

## Analysis of the miRNA Expression Profile Derived from Exosomes in Perimenopausal Osteoporosis

Xiaojing TENG<sup>1</sup> #, Zhiwei XU<sup>2</sup> # & Zhiyi WANG<sup>3</sup> \*

<sup>1</sup> Department of Clinical Laboratory, Affiliated Hangzhou First People's Hospital, Zhejiang University, Hangzhou, Zhejiang, China

<sup>2</sup> Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou, Zhejiang, China

<sup>3</sup> Department of Clinical Laboratory, Hangzhou Women's Hospital, Hangzhou, Zhejiang, China

**SUMMARY.** Osteoporosis is a common bone metabolic disease in perimenopausal women characterized by bone loss and bone microstructure degradation. However, the molecular mechanism of osteoporosis is unclear. Recent research has shown that multiple miRNAs play an important role in osteoblasts and osteoclasts. We aimed to identify serum exosomal markers of osteoporosis to identify this disease at an early stage in perimenopausal women, thereby reducing the risk of fractures. Peripheral blood samples of perimenopausal women with osteoporosis (OP group), osteopenia (BL group), and normal bone mass (NC group) were collected, and serum exosomes were extracted by ultracentrifugation. Transmission electron microscopy and nanoparticle tracking analysis were used for verification. The miRNA was extracted, differentially expressed genes were screened by RNA-Seq, GO and KEGG pathway analyses of the target genes were performed, and the expression of related miRNAs was verified by qPCR. According to the RNA-Seq results, 759 differentially expressed miRNAs—282 in the OP vs. NC group, 282 in the BL vs. NC group, and 195 in the OP vs. BL group were identified. We identified 153 co-expressed miRNAs in the OP vs. NC group and the BL vs. NC group and 7 highly expressed miRNAs. We identified 153 co-expressed miRNAs in the OP vs. NC group and the BL vs. NC group and 7 highly expressed miRNAs. Target gene prediction and functional enrichment analyses showed that the functions of these candidate target genes are associated with pathways related to osteoblasts and osteoclasts. Based on these findings and the literature, we selected two miRNAs (hsa-miR-483-5p, hsa-miR-485-5p) for verification and found that these two miRNAs were significantly highly expressed in the serum of perimenopausal patients with osteoporosis. We identified significantly differentially expressed miRNAs in the serum exosomes of perimenopausal patients with osteoporosis, and these molecules may play an important regulatory role in this disease. Our research may help elucidate the underlying mechanisms of osteoporosis in perimenopausal patients.

**RESUMEN.** La osteoporosis es una enfermedad metabólica ósea común en mujeres perimenopáusicas caracterizada por pérdida ósea y degradación de la microestructura ósea. Sin embargo, el mecanismo molecular de la osteoporosis no está claro. Investigaciones recientes han demostrado que varios miARN desempeñan un papel importante en los osteoblastos y los osteoclastos. Nuestro objetivo fue identificar marcadores exosomales séricos de osteoporosis para identificar esta enfermedad en una etapa temprana en mujeres perimenopáusicas, reduciendo así el riesgo de fracturas. Se recogieron muestras de sangre periférica de mujeres perimenopáusicas con osteoporosis (grupo OP), osteopenia (grupo BL) y masa ósea normal (grupo NC), y se extrajeron exosomas séricos mediante ultracentrifugación. Para la verificación se utilizaron microscopía electrónica de transmisión y análisis de seguimiento de nanopartículas. Se extrajo el miARN, los genes expresados diferencialmente se cribaron mediante RNA-Seq, se realizaron análisis de las vías GO y KEGG de los genes diana y se verificó la expresión de los miARN relacionados mediante qPCR. De acuerdo con los resultados de RNA-Seq, se identificaron 759 miRNA expresados diferencialmente: 282 en el grupo OP frente a NC, 282 en el grupo BL frente a NC y 195 en el grupo OP frente a BL. Identificamos 153 miRNAs co-expresados en el grupo OP vs. NC y el grupo BL vs. NC y 7 miRNAs altamente expresados. Identificamos 153 miRNAs co-expresados en el grupo OP vs. NC y el grupo BL vs. NC y 7 miRNAs altamente expresados. La predicción de

**KEY WORDS:** exosomes, miRNA, osteoporosis, perimenopausal period.

\* Author to whom correspondence should be addressed. E-mail: zhiyiwang998@hotmail.com

# Contributed equally.

genes diana y los análisis de enriquecimiento funcional mostraron que las funciones de estos genes diana candidatos están asociadas con vías relacionadas con osteoblastos y osteoclastos. Con base en estos hallazgos y la literatura, seleccionamos dos miARN (hsa-miR-483-5p, hsa-miR-485-5p) para verificación y encontramos que estos dos miARN se expresaron significativamente en el suero de pacientes perimenopáusicas con osteoporosis. Identificamos miARN significativamente expresados diferencialmente en los exosomas séricos de pacientes perimenopáusicas con osteoporosis, y estas moléculas pueden desempeñar un papel regulador importante en esta enfermedad. Nuestra investigación puede ayudar a dilucidar los mecanismos subyacentes de la osteoporosis en pacientes perimenopáusicas.

---