

DOI: 10.13376/j.cbls/2020004

文章编号: 1004-0374(2020)01-0029-09

# MyoD相关非编码RNA调控骨骼肌生长发育的研究进展

吴怡琦<sup>1#</sup>, 晋大鹏<sup>2#</sup>, 秦本源<sup>1</sup>, 李文霞<sup>1</sup>, 张雪莲<sup>1</sup>, 史文倩<sup>1</sup>,  
蔡春波<sup>1</sup>, 高鹏飞<sup>1</sup>, 郭晓红<sup>1</sup>, 李步高<sup>1</sup>, 曹果清<sup>1\*</sup>

(1 山西农业大学动物科技学院, 太谷 030801; 2 中国农业科学院北京畜牧兽医研究所, 北京 100193)

**摘要:** 骨骼肌的生长发育是一个受多种功能性因子调控的精密网络过程, 其中 MyoD 是一种骨骼肌特异性转录因子, 能够识别并启动骨骼肌特异基因的转录。非编码 RNA 是一类具有多种生物功能但不能编码蛋白质的 RNA。现就目前与 MyoD 协同作用, 共同参与肌细胞增殖、分化、融合等过程的非编码 RNA 及其作用机制进行综述, 以期为阐明与 MyoD 相关非编码 RNA 的作用机制提供理论参考。

**关键词:** MyoD; 非编码 RNA; 骨骼肌; 作用机制

**中图分类号:** Q445; Q522      **文献标志码:** A

## Research progress on the effects of MyoD-related non-coding RNAs on muscle growth and development

WU Yi-Qi<sup>1#</sup>, JIN Da-Peng<sup>2#</sup>, QIN Ben-Yuan<sup>1</sup>, LI Wen-Xia<sup>1</sup>, ZHANG Xue-Lian<sup>1</sup>, SHI Wen-Qian<sup>1</sup>,  
CAI Chun-Bo<sup>1</sup>, GAO Peng-Fei<sup>1</sup>, GUO Xiao-Hong<sup>1</sup>, LI Bu-Gao<sup>1</sup>, CAO Guo-Qing<sup>1\*</sup>

(1 College of Animal Science and Veterinary Medicine, Shanxi Agricultural University, Taigu 030801, China;  
2 Institute of Animal Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China)

**Abstract:** The growth and development of skeletal muscle is a precise network process regulated by multiple functional factors. The MyoD is a skeletal muscle-specific transcription factor that recognizes and initiates the transcription of skeletal muscle-specific genes. Non-coding RNA is a type of RNA that has multiple biological functions but cannot encode proteins. In this paper, we summarized the functions and mechanisms of non-coding RNAs involved in the proliferation, differentiation and fusion of myocytes, aiming to provide theoretical references for the mechanisms of MyoD-related non-coding RNAs.

**Key words:** MyoD; non-coding RNA; skeletal muscle; mechanism

骨骼肌是哺乳动物机体的重要组成部分, 在产生运动、维持姿势和产热等方面发挥着至关重要的作用。骨骼肌损伤会引起肌无力、肌肉萎缩而影响哺乳动物的正常生长发育。骨骼肌的生长发育是一个由多种因子参与调控的复杂网络过程, 在此过程中, 生肌决定因子 (myogenic determining factor, MyoD) 作为一种骨骼肌特异性的转录因子有非常重要的调控作用。近年来, 不断有研究证明非编码 RNA (noncoding RNA, ncRNA) 可以介导 MyoD 参与调控骨骼肌的增殖分化与融合等过程。本文就 ncRNA 介导 MyoD 调控骨骼肌生长发育的研究进展进行综述。

## 1 MyoD在骨骼肌生长发育中的作用

### 1.1 MyoD的结构

肌源性调节因子家族 (myogenic regulatory factors, MRFs) 有 MyoD、MyoG、Myf5、MRF4 四个成员,

收稿日期: 2019-06-19; 修回日期: 2019-07-29

基金项目: 三晋学者支持计划专项经费资助项目(2016, 2017); 山西省1331工程资助(2019); 国家自然科学基金项目(31872336); 山西省农业重点研发项目(201803D221022-1)

\*通信作者: E-mail: anniecao710502@aliyun.com

#共同第一作者

其中 MyoD 是第一个被鉴定的肌源性调节因子。Davis 等<sup>[1]</sup>于 1987 年首次分离出小鼠的 *MyoD* 基因并证明了该基因对肌细胞命运起决定性作用,这也是首次报道单个转录因子可以驱动分化并重新编程细胞命运。MyoD 与其他 MRFs 分子一样,含有一个由 70 个氨基酸残基组成的碱性螺旋-环-螺旋(basic helix-loop-helix, bHLH)结构,通过该结构与 E 蛋白结合形成二聚体,结合到肌源性基因启动子的 E-box 区,发挥转录激活作用<sup>[2]</sup>;然而每个 MRF 分子的反式激活结构域不同,使它们具有自己独特的性质<sup>[3-4]</sup>。

## 1.2 MyoD 的功能

在出生前肌肉分化发育过程中,MyoD 通常被视为调节分化程序的“主开关”<sup>[5]</sup>。MyoD 和 Myf5 由肌源性祖细胞高表达的 Pax3 和 Pax7 激活,使肌源性祖细胞增殖分化为单核成肌细胞;之后,MyoD 诱导肌细胞生成素表达,导致 Myf5 表达下调<sup>[6]</sup>,从 Myf5 到肌细胞生成素的这种表达转换暗示着细胞周期退出和分化的全面启动,成肌细胞进一步分化融合成肌管<sup>[7]</sup>。MyoD 和肌细胞生成素的组合导致 MRF4 基因的表达,以维持肌管融合后肌纤维的稳态<sup>[8]</sup>。

与出生前骨骼肌发育相似,MyoD 在出生后的肌肉发生过程中也发挥着关键作用<sup>[9]</sup>。个体出生后,肌肉的生长、修复和再生取决于骨骼肌卫星细胞<sup>[10]</sup>。在肌肉受损后,卫星细胞被激活并表达 Myf5 以刺激成肌细胞增殖,然后通过表达 MyoD 来调节肌肉再生期间的成肌细胞分化。随后,MyoD 阳性细胞从细胞周期中退出并激活 MyoG 表达以启动分化并融合到肌管中。此外,MyoD 能够将其他多种类型细胞(如成纤维细胞、色素细胞、神经细胞、脂肪细胞和肝脏细胞)转化为骨骼肌细胞<sup>[11]</sup>。

