

文章编号: 1004-0374(2010)07-0668-06

非编码 RNA 在骨骼肌发育中的功能

张 勇, 朱大海*

(中国医学科学院基础医学研究所医学分子生物学国家重点实验室, 北京 100005)

摘 要: 近几年的研究表明, 非编码 RNA 的功能几乎涉及生命活动的各个方面。非编码 RNA 在骨骼肌发育中的功能研究揭示了骨骼肌发育调控的复杂性。该文总结了骨骼肌发育中非编码 RNA 的系统发现与鉴定以及非编码 RNA 在骨骼肌发育和再生中的功能研究。

关键词: 非编码 RNA; miRNA; 骨骼肌发育; 调控

中图分类号: Q52; R336 **文献标识码:** A

Non-protein coding RNAs in muscle development

ZHANG Yong, ZHU Da-hai*

(National Laboratory of Medical Molecular Biology, Institute of Basic Medical Sciences, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100005, China)

Abstract: Functional studies have demonstrated that non-protein coding RNAs (ncRNAs) play critical roles in a wide spectrum of biological processes. The implication of ncRNAs in the regulation of muscle development highlights the complexity of the regulatory network underlining the vertebrate myogenesis. Herein, we reviewed the systematic identification and characterization of ncRNAs during muscle development. The functional studies of ncRNAs during muscle development and regeneration were also included.

Key words: non-protein coding RNA; microRNA; muscle development; regulation

骨骼肌发育是由多因素参与的受严格调控的复杂生物学过程。骨骼肌细胞的增殖与分化是骨骼肌发育的核心问题。以往的研究主要集中于各类成肌调控因子的时序表达及其对骨骼肌细胞增殖分化的调控机理, 包括成肌调节因子家族(Myf5、MyoD、Myogenin 和 MRF4)、肌细胞增强因子-2(myocyte enhancer factor-2, MEF-2)、含有配对结构域的转录调控因子 Pax 家族成员 Pax3 和 Pax7 等。这些骨骼肌发育重要调控蛋白质始终受到关注。近年来研究表明, 非编码 RNA (non-protein coding RNA, ncRNA) 分子参与调节胚胎发育、器官发生、干细胞的维持、细胞增殖分化与凋亡、基因表达调控等多个生物学过程。非编码 RNA 对骨骼肌发育的调控成为骨骼肌发育生物学的研究热点。

1 非编码 RNA

非编码 RNA 是生物体中不编码蛋白质但却起着

重要调控作用的 RNA 分子。ncRNA 是基因组的转录产物, 有些是由 RNA 聚合酶 I 转录的(如 rRNA); 有些是 RNA 聚合酶 III 转录的(如 tRNA、5SrRNA); 多数是由 RNA 聚合酶 II 转录的。就序列特征而言, ncRNA 中反复出现起始密码子和终止密码子, 因而没有开放读码框(open reading frame, ORF)。就功能而言, ncRNA 具有蛋白质和核酸的双重特性, 在基因组印记、染色体复制、转录调节、RNA 加工及剪切、mRNA 稳定性及翻译、蛋白质降解和运输等过程中发挥重要作用, 因而广泛参与胚胎发育、

收稿日期: 2010-06-08

基金项目: 国家自然科学基金(30873366); 国家重点基础研究发展计划(“973”项目)(2007CB946903, 2009CB941602); 国家高技术研究发展计划(“863”计划)(2006AA10A121, 2007AA02Z109)

