc2 in osteoblasts causes osteopenia [J]. *J Cell Physiol*, 2015, 230(7):1689-1695.
- [4] CHEN L L. The expanding regulatory mechanisms and cellular functions of circular RNAs [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2020, 21 (8): 475-490.
- [5] MARGVELANI G, MAQUERA K A A, WELDEN J R, et al. Translation of circular RNAs [J]. *Nucleic Acids Res*, 2025, 53(1): gkae1167.
- [6] MISIR S, WU N, YANG B B. Specific expres-

- sion and functions of circular RNAs [J]. *Cell Death Differ*, 2022, 29(3):481-491.
- [7] HE A T, LIU J, LI F, et al. Targeting circular RNAs as a therapeutic approach: current strategies and challenges [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2021, 6(1):185.
- [8] 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.
- [9] ZHANG W, XU C, YANG Z, et al. Circular RNAs in tumor immunity and immunotherapy [J]. *Mol Cancer*, 2024, 23(1):171.
- [10] FU J H, WANG H L. Breaking the wave of peri-implantitis [J]. *Periodontol 2000*, 2020, 84(1):145-160.
- [11] 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.
- [12] LIU C X, CHEN L L. Circular RNAs: characterization, cellular roles, and applications [J]. *Cell*, 2022, 185(12):2016-2034.
- [13] HANSEN T B, JENSEN T I, CLAUSEN B H, et al. Natural RNA circles function as efficient microRNA sponges [J]. *Nature*, 2013, 495(7441):384-388.
- [14] KRISTENSEN L S, EBBESEN K K, SOKOL M, et al. Spatial expression analyses of the putative oncogene ciRS-7 in cancer reshape the microRNA sponge theory [J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1):4551.
- [15] PARK Y J, YOO S A, KIM M, et al. The Role of calcium-calcineurin-NFAT signaling pathway in health and autoimmune diseases [J]. *Front Immunol*, 2020, 11:195.
- [16] RAO A, LUO C, HOGAN P G. Transcription factors of the NFAT family: regulation and function [J]. *Annu Rev Immunol*, 1997, 15:707-747.
- [17] CHENG L, JIN X, SHEN H, et al. Icariin attenuates thioacetamide-induced bone loss via the RANKL-p38/ERK-NFAT signaling pathway [J]. *Mol Med Rep*, 2022, 25(4):126.
- [18] ZHANG M, CAMPBELL T, FALCON S, WANG J. Regulatory role of NFAT1 signaling in articular chondrocyte activities and osteoarthritis pathogenesis [J]. *Biocell*, 2023, 47(10):2125-2132.
- [19] LEE H L, BAE O Y, BAEK K H, et al. High extracellular calcium-induced NFATc3 regulates the expression of receptor activator of NF- $\kappa$ B ligand in osteoblasts [J]. *Bone*, 2011, 49(2):242-249.
- [20] CHOO M K, YEO H, ZAYZAFOON M. NFATc1 mediates HDAC-dependent transcriptional repression of osteocalcin expression during osteoblast differentiation [J]. *Bone*, 2009, 45(3):579-589.
- [21] ASA'AD F, GARAICOA-PAZMIÑO C, DAHLIN C, et al. Expression of MicroRNAs in periodontal and peri-implant diseases: a systematic review and meta-analysis [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(11):4147.
- [22] LI Q, LU H, ZHANG M, et al. Epigenetic factors associated with peri-implantitis: a review [J]. *J Zhejiang Univ Sci B*, 2025, 26(7):657-674.
- [23] DARBY I. Risk factors for periodontitis & peri-implantitis [J]. *Periodontol 2000*, 2022, 90(1):9-12.
- [24] CHEN A, JIN J, CHENG S, et al. mTORC1 induces plasma membrane depolarization and promotes preosteoblast senescence by regulating the sodium channel *Scn1a* [J]. *Bone Res*, 2022, 10(1):25.
- [25] SHEN K, ZHANG X, TANG Q, et al. Microstructured titanium functionalized by naringin inserted multilayers for promoting osteogenesis and inhibiting osteoclastogenesis [J]. *J Biomater Sci Polym Ed*, 2021, 32(14):1865-1881.

(收稿日期:2025-08-11 修回日期:2025-10-28)

(编辑:管佩钰)