研究发现,MyoD 和 Myf5 双敲除小鼠由于完全缺乏骨骼肌成肌细胞或肌肉纤维而导致出生后死亡<sup>[12]</sup>;单个基因敲除小鼠的发育研究表明,缺乏 MyoD 的小鼠轴下肌节的肌生成延迟<sup>[13]</sup>,表明 MyoD 能够确定肌肉组中的特定肌肉群;纯合 MyoD 突变小鼠能够形成正常肋骨,但肌纤维含量相当少,肌肉功能受损,导致出生后很快死亡。相反,当纯合 Myf5 突变小鼠中含有一个功能性 MyoD 等位基因时,骨骼肌正常发育,表明了 MyoD 作为生肌决定因子的重要作用<sup>[14]</sup>。

## 2 NcRNA 概述

NcRNA 是一类具有多种生物功能但不能编码

蛋白质的 RNA,哺乳动物真核基因组中只有 2% 能够编码蛋白质,其余被转录为 20~100 nt 的 ncRNA<sup>[15]</sup>。ncRNA 包括长链非编码 RNA (lncRNA)、微小 RNA (miRNA) 和环状 RNA (circRNA) 等。

### 2.1 LncRNA 简介

#### 2.1.1 LncRNA 的特性

LncRNA 是指一类主要由 Pol II 转录,且长度大于 200 nt,不具有或有很弱编码能力的 RNA,占非编码 RNA 的 80% 之多<sup>[16]</sup>。大部分 lncRNA 表现出与 mRNA 相似的结构特点,其序列中含有启动子、外显子和内含子,5' 端和 3' 端经过加工修饰后有 5' 帽子和 3' polyA 尾巴<sup>[17]</sup>。根据 lncRNA 相对于能够编码蛋白质基因的位置可以将其分为反义型 lncRNA、基因间型 lncRNA、双向型 lncRNA、内含子型 lncRNA 和增强子型 lncRNA 五类<sup>[18]</sup>。LncRNA 作为基因表达和基因功能的调节剂,可通过调控染色体剂量补偿、染色质修饰、细胞周期、基因印迹、选择性剪接、细胞分化和干细胞重编程等过程而参与各种生物途径和细胞过程<sup>[19]</sup>。

#### 2.1.2 LncRNA 的作用机制

近年来研究不断发现 lncRNA 在骨骼肌的生长发育中发挥着重要作用,并且通过表观遗传修饰、转录和转录后水平的调控来发挥作用。在表观遗传修饰水平,lncRNA 能够在特定的基因位点引发染色质结构的改变,从而实现对目标基因的调控作用。如 Dum 通过染色质内循环将 Dnmts 募集到 *Dppa2* 启动子 CpG 位点使其发生甲基化,导致 *Dppa2* 表达沉默,从而促进肌源性分化<sup>[20]</sup>。在转录水平,lncRNA 可作为转录因子直接或间接地与靶基因相互作用,进而调控靶基因表达。如 Myolinc 可以通过将 TDP-43 募集到 *Filip1* 或者肌肉标记基因(如 MyoD)的启动子中以顺式方式调节其转录,从而促进成肌细胞分化为肌细胞并融合成肌管<sup>[21]</sup>;linc-YY1 通过与 YY1 相互作用,从靶启动子中驱除 YY1/Polycomb 抑制复合物 (PRC2),从而激活反式基因表达<sup>[22]</sup>。在转录后水平,lncRNA 可以通过与 miRNA 相互作用调节 mRNA 的翻译和降解速率,从而实现 miRNA 对其 mRNA 靶标的调节。Sirt1 AS lncRNA 与 Sirt1 mRNA 相互作用形成 RNA 双链体,通过与 miR-34a 竞争促进 Sirt1 翻译抑制骨骼肌形成<sup>[23-24]</sup>;新鉴定的 lncRNA MAR1 能够充当 miR-487b 海绵来调节 Wnt5a 蛋白,从而促进骨骼肌分化和再生<sup>[25]</sup>。

## 2.2 MiRNA简介

### 2.2.1 MiRNA的特性

MiRNA 是一类由 Pol II 转录长度在 19~25 nt 范围的短链非编码 RNA, 它可以通过与靶 mRNA 3'UTR 区碱基配对而作为指导分子, 导致翻译抑制或 mRNA 切割<sup>[26]</sup>。有研究表明, miRNA 可以在多种调节途径中发挥关键作用, 包括发育时间控制、造血细胞分化、细胞凋亡、细胞增殖和器官发育等<sup>[27]</sup>。miRNA 的成熟过程非常复杂, 其首先在细胞核中由 Pol II 转录为长的初级转录物 (primiRNA), 然后通过核 RNase III Droscha 被剪切成发夹形的约 70 nt 的 premiRNA<sup>[28]</sup>, 中间体 pre-miRNA 通过输出蛋白 -5 (Exp5) 输出细胞核<sup>[29]</sup>, 随后 pre-miRNA 通过细胞质 RNase III Dicer 被切割成约 22 nt 的 miRNA 双链体<sup>[30]</sup>。这种短寿命双链体的一条链被未知的核酸酶降解, 而另一条链是成熟的 miRNA<sup>[31]</sup>。

### 2.2.2 MiRNA的作用机制

MiRNA 的 5' 末端有 2~8 nt 的种子序列, 该序列可靶定 mRNA 的关键区域, 它能够通过碱基互补配对原则与 mRNA 的 3'UTR 区结合发挥作用<sup>[32]</sup>。miRNA 主要通过以下两种方式与靶基因相互作用。(1) miRNA 的种子序列与靶基因的 mRNA 3'UTR 区完全匹配, 引起靶基因在转录水平上的降解。如 Sonic hedgehog (Shh) 是调节前肢和后肢中前后极性的关键信号, 前肢和后肢中的 Shh 表达需要视黄酸 (RA) 信号转导, 转录因子 Hoxb8 介导前肢中 RA 对 Shh 的诱导, 后肢中存在某种特异性抑制活性使 Hoxb8 不能发挥作用。研究表明, 这种抑制活性是由于 miR-196 在鸡后肢中的内源性高表达导致 Hoxb8 在转录水平上的降解, 使 RA 无法在后肢上诱导 Hoxb8, 导致后肢内源性 Shh 的表达显著下调<sup>[33]</sup>。(2) miRNA 的种子序列与靶基因的 mRNA 3'UTR 区不完全匹配, 导致不能在转录水平上引起靶基因的降解, 只能在翻译水平上抑制靶基因 mRNA 的翻译。如 miR-148 是一种能够介导肌源性分化的 miRNA, 它能够直接靶向蛋白激酶 1 (ROCK1, 一种肌生成抑制剂) 基因的 3'UTR 区, 使 ROCK1 在 C2C12 成肌细胞和原代肌细胞中的蛋白表达降低, 从而促进肌源性分化<sup>[34]</sup>。miR-27 能够抑制肌肉生长抑制素 (Mstn) 的翻译, Mstn 又通过 Smad3 信号转导调节 miR-27, 进而调节其自身的表达, 以此形成一个环路在促进卫星细胞活化、成肌细胞增殖和预防肌肉萎缩方面发挥作用<sup>[35]</sup>。