*通讯作者: E-mail: dhzhu@pumc.edu.cn

器官发生、干细胞的维持、细胞增殖分化与凋亡等生命活动的调节^[1-4]。它们可特异性识别靶RNA或DNA分子上的核苷酸,通过形成互补碱基对发挥功能。

最初只是根据ncRNA所在位置、大小、特征或功能给予命名。除了rRNA和tRNA外,还包括:催化性RNA(catalytic RNA, cRNA),亦称核酶,是RNA拟酶和其他RNA自我催化分子;类mRNA(mRNA like),是一类3'端有PolyA,无典型ORF的RNA分子;指导性RNA(guide RNA, gRNA),是指导mRNA编辑的小RNA分子;端粒酶RNA(telomerase RNA);信号识别颗粒(signal recognition particle, SRP) RNA;核内小分子RNA(small nuclear RNA, snRNA);核仁小分子RNA(small nucleolar RNA, snoRNA);microRNA等。实际上,ncRNA远不能以上述方法分类,因为目前发现的ncRNA种类越来越多。目前倾向于用分子大小来分类:小的ncRNAs(19~35 nt),如miRNAs、piRNAs、内源性的siRNAs等;中等大小的ncRNAs(50~500 nt),如tRNAs、snoRNAs、snRNAs等;长片段非编码RNA(大于500 nt),如Xist等。大规模cDNA文库测序^[5]和Tiling基因芯片^[6,7]研究表明,人类基因组中大约93%的DNA可以转录为RNA,其中只有2%能够翻译蛋白质(即mRNA),其余98%为非编码RNAs。迄今为止,人们对各个物种基因组中转录的非编码RNA的认识仍然是初步的,甚至不知其基因的确切数目和种类。

2 骨骼肌发育中非编码RNA的系统发现

随着功能基因组学研究和转录组测序技术的应用,越来越多的非编码RNA被发现,非编码RNA的功能涉及到细胞生命活动和个体发育与疾病发生的各个方面。尤其是时空特异性表达的非编码RNA的发现提示非编码RNA在个体发育和组织器官发生中发挥重要作用。肌肉组织特异性表达的非编码RNA的发现使非编码RNA对肌肉发育的调控成为骨骼肌发育生物学的研究热点。系统发现和鉴定在肌肉组织中表达的非编码RNA对于理解非编码RNA对肌肉发育的调控具有重要意义,同时为深入研究非编码RNA对骨骼肌发育的调节机理和调控网络提供充分的数据。

骨骼肌的发育来源于轴旁中胚层,轴旁中胚层进一步发育成体节,体节的多能干细胞经历肌肉始祖细胞发育命运的决定、增殖与分化,沿着既定的路线迁移至将来形成肌组织的部位分化成骨骼肌。

为了研究非编码RNA对体节发育的调控及其对进一步的肌组织形成过程的影响,Rathjen等^[8]采用显微切割的方法收集发育3~5 d鸡胚的体节,提取RNA,对19~24 nt的小RNA用Solexa技术深度测序。发现在体节中表达的127种miRNAs,其中85个是已知的,42个是在体节中新发现的miRNAs。通过Northern杂交发现几个miRNAs在体节部位有高水平表达,提示这些miRNAs参与体节发育的调控。Nielsen等^[9]采用另一种小RNA测序的方法(massively parallel sequencing technology)对猪的骨骼肌组织中表达的miRNA进行深度测序,获得212个miRNAs在骨骼肌组织中的表达。Huang等^[10]采用*in silico*预测和miRNA芯片分析了猪胚胎期和出生后骨骼肌组织的miRNA表达谱,鉴定了在胚胎期和出生后表达的miRNAs。

我们实验室以骨骼肌生长速度显著差异的肉用型鸡和蛋用型鸡为材料,采用Solexa测序的方法对鸡的骨骼肌组织中表达的miRNA进行分析,发现在鸡的骨骼肌组织中有216种miRNAs表达,表达丰度最高的是miR-206。同时,采用生物信息学分析方法,发现39个新的miRNAs。通过比较蛋用型鸡和肉用型鸡骨骼肌组织中miRNA的表达水平,发现15个蛋鸡和肉鸡骨骼肌组织差异表达的miRNAs。提示这15个miRNAs可能是骨骼肌发育的调控因子,目前正在进行其功能的研究(数据未发表)。