## 2.3 CircRNA简介

### 2.3.1 CircRNA的特性

CircRNA 是一类新型的两端封闭成环状的内源性非编码 RNA, 其广泛存在于各种生物的不同细胞和组织中。与上游 5' 剪接位点 (供体) 连接下游 3' 剪接位点 (受体) 的规范剪接不同, circRNA 是由下游 5' 剪接位点 (供体) 连接上游 3' 剪接位点 (受体), 在“反向剪接”过程中形成闭合的 circRNA, 使其能够在生物体中稳定存在<sup>[36]</sup>。大多数 circRNA 由一个或多个外显子构成, 有的甚至可以包含未剪接的内含子序列。根据其组成可以将 circRNA 分为三类: (1) 外显子 circRNA, 由编码基因的外显子剪接而来, 包含一个或多个外显子序列, 主要存在于细胞质中; (2) 内含子 circRNA, 仅包含内含子序列, 其主要定位于细胞核中; (3) 外显子-内含子 circRNA, 由编码基因的外显子和内含子共同组成<sup>[37]</sup>。

### 2.3.2 CircRNA的作用机制

CircRNA 可以通过不同的作用方式在细胞的生命活动中发挥重要作用。(1) circRNA 竞争性结合 miRNA, 使其不能与靶 mRNA 结合, 从而抑制 miRNA 发挥作用。如 circLMO7 能够通过 HDAC4 竞争性结合 miR-378a-3p, 降低 miR-378a-3p 对其靶基因 HDAC4 表达的抑制作用, 进而对肌细胞的增殖分化进行调控<sup>[38]</sup>; 鸡 circSVIL 可以作为 miR-203 海绵拮抗其功能, 使 c-JUN 和 MEF2C 表达上调, 促进成肌细胞增殖和分化<sup>[39]</sup>; circLMO7 作为 miR-378a-3p 的竞争性内源 RNA 促进牛成肌细胞增殖, 同时抑制其分化和凋亡<sup>[40]</sup>。此外, 研究发现, 有的 circRNA 上存在同一 miRNA 的多个结合位点, 可作为“分子海绵”吸附 miRNA。如 CDR1as circRNA 上含有 74 个 miR-7 潜在结合位点, 可以在脑组织中结合 miR-7, miR-7 的减少导致中脑持续和明显减少, 甚至几乎完全失去中脑<sup>[41]</sup>。有的 circRNA 对于同一 miRNA 仅有少数靶位点。如 circHIPK3 是由 HIPK3 基因产生的一种 circRNA, 具有能与 9 个不同 miRNA 结合的 18 个位点, 同一个 miRNA 仅有 1~2 个结合位点。其中 circHIPK3 能直接结合 miR-124 并抑制其活性, 使其靶向的两个靶基因 (IL6R 和 DLX2) 的表达水平升高, 从而促进细胞增殖<sup>[42]</sup>。(2) circRNA 可以与蛋白质结合形成 circRNA-蛋白质复合物, 影响蛋白质功能的发挥。如 circ-Foxo3 是由 Foxo3 基因编码的一种 circRNA, 它可以通过与细胞周期蛋白依赖性激酶 2 (CDK2) 和细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂 (p21) 结合形成 circ-

Foxo3-p21-CDK2 三元复合物而抑制细胞周期进程<sup>[43]</sup>。circMbl 是肌肉盲基因 (MBL/MBNL1) 的第二个外显子被环化形成的 circRNA, MBL 蛋白能够通过与其结合提高 circMbl 的生物合成, 使其在与线性剪接竞争中占据优势地位从而降低肌肉盲的表达<sup>[44]</sup>。

### 3 与MyoD相关ncRNA在骨骼肌发育中的作用

目前的研究证实了 MyoD 与 ncRNA 均在骨骼肌生长发育过程中发挥着重要作用, 下面将对与 MyoD 相关并且在骨骼肌发育中发挥作用的 ncRNA 进行阐述。

#### 3.1 与MyoD相关lncRNA在骨骼肌发育中的作用

研究发现, lncRNA 主要通过表观遗传修饰、转录和转录后水平的调控来发挥作用。根据 lncRNA 作用机制的不同, 将 MyoD 相关 lncRNA 分为三类进行介绍。

##### 3.1.1 通过表观遗传修饰调控骨骼肌生长发育的MyoD相关lncRNA

Kcnq1ot1 Kcnq1ot1 是一种长链非编码 RNA, 通过顺式作用在染色质水平上调节邻近印迹基因的表达。细胞周期抑制剂 p57<sup>kip2</sup> 是哺乳动物发育过程中细胞增殖和分化的关键调节因子, 其母本等位基因的表达在发育和分化过程中受到严格和精细的调控。研究表明, Kcnq1ot1 能够作为支架指导母体未分化肌肉细胞中 EZH2 介导的 H3K27me3 与 p57i 的结合, 使 H3K27me3 在 p57i 上积累导致 p57 表达量降低, 从而抑制肌源性分化; 然而, 在分化细胞中, MyoD 通过与母体 Kcnq1ot1 相互作用, 干扰 EZH2 与 Kcnq1ot1 的结合, 促进染色质结构发生改变, 使 p57 表达上调促进肌源性分化<sup>[45]</sup>。

SRA 类固醇受体 RNA 激活剂 (SRA) 由编码蛋白质的 mRNA 和潜在的几种 lncRNA 组成, 其中 lncRNA 通过与 RNA 解旋酶 p68/p72 相互作用促进转录起始复合物形成和染色质重塑所需的蛋白质组装, 共激活许多核受体以及 MyoD 的活性, 在调节骨骼肌增殖或分化中发挥着重要作用<sup>[46]</sup>; 编码 mRNA 可以通过内含子的可变剪切编码 SARP 蛋白, 该蛋白中的 RRM 样 RNA 结合结构域可以与 SRA RNA STR7 的功能性亚结构相互作用来阻止 SRA RNA 依赖性共激活, 也就是说 SRAP 可以通过影响编码和非编码 SRA 分子之间的平衡对 MyoD 的活性和肌源性分化产生影响<sup>[47]</sup>。

Malat1 转移相关的肺腺癌转录物 1 (Malat1) 是

一种在许多组织中高度表达的 lncRNA, 在组织分化期间发挥调节作用。研究发现, Malat1 能够通过 miR-181a-Malat1-MyoD/Suv39h1 调节轴在肌生成过程中发挥作用。在增殖的成肌细胞中, Malat1 将 Suv39h1 募集到 MyoD 结合基因座, 引起 H3 的赖氨酸 9 (H3K9me3) 的三甲基化, 抑制靶基因表达。分化后, 促肌源性 miR-181a 增加, 并靶向核 Malat1 转录物, 通过 Ago2 依赖性核 RNA 诱导的沉默复合物机制将其降解; 随后, Malat1 的减少导致 Suv39h1/HP1 $\beta$ /HDAC1 抑制复合物的去稳定化和含有 Set7 的活化复合物的置换, 其允许发生 MyoD 反式激活去促进肌源性分化<sup>[48]</sup>。

Linc-RAM Linc-RAM 是一种骨骼肌限制性表达的新型 lncRNA。通过 MyoD-ChIP Data 分析发现, linc-RAM 受 MyoD 转录调节, 并且通过与 MyoD 相互作用促进 MyoD-Baf60c-Brg1 复合物形成, 在肌源性分化所需基因的转录调节中充当 MyoD 的调节性 lncRNA 增强子, 促进肌源性分化。另外, 通过构建 linc-RAM KO 小鼠与 WT 小鼠对比发现, linc-RAM KO 小鼠卫星细胞的肌源性分化程度明显小于 WT 小鼠, 说明 linc-RAM 在受损肌肉的修复过程中也发挥着一定的作用<sup>[49]</sup>。

eRNA eRNA 包括<sup>ce</sup>eRNA 和<sup>DRR</sup>eRNA, 分别由 MyoD 的核心增强子区和远端调节区转录而来。<sup>ce</sup>eRNA 能够将染色质重塑复合物招募至 MyoD 启动子区域, 从而使 Pol II 占据 MyoD 启动子区, 促进其转录<sup>[50]</sup>。<sup>DRR</sup>eRNA 又称 MUNC, 研究发现, MUNC 既可以作为诱导相邻 MyoD 转录的经典 eRNA, 也能够完全缺乏 MyoD 蛋白的情况下正调节许多肌源性基因的表达<sup>[51]</sup>。

##### 3.1.2 在转录水平调控骨骼肌生长发育的MyoD相关lncRNA

Irm Irm 是一种参与肌源性分化的新型调节因子, MEF2D 能够在许多不同细胞类型中充当信号依赖性转录的关键介质, 以控制分化等发育过程。研究表明, Irm 的过表达能够显著促进 C2C12 细胞的肌源性分化, 并延迟体内 CTX 诱导的肌肉再生。进一步研究发现, Irm 通过与 MEF2D 直接结合调节 MyoD/MEF2D 转录活性, 从而促进 MyoD/MEF2D 结合至肌细胞生成素和 miR-206 的启动子上, 并反式激活其转录, 促进肌源性分化<sup>[52]</sup>。

AK143003 AK143003 是一种受 MyoD 显著调节, 在肌肉分化过程中发挥重要作用的 lncRNA。研究发现, MyoD 通过抑制 AK143003 来促进肌肉

标记基因 MyoG 和 MyHC 的表达, 从而促进肌源性分化。但 AK143003 抑制 MyoG 和 MyHC 表达的具体调控机制尚不清楚, 需要进一步的研究<sup>[53]</sup>。

### 3.1.3 介导转录后水平调控骨骼肌生长发育的 MyoD 相关 lncRNA

LncMuMA LncMuMA 是一种与机械卸载诱导的肌肉萎缩相关的 lncRNA, 研究表明 lncMUMA 通过与 MyoD 竞争性结合 miR-762, 降低 miR-762 对 MyoD 的抑制作用, 促进成肌分化。进一步研究发现, 过表达 lncMUMA 可预防和逆转机械卸载后 MyoD 表达、肌肉质量、横截面积和功能的减少, 因此 lncMUMA 可能是治疗机械卸载后肌肉萎缩的新突破点<sup>[54]</sup>。

LncMyoD LncMyoD 是一种位于 *MyoD* 基因上游大小约 30 kb 的 lncRNA。研究发现, lncMyoD 能够阻断骨骼肌细胞增殖并产生分化, 并通过 MyoD-lncMyoD-IMP2 途径发挥作用。首先, lncMyoD 在成肌细胞分化期间由 MyoD 激活; 然后, 直接结合 IGF2-mRNA 结合蛋白 2 (IMP2), 并负调节 IMP2 介导的增殖基因翻译从而诱导成肌细胞增殖周期退出和分化开始<sup>[55]</sup>。

MyoD 相关 lncRNAs 总结于表 1。

## 3.2 与 MyoD 相关 miRNA 在骨骼肌发育中的作用

研究发现, miRNA 的 5' 末端有 2~8 nt 的种子序列, 该序列能够通过碱基互补配对原则与 mRNA 的 3'UTR 区结合发挥作用。将目前发现的与 MyoD 相关 miRNA 总结如下。

MiR-223 MiR-223 是一种在禽骨骼肌发育中起重要作用的 miRNA。胰岛素样生长因子 2 (IGF2) 和锌指 E-box 结合同源框 1 (ZEB1) 是 miR-223 的两个靶基因, 其中 IGF2 是胰岛素样生长因子家族的成员, 它是一种多功能细胞调节因子, 在骨骼肌细