除了miRNAs,其他类型的非编码RNA在骨骼肌发育中也发挥重要作用。通过构建骨骼肌组织非编码RNA文库(50~500 nt),我们实验室克隆了在鸡的骨骼肌组织中表达的125种非编码RNAs(50~500 nt)和在恒河猴的骨骼肌组织中表达的117个非编码RNA分子^[11,12]。通过检测这些非编码RNAs的时空表达谱,分析非编码RNA在蛋鸡和肉鸡骨骼肌组织中表达的差异,筛选到了一些对骨骼肌发育可能起重要调控作用的非编码RNAs。包括1个骨骼肌和心肌特异表达的新的非编码RNA(GGN39),6个蛋鸡和肉鸡骨骼肌组织差异表达的非编码RNAs(其中1个功能未知的新的非编码RNA、3个snoRNAs和2个scaRNAs)。这些蛋鸡和肉鸡骨骼肌组织差异表达的非编码RNA可能对骨骼肌发育起重要的调控作用。

3 肌肉特异表达的非编码RNA对骨骼肌发育的调控

microRNA(也写作miRNA或miR)作为一类具有

调控活性的非编码小分子RNA,广泛参与多种组织器官的发育与疾病发生。miRNA参与骨骼肌发育的直接证据来自于骨骼肌组织条件性敲除dicer小鼠的骨骼肌发育异常^[13]。dicer基因敲除鼠的骨骼肌发育受到严重影响,包括围产期致死、骨骼肌块减小、肌纤维形态异常。由于dicer基因编码的蛋白是miRNA成熟加工所必需的核酸内切酶,说明miRNAs在胚胎骨骼肌发育过程中起重要作用。研究中发现一些miRNAs在骨骼肌组织中特异表达,称为MyomiRs,比如miR-1、miR-133、miR-206参与肌细胞增殖分化的调控以及肌肉相关性疾病的病理发生^[14]。miR-1、miR-133、miR-206的启动子区含有MyoD和Myogenin等成肌调控因子结合位点,保障和维持了MyomiRs的骨骼肌组织表达特异性^[15]。同时,miR-1的启动子区还有MEF-2和血清应答因子(serum response factor, SRF)结合位点,受MEF-2和SRF的调控^[16]。

miR-1/206家族在进化上出现较早,序列和功能都非常保守。在果蝇中的研究表明,miR-1是维持体壁肌肉发育和完整性的必需基因(essential gene),尽管miR-1对中胚层的模式形成和肌肉细胞的特化(mesoderm patterning and muscle specification)不是必需,但对幼虫阶段(快速生长期)果蝇肌肉生长发育非常关键。在大量肌肉生长的二期幼虫发育阶段,miR-1突变体幼虫出现肌肉组织萎缩,运动减少直至死亡^[17]。体外和体内研究证明,miR-1和miR-133对成肌细胞的分化和增殖起重要调控作用。组蛋白去乙酰化酶4(HDAC4)是促分化的转录因子MEF-2的阻遏因子,可以抑制肌细胞分化。研究表明,在骨骼肌细胞分化过程中,HDAC4是miR-1的靶基因^[18],而MEF2是miR-1的转录调控因子^[16]。这样miR-1通过抑制HDAC4表达促进MEF-2的功能而建立一个正反馈调控环,MEF2上调miR-1进一步抑制HDAC4,从而促进肌细胞分化。相反,miR-133的功能是通过靶向血清应答因子SRF促进骨骼肌细胞增殖^[16]。miR-206的功能与miR-1相似,促进C2C12成肌细胞分化。它通过靶向DNA聚合酶的 α 亚基(pol α 1)^[19]、连接蛋白43(connexin 43、Cx43)^[20]、follistatin-like1(Fstl1)和utrophin(Utn)^[21],从而抑制DNA合成使细胞退出细胞周期进入终末分化。

我们实验室克隆了一个新的在鸡骨骼肌和心肌组织特异表达的非编码RNA(GGN39)^[11]。基因组定

位分析表明,GGN39位于M-型磷酸果糖激酶(phosphofructokinase M, PFKM)基因的第二内含子中。PFKM第二内含子全长68个碱基,而GGN39全长67个碱基,与PFKM的第二内含子相比少了一个3'端的G。Northern杂交的方法检测GGN39与PFKM基因在鸡的不同组织中的表达情况,结果PFKM基因与GGN39有一致的组织表达模式,主要在骨骼肌和心肌组织中表达。PFKM基因与GGN39在不同发育阶段的骨骼肌组织中的表达趋势相同:在胚胎期表达较少,主要在出生后的骨骼肌中表达。通过PFKM第二内含子剪切位点突变实验研究表明,GGN39的产生依赖于PFKM初始转录产物的内含子剪切过程。PFKM是糖酵解途径的关键酶(限速酶),在骨骼肌代谢和发育过程中发挥重要作用。作为限速酶,PFKM受到多方面的调控,GGN39这个非编码RNA分子可能通过对PFKM表达或活性的调节参与骨骼肌发育与代谢的调控。进一步的生物信息分析发现,GGN39不属于已知类型的非编码RNA分子。本研究结果提示,除了目前研究较多的miRNAs外,仍有其他类型的非编码RNA呈现组织表达特异性并对特定组织器官发育起重要调节作用。

4 非肌肉特异表达的非编码RNA对骨骼肌发育的调控

除了前面提到的MyomiRs,许多各种组织广泛表达的miRNAs也参与骨骼肌的发育和功能调控。miR-27在分化的胚胎肌节和激活的成年卫星细胞中均有表达。在骨骼肌细胞中,miR-27特异性靶向pax3 mRNA,下调pax3的蛋白水平确保肌细胞正常进入肌肉分化程序^[22]。Hox-A11是一种成肌细胞终末分化的阻遏物,可以通过诱导MyoD的表达促进肌肉细胞的增殖。miR-181在小鼠肌源性细胞系C2C12分化过程中显著上调,提示miR-181可能参与骨骼肌细胞分化的调节。进一步分析发现,miR-181可以靶向Hox-A11来促进成肌细胞终末分化^[23]。YY1与Ezh2是肌肉特异基因表达的阻遏物,可以抑制miR-29表达。在骨骼肌细胞分化过程中YY1表达下调,miR-29表达抑制解除,然后miR-29进一步靶向转录因子YY1促进骨骼肌细胞的分化^[24]。横纹肌肉瘤(rhabdomyosarcoma, RMS)细胞肌源性分化缺陷,分析发现RMS细胞中miR-29表达沉默,过表达miR-29诱导RMS细胞分化,因此miR-29作

为促分化因子起到肿瘤抑制基因的作用^[24]。miR-26通过靶向Ezh2,使Ezh2表达下调来促进终末分化^[25]。miR-214通过Hedgehog信号转导通路影响慢肌纤维的产生^[26]。Sun等^[27]在TGF- β 抑制成肌分化的模型中发现miR-24表达受到抑制,研究发现这种抑制是通过Smad3实现的,进一步功能研究表明miR-24是促成肌分化分子。在几种类型的肌营养不良病例中,均发现一些特征性的miRNA表达谱改变^[28],这些miRNAs多数是在各种组织中广泛表达的。以上一系列研究说明,非肌肉组织特异表达的miRNAs在骨骼肌发育和肌肉相关性疾病发生中起重要作用。

最近,对miRNA在骨骼肌增殖分化中发挥功能的信号传导通路研究取得进展。Cardinali等^[29]通过比较增殖和分化的肌细胞中miRNA的表达谱,鉴定了一批参与肌源性分化的miRNAs,其中miR-221和miR-222在骨骼肌细胞分化过程中显著下调。使用温度敏感的细胞分化模型,发现miR-221和miR-222的表达受Ras-MAPK信号通路调节。通过生物信息学分析和实验验证发现在骨骼肌细胞分化过程中p27是miR-221和miR-222的一个靶基因^[29]。miR-486主要在心脏、肺、骨骼肌和膀胱组织中表达,在肌肉组织中的表达丰度较高。Small等^[30]发现miR-486的转录水平受血清应答因子SRF和SRF的共转录激活因子MRTF-A(myocardin-related transcription factor-A)以及MyoD的调控。进一步分析发现PTEN(phosphatase and tensin homolog)和Foxo1a是miR-486的靶基因。miR-486通过抑制PTEN和Foxo1a影响PI3K/Akt信号转导通路的活性而调节肌肉生长发育。