胞增殖和分化中起重要作用; ZEB1 是一种重要的核转录因子, 它可以直接结合不同基因启动子区的 E-box 序列, 抑制基因的转录活性。研究发现, 禽成肌细胞的增殖和分化受 MyoD-miR-223-IGF2/ZEB1 途径的调节。在增殖的禽成肌细胞中, 较低含量的 miR-223 使其对 IGF2 的抑制作用减少, 促进成肌细胞增殖; 在分化的禽成肌细胞中, MyoD 的上调促进 miR-223 表达, miR-223 通过抑制 ZEB1 促进成肌细胞分化和融合<sup>[56]</sup>。

MiR-29a MiR-29a 是 miR-29 的一种旁系同源物, Tet1 蛋白是 DNA 去甲基化途径的组分, miR-29a 通过靶向 Tet1 使其表达显著下调。研究发现, miR-29a-Tet1 途径是 C2C12 细胞中肌源性调节网络的一部分, miR-29a 的上调及 Tet1 的抑制能够使细胞周期调节因子 Cdk6 的表达下调及 MyoD 表达上调, 从而抑制肌细胞增殖促进成肌分化<sup>[57]</sup>。

MiR-378 MiR-378 是一种能够在成肌分化中起作用的 miRNA, 它允许 MyoD 从增殖的成肌细胞到不同肌管的过渡中改变其转录程序。MyoR 是一种 MyoD 抑制剂, 能够通过 E 蛋白结合并直接结合 MyoD 靶 DNA 序列来阻止 MyoD 驱动的成纤维细胞转分化。研究表明, MyoD 在 C2C12 细胞分化期间能够上调 miR-378, miR-378 通过靶向 MyoR 并抑制其活性来调节 MyoD, 以此形成一个简单的正反馈环来发挥作用<sup>[58]</sup>。

MiR-206 MiR-206 是一种重要的肌肉特异性 miRNA, 研究发现 MyoD 能够与 miR-206 启动子结合诱导 miR-206 表达。Twist-1 主要在发育期间表达并且能参与骨骼肌发育的调节, miR-206 通过靶向 Twist-1 mRNA 的 3'UTR 抑制 Twist-1 的表达促进肌细胞分化<sup>[59]</sup>。此外, miR-206 通过靶向 Utrn 和 Fstl1 在转录后水平抑制其表达, Utrn 是一种肌

表1 调节骨骼肌生长发育的MyoD相关的lncRNAs

LncRNAs	肌肉分化调控	作用机制	参考文献
Kcnqlot1	下调	与MyoD相互作用, 干扰其与EZH2的结合, 促进p57表达	[45]
SRA	上调	与MyoD结合, 激活MyoD和肌源性因子的转录	[46-47]
Malat1	下调	将抑制复合物募集到MyoD结合基因座, 抑制MyoD的表达	[48]
Linc-RAM	上调	与MyoD的相互作用促进MyoD-Baf60c-Brg1复合物形成	[49]
eRNA	上调	将染色质重塑复合物招募至MyoD启动子区域	[50-51]
Irm	上调	Irm与MEF2D直接结合, 募集MyoD/MEF2D	[52]
AK143003	上调	MyoD通过抑制AK143003表达促进MyoG和MyHC的表达	[53]
LncMuMA	上调	作为miR-762海绵, 降低miR-762对MyoD的抑制作用	[54]
LncMyoD	上调	由MyoD激活, 结合IMP2并负调节IMP2介导的增殖基因翻译	[55]

不良营养蛋白, 这为治疗肌肉疾病提供了一个新思路<sup>[60]</sup>。

**MiR-203b** MiR-203b 是一种能在罗非鱼骨骼肌中表达的 miRNA, 罗非鱼是最重要的商业鱼类之一, 其养殖的核心目标是生产骨骼肌, 因此在分子水平上研究肌肉发育的调节机制非常重要。研究发现, MyoD 是调节罗非鱼肌肉特异性基因表达的蛋白之一, miR-203b 通过与 MyoD 3'UTR 靶序列结合直接抑制 MyoD 及其下游基因的表达, 抑制成肌分化<sup>[61]</sup>。

**MiR-29** MiR-29 是一种非骨骼肌特异性表达的 miRNA, 通过形成多个调控环路来促进成肌分化。研究表明, miR-29 通过 YY1/Rybp/Ezh2 和 TGF- $\beta$ -Smad3 通路来增加肌源性分化和抑制纤维化分化。YY1/Rybp/Ezh2 是骨骼肌生成的负调节物, 它们能够共同作用以沉默 miR-29 和其他肌源性基因座。TGF- $\beta$  信号诱导 C2C12 转化为肌成纤维细胞, 同时通过控制 miR-29 抑制肌源性分化。Smad3 作用于 TGF- $\beta$  的下游, 通过与 miR-29 相互作用抑制 MyoD 与 miR-29 启动子的结合, 使 miR-29 表达下调, 从而抑制 miR-29 的促肌源效应。在转分化期间, 活化的 TGF- $\beta$  信号诱导 Smad3 易位到细胞核中, 与 miR-29 启动子结合, 使 MyoD 解离以及 YY1/Ezh2 稳定化, 导致成肌细胞转分化为肌成纤维细胞。这也为肌肉营养不良症中肌肉纤维发生提供了一个新思路<sup>[62-63]</sup>。

**MiR669a** 和 **miR669q** MiRNA 在心肌和骨骼肌的生成调节中具有重要作用, 研究发现, miR669a 和 miR669q 通过直接靶向 MyoD 3'UTR 区使 MyoD 表达下调从而阻止骨骼肌生成。从心脏受累的肌营

养不良小鼠模型中分离的心脏祖细胞由于 miR669q 的表达缺失和 miR669a 的下调, 心脏祖细胞在体外或移植到再生肌肉时能够自发分化为骨骼肌纤维<sup>[64]</sup>。

**MiR-499** 肌球蛋白是心肌和骨骼肌细胞的主要收缩蛋白, 肌球蛋白重链 (MyHC) 基因通过内含子 miRNA 网络广泛地控制肌肉基因表达。MiR-499 是肌节肌球蛋白基因 Myh7b 编码的一种内含子 miRNA, 它能够通过靶向转录阻遏物参与纤维类型的调节。研究发现, MyoD 通过与 Eos 相互作用形成活性转录复合物调节 miR-499 的表达活性, miR-499 通过靶向 Sox6 使其表达下调, Sox6 的下调能够促进肌球蛋白基因的表达, 从而促进快速至慢速肌纤维类型转化<sup>[65]</sup>。