除了miRNAs,其他类型的非骨骼肌组织特异性表达的ncRNA在骨骼肌发育和疾病中的作用也有报道。横纹肌肉瘤(rhabdomyosarcoma,RMS)是一种恶性软组织瘤,包括两种亚型:腺泡型(alveolar RMS)和胚胎型(embryonal RMS),表现为骨骼肌细胞分化程度低。Chan等^[31]采用RDA(representational difference analysis)技术克隆了一个新基因NCRMS(non-coding RNA in RMS),NCRMS在腺泡型横纹肌肉瘤中的表达水平显著高于胚胎型横纹肌肉瘤。Northern杂交显示,NCRMS在腺泡型横纹肌肉瘤中的转录本为1.25 kb,没有读码框,属于长片段的非编码RNA。NCRMS作为非编码RNA可能参与骨骼肌细胞增殖分化的调控及不同亚型横纹肌肉瘤的病理发生。我们实验室在研究肌营养不良相关致病

基因时,发现一个长片段的非编码RNA可能参与肌营养不良的病理发生。选择同一进行性肌营养不良患者的正常肌肉组织和萎缩的肌肉组织为材料,采用差异显示(differential display PCR,DD-PCR)技术得到一系列差异表达的ESTs。序列分析发现,其中一个EST是一个长的非编码RNA MALAT-1(metastasis associated in lung adenocarcinoma transcript 1 long isoform,transcribed non-coding RNA)在肌营养不良患者的萎缩肌肉组织中表达上调^[32],提示MALAT-1作为非编码RNA可能对肌营养不良的病理发生起重要作用。另外,我们实验室以骨骼肌生长速度显著差异的蛋用型和肉用型鸡为实验材料,筛选鉴定骨骼肌发育中起调控作用的非编码RNA,发现一些各种组织中广泛表达的snoRNA(small nucleolar RNA)在蛋鸡和肉鸡的骨骼肌组织中的表达存在差异,提示这些snoRNA可能参与骨骼肌发育和代谢的调控^[11]。总之,尽管miRNAs是目前非编码RNA对骨骼肌发育调控研究的焦点,但是其他各种类型的ncRNA也在骨骼肌发育与疾病发生的调控网络中发挥重要作用。

5 非编码RNA在骨骼肌损伤再生以及肌肉肥大过程中的作用

MDX小鼠是肌营养不良蛋白*dystrophin*基因缺陷鼠,是研究肌营养不良发病机制和骨骼肌损伤再生机理的常用模型。Greco等^[33]采用实时定量RT-PCR方法比较了MDX小鼠与野生型小鼠骨骼肌组织中miRNA的表达变化,同时分析了与正常人相比在肌营养不良患者(DMD型)骨骼肌组织中表达改变的miRNAs,发现11个miRNAs在MDX小鼠和DMD患者中有类似的表达改变。由于肌纤维坏死和再生是DMD患者和MDX小鼠的常见病理改变,他们又制备了后肢缺血诱导小鼠的肌肉损伤再生模型,进一步检测骨骼肌损伤再生过程中表达改变的miRNAs,发现在MDX小鼠和DMD患者中有表达改变的miRNA可分为三类:(1)肌肉再生相关的miRNAs(regenerative miRNAs),包括miR-31、miR-34c、miR-206、miR-335、miR-449和miR-494,这些miRNAs在MDX小鼠和DMD患者中表达上调,而且在缺血损伤引起的再生纤维及新生鼠骨骼肌组织中表达水平较高;(2)肌肉退变相关的miRNAs(degenerative miRNAs),包括miR-1、miR-29c和miR-135a,这些miRNAs在MDX小鼠、DMD患者

和肌肉损伤再生的退变期表达下调, 这些 miRNAs 的下调伴随着肌纤维的损失和纤维化; (3) 炎症反应相关 miRNAs, 包括 miR-222 和 miR-223, 在损伤的肌组织部位表达上调, 而且与炎细胞浸润呈正相关^[33]。为了探讨已知的 MyomiRs 在 *dystrophin* 基因缺陷引起的肌营养不良病理发生过程中的作用, Yuasa 等^[34] 分析了 MDX 小鼠胫骨前肌中 miRNA 的表达情况, 发现与野生型小鼠相比 miR-206 在 MDX 小鼠的胫骨前肌表达明显上调, 而 miR-1 和 miR-133 表达没有变化。原位杂交结果显示, miR-206 主要在新形成的肌管或再生纤维中表达。这些结果表明, miRNAs 在骨骼肌损伤再生的病理过程中发挥重要作用。

持续锻炼后, 会导致骨骼肌重塑, 骨骼肌组织中调节肌肉肥大、线粒体生成、糖脂代谢的转录调控网络激活。近几年的研究表明, miRNAs 参与锻炼后骨骼肌重塑的调控过程。Aoi 等^[35] 探讨了 miRNA 对体育锻炼引起的骨骼肌肥大以及废用性肌肉萎缩的影响。C57BL/6 鼠锻炼 4 周 (running exercise) 诱导肌肉肥大, 后肢固定诱导废用性萎缩模型。采用 miRNA 基因芯片的方法分析了腓肠肌组织 miRNA 表达谱, 发现 miR-696 的表达水平在两种模型中有显著性改变。PGC-1 α 在肌肉锻炼后显著上调, 在废用性萎缩肌肉组织中表达下调, 与 miR-696 的表达趋势相反。进一步研究发现 PGC-1 α 是 miR-696 的靶基因。因此, miR-696 通过对 PGC-1 α 的靶向调控影响锻炼后的骨骼肌代谢和肥大^[35]。Safdar 等^[36] 研究了持续锻炼引起的 miRNA 的表达变化以及与锻炼应答的转录调控网络的关系。C57Bl/6J 鼠被固着或强迫锻炼 (sedentary or forced-endurance exercise by treadmill run) 以后, 股四头肌中 miR-181、miR-1 和 miR-107 的表达水平显著升高, 分别增加了 37%、40% 和 56%; miR-23 的表达降低了 84%; miR-133 表达没有变化。miR-23 的靶基因 PGC-1 α 和 PGC-1 α 的下游基因 ALAS、CS、cytochrome c 的表达水平显著上调。这些研究结果表明 miRNA 介导的转录后调控参与到持续锻炼后骨骼肌重塑的调控网络中。

鉴于 miR-1、miR-133 和 miR-206 对肌肉发育起重要调控作用, Nakasa 等^[37] 探讨了在大鼠骨骼肌损伤再生模型中, 局部注射肌肉特异表达的 miRNA 对肌肉组织再生过程的影响。大鼠胫骨前肌损伤后, 注射 miR-1、miR-133 和 miR-206 的混合物。与对照组相比, 损伤一周后, 注射 miR 组在形态学和生

理指标上能够观察到肌肉再生较强, 并有效地抑制纤维化。局部注射 myomiR 可能为骨骼肌损伤的治疗提供新的思路。

6 展望

非编码 RNA 的功能研究揭示了骨骼肌发育调控的复杂性。目前, miRNA 对骨骼肌发育的调控是骨骼肌发育生物学研究的焦点。miRNA 通过对靶基因的调节参与到骨骼肌发育调控网络中。在骨骼肌细胞增殖分化过程中, 一个 miRNA 可以调控多个靶基因, 同一个基因又可以受多个 miRNAs 的调控。因此, miRNA 靶基因的鉴定和功能研究是阐明 miRNA 对骨骼肌发育调控的关键。同时, 在骨骼肌发育中 miRNA 基因自身的表达调控机制研究也是解析由非编码 RNA 和蛋白质分子构成的复杂调控网络的核心问题之一。另一方面, 其他类型的非编码 RNA 在骨骼肌发育中的调控也是将来的研究重点, 尽管富有很大的挑战。