**MyomiRs** MyomiRs 是一类在心肌和骨骼肌中特异性表达的肌源性 miRNA, 与肌源性发育和疾病密切相关。MyomiRs 包括 miR-1、miR-133a 和 miR-206 等。研究发现, MyomiRs 的表达受 miR-221/222-MyoD-MyomiRs 途径调节, 也就是说在肌肉细胞中过表达或敲低 miR-221/222 能够导致 MyoD 蛋白表达的抑制或增强以及随后的 MyomiRs 表达的下调或上调<sup>[66]</sup>, 然后 MyomiRs 通过靶向靶基因 mRNA 来调节基因表达<sup>[67]</sup>。

MyoD 相关 miRNAs 总结于表 2。

### 3.3 与 MyoD 相关 circRNA 在骨骼肌发育中的作用

研究表明, circRNA 在骨骼肌生长发育中发挥着重要作用。2018 年, Li 等<sup>[68]</sup> 发现 circFGFR4 通过结合 miR-107 减轻其对 Wnt3a 的抑制并促进成肌细胞分化; 同年, 其课题组还发现, circFUT10 抑制增殖, 同时通过海绵 miR-133a 促进牛成肌细胞

表2 调节骨骼肌生长发育的MyoD相关的miRNAs

miRNAs	肌肉分化调控	作用机制	参考文献
miR-223	上调	通过MyoD-miR-223-IGF2/ZEB1途径调节禽成肌细胞增殖和分化	[56]
miR-29a	上调	通过miR-29a-Tet1-MyoD/Cdk6途径调节成肌细胞增殖和分化	[57]
miR-378	上调	形成MyoD-miR-378-MyoR-MyoD正反馈环调节肌细胞分化	[58]
miR-206	上调	通过MyoD-miR-206-Twist-1促进成肌细胞分化	[59-60]
miR-203b	下调	直接靶向MyoD 3'UTR区抑制MyoD的表达	[61]
miR-29	上调	TGF- $\beta$ 将Smad3诱导到细胞核中, 与miR-29启动子结合, 导致MyoD与miR-29解离, 成肌细胞转分化为肌成纤维细胞	[62-63]
miR669a/ miR669q	下调	直接靶向MyoD 3'UTR区使MyoD表达下调, 阻止心脏祖细胞分化为骨骼肌纤维	[64]
miR-499	上调	MyoD通过与Eos相互作用形成活性转录复合物, 调节miR-499的表达活性并间接调节Sox6水平	[65]
MyomiRs	上调\下调	通过 miR-221/222-MyoD-MyomiRs-靶基因途径调节成肌细胞分化	[66-67]

的分化<sup>[69]</sup>。2019年, Peng等<sup>[70]</sup>发现, circSNX29可作为内源性 miR-744 海绵激活 Wnt5a/Ca<sup>2+</sup>/CaMKII $\delta$  通路, 促进牛成肌细胞分化。Rossi等<sup>[71]</sup>研究发现, circ-ZNF609 的敲除能抑制成肌细胞增殖, 并触发先天免疫应答基因的表达, 对治疗儿童骨骼肌恶性肿瘤横纹肌肉瘤(RMS)发挥着重要作用。Wang等<sup>[72]</sup>研究发现, circZfp609 通过结合 miR-194-5p 降低其对 BCLAF1 的抑制, 从而抑制肌源性分化。但对于 circRNA 在肌肉中的研究尚处于起步阶段, circFGFR2 是目前发现的唯一一个与 MyoD 相关的 circRNA, circRNA 在肌肉发育中的具体功能与作用机制还有待进一步研究。

CircFGFR2 是一种由成纤维细胞生长因子受体 2 (FGFR2) 基因第 3~6 个外显子序列形成的 circRNA。研究表明, circFGFR2 可以作为 miR-133a-5p 和 miR-29b-1-5p 的分子海绵消除其对 MyoD 和 MyoG 的抑制作用, 促进成肌细胞分化。此外, circFGFR2 也可以消除 miR-133a-5p 和 miR-29b-1-5p 对成肌细胞增殖的抑制作用, 促进成肌细胞增殖<sup>[73]</sup>。

#### 4 结语

综上所述, MyoD 能够与非编码 RNA 相互作用调控骨骼肌生长发育。随着现代分子生物学技术、高通量测序以及生物信息学分析技术的不断发展, 越来越多的 MyoD 相关 ncRNA 及其作用机制将被发现和阐明, 寻找新的 MyoD 相关 ncRNA, 并将其运用到治疗肌肉疾病或提高畜禽产肉能力等实践活动中将是未来研究的方向与重点。

#### [参 考 文 献]

- [1] Davis RL, Weintraub H, Lassar AB. Expression of a single transfected cDNA converts fibroblasts to myoblasts. *Cell*, 1987, 51: 987-1000
- [2] Davis RL, Cheng PF, Lassar AB, et al. The MyoD DNA binding domain contains a recognition code for muscle-specific gene activation. *Cell*, 1990, 60: 733-46
- [3] Wang Y, Jaenisch R. Myogenin can substitute for Myf5 in promoting myogenesis but less efficiently. *Development*, 1997, 124: 2507-13
- [4] Zhu Z, Miller JB. MRF4 can substitute for myogenin during early stages of myogenesis. *Dev Dyn*, 1997, 209: 233-41
- [5] Tapscott SJ. The circuitry of a master switch: MyoD and the regulation of skeletal muscle gene transcription. *Development*, 2005, 132: 2685-95
- [6] Deato MDE, Marr MT, Sottero T, et al. MyoD targets TAF3/TRF3 to activate Myogenin transcription. *Mol Cell*, 2008, 32: 96-105
- [7] Liu QC, Zha XH, Faralli H, et al. Comparative expression profiling identifies differential roles for Myogenin and p38 $\alpha$  MAPK signaling in myogenesis. *J Mol Cell Biol*, 2012, 4: 386-97
- [8] Hinterberger TJ, Sassoon DA, Rhodes SJ, et al. Expression of the muscle regulatory factor MRF4 during somite and skeletal myofiber development. *Dev Biol*, 1991, 147: 144-56
- [9] Zhao P, Hoffman EP. Embryonic myogenesis pathways in muscle regeneration. *Dev Dyn*, 2004, 229: 380-92
- [10] Relaix F, Zammit PS. Satellite cells are essential for skeletal muscle regeneration: the cell on the edge returns centre stage. *Development*, 2012, 139: 2845-56
- [11] Weintraub H, Tapscott SJ, Davis RL, et al. Activation of muscle-specific genes in pigment, nerve, fat, liver, and fibroblast cell lines by forced expression of MyoD. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1989, 86: 5434-8
- [12] Rudnicki MA, Schnegelsberg PN, Stead RH, et al. MyoD or Myf-5 is required for the formation of skeletal muscle. *Cell*, 1993, 75: 1351-9
- [13] Kablar B, Krastel K, Ying C, et al. MyoD and Myf-5 differentially regulate the development of limb versus trunk skeletal muscle. *Development*, 1997, 124: 4729-38
- [14] Braun T, Bober E, Rudnicki MA, et al. MyoD expression marks the onset of skeletal myogenesis in Myf-5 mutant mice. *Development*, 1994, 120: 3083-92
- [15] ENCODE Project Consortium. Identification and analysis of functional elements in 1% of the human genome by the ENCODE pilot project. *Nature*, 2007, 447: 799
- [16] Guttman M, Rinn JL. Modular regulatory principles of large non-coding RNAs. *Nature*, 2012, 482: 339-46
- [17] Mercer TR, Mattick JS. Structure and function of long noncoding RNAs in epigenetic regulation. *Nat Struct Mol Biol*, 2013, 20: 300-7
- [18] Knoll M, Lodish HF, Sun L. Long non-coding RNAs as regulators of the endocrine system. *Nat Rev Endocrinol*, 2015, 11: 151-60
- [19] Clark MB, Mattick JS. Long noncoding RNAs in cell biology. *Semin Cell Dev Biol*, 2011, 22: 366-76
- [20] Wang L, Zhao Y, Bao X, et al. LncRNA Dum interacts with Dnmts to regulate Dppa2 expression during myogenic differentiation and muscle regeneration. *Cell Res*, 2015, 25: 335-50
- [21] Militello G, Hosen MR, Ponomareva Y, et al. A novel long non-coding RNA Myolinec regulates myogenesis through TDP-43 and Filip1. *J Mol Cell Biol*, 2018, 10: 102-17
- [22] Zhou L, Sun K, Zhao Y, et al. Linc-YY1 promotes myogenic differentiation and muscle regeneration through an interaction with the transcription factor YY1. *Nat Commun*, 2015, 6: 10026
- [23] Wang GQ, Wang Y, Xiong Y, et al. Sirt1 AS lncRNA interacts with its mRNA to inhibit muscle formation by attenuating function of miR-34a. *Sci Rep*, 2016, 6: 21865
- [24] Wang Y, Pang WJ, Wei N, et al. Identification, stability and expression of Sirt1 antisense long non-coding RNA. *Gene*, 2014, 539: 117-24
- [25] Zhang ZK, Li J, Guan D, et al. A newly identified lncRNA

- MAR1 acts as a miR-487b sponge to promote skeletal muscle differentiation and regeneration. *J Cachexia Sarcopeni*, 2018, 9: 613-26
- [26] Lee Y, Kim M, Han J, et al. MicroRNA genes are transcribed by RNA polymerase II. *EMBO J*, 2004, 23: 4051-60
- [27] Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell*, 2004, 116: 281-97
- [28] Lee Y, Ahn C, Han J, et al. The nuclear RNase III Drosha initiates microRNA processing. *Nature*, 2003, 425: 415-9
- [29] Kim VN. MicroRNA precursors in motion: exportin-5 mediates their nuclear export. *Trends Cell Biol*, 2004, 14: 156-9
- [30] Knight SW. A role for the RNase III enzyme DCR-1 in RNA interference and germ line development in *Caenorhabditis elegans*. *Science*, 2001, 293: 2269-71
- [31] Khvorovova A, Reynolds A, Jayasena SD. Functional siRNAs and miRNAs exhibit strand bias. *Cell*, 2003, 115: 209-16
- [32] Pasquinelli, Amy E. MicroRNAs and their targets: recognition, regulation and an emerging reciprocal relationship. *Nat Rev Genet*, 2012, 13: 271-82
- [33] Hornstein E, Mansfield JH, Yekta S, et al. The microRNA miR-196 acts upstream of Hoxb8 and Shh in limb development. *Nature*, 2005, 438: 671-4
- [34] Zhang J, Ying ZZ, Tang ZL, et al. MicroRNA-148a promotes myogenic differentiation by targeting the *ROCK1* gene. *J Biol Chem*, 2012, 287: 21093-101
- [35] Mcfarlane C, Vajjala A, Arigela H, et al. Negative auto-regulation of myostatin expression is mediated by Smad3 and microRNA-27. *PLoS One*, 2014, 9: e87687
- [36] Zhang XO, Dong R, Zhang Y, et al. Diverse alternative back-splicing and alternative splicing landscape of circular RNAs. *Genome Res*, 2016, 26: 1277-87
- [37] Barrett SP, Salzman J. Circular RNAs: analysis, expression and potential functions. *Development*, 2016, 143: 1838-47
- [38] 魏雪峰. miR-378a-3p、miR-107和相关circRNA调控牛肌细胞发育的机制研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2017
- [39] Ouyang H, Chen X, Li W, et al. Circular RNA circSVIL promotes myoblast proliferation and differentiation by sponging miR-203 in chicken. *Front Genet*, 2018, 9: 172
- [40] Wei X, Li H, Yang J, et al. Circular RNA profiling reveals an abundant circLMO7 that regulates myoblasts differentiation and survival by sponging miR-378a-3p. *Cell Death Dis*, 2017, 8: e3153
- [41] Memczak S, Jens M, Elefsinioti A, et al. Circular RNAs are a large class of animal RNAs with regulatory potency. *Nature*, 2013, 495: 333-8
- [42] Zheng Q, Bao C, Guo W, et al. Circular RNA profiling reveals an abundant circHIPK3 that regulates cell growth by sponging multiple miRNAs. *Nat Commun*, 2016, 7: 11215
- [43] Du WW, Yang W, Liu E, et al. Foxo3 circular RNA retards cell cycle progression via forming ternary complexes with p21 and CDK2. *Nucleic Acids Res*, 2016, 44: 2846-58
- [44] Ashwal-Fluss R, Meyer M, Pamudurti NR, et al. circRNA biogenesis competes with pre-mRNA splicing. *Mol Cell*, 2014, 56: 55-66
- [45] Andresini O, Rossi MN, Matteini F, et al. The long non-coding RNA *Kcnq1ot1* controls maternal p57 expression in muscle cells by promoting H3K27me3 accumulation to an intragenic MyoD-binding region. *Epigenet Chrom*, 2019, 12: 8
- [46] Caretti G, Schiltz RL, Dilworth FJ, et al. The RNA helicases p68/p72 and the noncoding RNA SRA are coregulators of MyoD and skeletal muscle differentiation. *Dev Cell*, 2006, 11: 547-60
- [47] Hube F, Velasco G, Rollin J, et al. Steroid receptor RNA activator protein binds to and counteracts SRA RNA-mediated activation of MyoD and muscle differentiation. *Nucleic Acids Res*, 2010, 39: 513-25
- [48] Chen X, He L, Zhao Y, et al. Malat1 regulates myogenic differentiation and muscle regeneration through modulating MyoD transcriptional activity. *Cell Discov*, 2017, 3: 17002
- [49] Yu X, Zhang Y, Li T, et al. Long non-coding RNA LincRAM enhances myogenic differentiation by interacting with MyoD. *Nat Commun*, 2017, 8: 14016
- [50] Mousavi K, Zare H, Dell'Orsos, et al. eRNAs promote transcription by establishing chromatin accessibility at defined genomic loci. *Mol Cell*, 2013, 51: 606-17
- [51] Cichewicz MA, Kiran M, Przanowska RK, et al. MUNC, an enhancer RNA upstream from the *MYOD* gene, induces a subgroup of myogenic transcripts in trans independently of MyoD. *Mol Cell Biol*, 2018, 38: e00655-17
- [52] Sui Y, Han Y, Zhao X, et al. Long non-coding RNA *Irm* enhances myogenic differentiation by interacting with MEF2D. *Cell Death Dis*, 2019, 10: 181
- [53] Guo Y, Wang J, Zhu M, et al. Identification of MyoD-responsive transcripts reveals a novel long non-coding RNA (*lncRNA-AK143003*) that negatively regulates myoblast differentiation. *Sci Rep*, 2017, 7: 2828
- [54] Zhang ZK, Li J, Guan D, et al. Long noncoding RNA *lncMUMA* reverses established skeletal muscle atrophy following mechanical unloading. *Mol Ther*, 2018, 26: 2669-80
- [55] Gong C, Li Z, Ramanujan K, et al. A long non-coding RNA, *lncMyoD*, regulates skeletal muscle differentiation by blocking IMP2-mediated mRNA translation. *Dev Cell*, 2015, 34: 181-91
- [56] Li G, Luo W, Abdalla BA, et al. miRNA-223 upregulated by MYOD inhibits myoblast proliferation by repressing IGF2 and facilitates myoblast differentiation by inhibiting ZEB1. *Cell Death Dis*, 2017, 8: e3094
- [57] Chikenji A, Ando H, Nariyama M, et al. MyoD is regulated by the miR-29a-Tet1 pathway in C2C12 myoblast cells. *J Oral Sci*, 2016, 58: 219-29
- [58] Gagan J, Dey BK, Layer R, et al. MicroRNA-378 targets the myogenic repressor MyoR during myoblast differentiation. *J Biol Chem*, 2011, 286: 19431-8
- [59] Koutalianos D, Koutsoulidou A, Mastroiannopoulos NP, et al. MyoD transcription factor induces myogenesis by inhibiting Twist-1 through miR-206. *J Cell Sci*, 2015, 128: 3631-45