[参 考 文 献]

- [1] Latos PA, Barlow DP. Regulation of imprinted expression by macro non-coding RNAs. *RNA Biol*, 2009, 6(2): 100-6
- [2] Storz G, Altuvia S, Wassarman KM. An abundance of RNA regulators. *Annu Rev Biochem*, 2005, 74: 199-217
- [3] Kiss T. Small nucleolar RNA-guided post-transcriptional modification of cellular RNAs. *EMBO J*, 2001, 20(14): 3617-22
- [4] Makeyev EV, Maniatis T. Multilevel regulation of gene expression by microRNAs. *Science*, 2008, 319(5871): 1789-90
- [5] Ravasi T, Suzuki H, Pang KC, et al. Experimental validation of the regulated expression of large numbers of non-coding RNAs from the mouse genome. *Genome Res*, 2006, 16(1): 11-9
- [6] Carninci P, Kasukawa T, Katayama S, et al. The transcriptional landscape of the mammalian genome. *Science*, 2005, 309(5740): 1559-63
- [7] Birney E, Stamatoyannopoulos JA, Dutta A, et al. Identification and analysis of functional elements in 1% of the human genome by the ENCODE pilot project. *Nature*, 2007, 447(7146): 799-816
- [8] Rathjen T, Pais H, Sweetman D, et al. High throughput sequencing of microRNAs in chicken somites. *FEBS Lett*, 2009, 583(9): 1422-6
- [9] Nielsen M, Hansen JH, Hedegaard J, et al. MicroRNA identity and abundance in porcine skeletal muscles determined by deep sequencing. *Anim Genet*, 2010, 41(2): 159-68
- [10] Huang TH, Zhu MJ, Li XY, et al. Discovery of porcine microRNAs and profiling from skeletal muscle tissues during development. *PLoS One*, 2008, 3(9): e3225
- [11] Zhang Y, Wang J, Huang S, et al. Systematic identification and characterization of chicken (*Gallus gallus*) ncRNAs.