- [60] Rosenberg MI, Georges SA, Asawachaicharn A, et al. MyoD inhibits *Fstl1* and *Utrn* expression by inducing transcription of miR-206. *J Cell Biol*, 2006, 175: 77-85
- [61] Yan B, Guo JT, Zhu C, et al. miR-203b: a novel regulator of MyoD expression in tilapia skeletal muscle. *J Exp Biol*, 2013, 216: 447-51
- [62] Zhou L, Wang L, Lu L, et al. A novel target of microRNA-29, Ring1 and YY1-binding protein (Rybp), negatively regulates skeletal myogenesis. *J Biol Chem*, 2012, 287: 25255-65
- [63] Zhou L, Wang L, Lu L, et al. Inhibition of miR-29 by TGF- $\beta$ -Smad3 signaling through dual mechanisms promotes transdifferentiation of mouse myoblasts into myofibroblasts. *PLoS One*, 2012, 7: e33766
- [64] Crippa S, Cassano M, Messina G, et al. miR669a and miR669q prevent skeletal muscle differentiation in postnatal cardiac progenitors. *J Cell Biol*, 2011, 193: 1197-212
- [65] Yeung F, Chung E, Guess MG, et al. Myh7b/miR-499 gene expression is transcriptionally regulated by MRFs and Eos. *Nucleic Acids Res*, 2012, 40: 7303-18
- [66] Tan SB, Li J, Chen X, et al. Small molecule inhibitor of myogenic microRNAs leads to a discovery of miR-221/222-myoD-myomiRs regulatory pathway. *Chem Biol*, 2014, 21: 1265-70
- [67] Rao PK, Kumar RM, Farkhondeh M, et al. Myogenic factors that regulate expression of muscle-specific microRNAs. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103: 8721-6
- [68] Li H, Wei X, Yang J, et al. circFGFR4 promotes differentiation of myoblasts via binding miR-107 to relieve its inhibition of Wnt3a. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2018, 11: 272-83
- [69] Li H, Yang J, Wei X, et al. CircFUT10 reduces proliferation and facilitates differentiation of myoblasts by sponging miR-133a. *J Cell Physiol*, 2018, 233: 4643-51
- [70] Peng S, Song C, Li H, et al. Circular RNA SNX29 sponges miR-744 to inhibit proliferation and promote differentiation of myoblasts by activating the Wnt5a/Ca<sup>2+</sup> signaling pathway. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2019, 16: 481-93
- [71] Rossi F, Legnini I, Megiorni F, et al. Circ-ZNF609 regulates G1-S progression in rhabdomyosarcoma. *Oncogene*, 2019, 38: 3843-54
- [72] Wang Y, Li M, Wang Y, et al. A Zfp609 circular RNA regulates myoblast differentiation by sponging miR-194-5p. *Int J Biol Macromol*, 2019, 121: 1308-13
- [73] Chen X, Ouyang H, Wang Z, et al. A novel circular RNA generated by *FGFR2* gene promotes myoblast proliferation and differentiation by sponging miR-133a-5p and miR-29b-1-5p. *Cells*, 2018, 7: 199