- Nucleic Acids Res, 2009, 37(19): 6562-74
- [12] Zhang Y, Liu J, Jia C, et al. Systematic identification and evolutionary features of rhesus monkey small nucleolar RNAs. *BMC Genomics*, 2010, 11: 61
- [13] O'Rourke JR, Georges SA, Seay HR, et al. Essential role for Dicer during skeletal muscle development. *Dev Biol*, 2007, 311(2): 359-68
- [14] Williams AH, Liu N, van Rooij E, et al. MicroRNA control of muscle development and disease. *Curr Opin Cell Biol*, 2009, 21(3): 461-9
- [15] Rao PK, Kumar RM, Farkhondeh M, et al. Myogenic factors that regulate expression of muscle-specific microRNAs. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(23): 8721-6
- [16] Zhao Y, Samal E, Srivastava D. Serum response factor regulates a muscle-specific microRNA that targets Hand2 during cardiogenesis. *Nature*, 2005, 436(7048): 214-20
- [17] Sokol NS, Ambros V. Mesodermally expressed *Drosophila* microRNA-1 is regulated by Twist and is required in muscles during larval growth. *Genes Dev*, 2005, 19(19): 2343-24
- [18] Chen JF, Mandel EM, Thomson JM, et al. The role of microRNA-1 and microRNA-133 in skeletal muscle proliferation and differentiation. *Nat Genet*, 2006, 38(2): 228-33
- [19] Kim HK, Lee YS, Sivaprasad U, et al. Muscle-specific microRNA miR-206 promotes muscle differentiation. *J Cell Biol*, 2006, 174(5): 677-87
- [20] Anderson C, Catoe H, Werner R. MIR-206 regulates connexin43 expression during skeletal muscle development. *Nucleic Acids Res*, 2006, 34(20): 5863-71
- [21] Rosenberg MI, Georges SA, Asawachaicharn A, et al. MyoD inhibits Fstll and Utrn expression by inducing transcription of miR-206. *J Cell Biol*, 2006, 175(1): 77-85
- [22] Crist CG, Montarras D, Pallafacchina G, et al. Muscle stem cell behavior is modified by microRNA-27 regulation of Pax3 expression. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(32): 13383-7
- [23] Naguibneva I, Ameyar-Zazoua M, Polesskaya A, et al. The microRNA miR-181 targets the homeobox protein Hox-A11 during mammalian myoblast differentiation. *Nat Cell Biol*, 2006, 8(3): 278-84
- [24] Wang H, Garzon R, Sun H, et al. NF- κ B-YY1-miR-29 regulatory circuitry in skeletal myogenesis and rhabdomyosarcoma. *Cancer Cell*, 2008, 14(5): 369-81
- [25] Wong CF, Tellam RL. MicroRNA-26a targets the histone methyltransferase enhancer of Zeste homolog 2 during myogenesis. *J Biol Chem*, 2008, 283(15): 9836-43
- [26] Flynt AS, Li N, Thatcher EJ, et al. Zebrafish miR-214 modulates Hedgehog signaling to specify muscle cell fate. *Nat Genet*, 2007, 39(2): 259-63
- [27] Sun Q, Zhang Y, Yang G, et al. Transforming growth factor- β -regulated miR-24 promotes skeletal muscle differentiation. *Nucleic Acids Res*, 2008, 36(8): 2690-9
- [28] Eisenberg I, Eran A, Nishino I, et al. Distinctive patterns of microRNA expression in primary muscular disorders. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(43): 17016-21
- [29] Cardinali B, Castellani L, Fasanaro P, et al. MicroRNA-221 and microRNA-222 modulate differentiation and maturation of skeletal muscle cells. *PLoS One*, 2009, 4(10): e7607
- [30] Small EM, O'Rourke JR, Moresi V, et al. Regulation of PI3-kinase/Akt signaling by muscle-enriched microRNA-486. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(9): 4218-23
- [31] Chan AS, Thorner PS, Squire JA, et al. Identification of a novel gene *NCRM5* on chromosome 12q21 with differential expression between rhabdomyosarcoma subtypes. *Oncogene*, 2002, 21(19): 3029-37
- [32] Zhang Y, Ye J, Chen D, et al. Differential expression profiling between the relative normal and dystrophic muscle tissues from the same LGMD patient. *J Transl Med*, 2006, 4: 53
- [33] Greco S, De Simone M, Colussi C, et al. Common microRNA signature in skeletal muscle damage and regeneration induced by Duchenne muscular dystrophy and acute ischemia. *FASEB J*, 2009, 23(10): 3335-46
- [34] Yuasa K, Hagiwara Y, Ando M, et al. MicroRNA-206 is highly expressed in newly formed muscle fibers: implications regarding potential for muscle regeneration and maturation in muscular dystrophy. *Cell Struct Funct*, 2008, 33(2): 163-9
- [35] Aoi W, Naito Y, Mizushima K, et al. The microRNA miR-696 regulates PGC-1 α in mouse skeletal muscle in response to physical activity. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2010, 298(4): E799-806
- [36] Safdar A, Abadi A, Akhtar M, et al. miRNA in the regulation of skeletal muscle adaptation to acute endurance exercise in C57Bl/6J male mice. *PLoS One*, 2009, 4(5): e5610
- [37] Nakasa T, Ishikawa M, Shi M, et al. Acceleration of muscle regeneration by local injection of muscle-specific microRNAs in rat skeletal muscle injury model. *J Cell Mol Med*, 2009. [Epub ahead of print]