

· 综述 ·

微小 RNA (miRNA) 对骨组织代谢影响的研究进展

周明旺¹ 郭铁峰^{2*} 李盛华¹ 孙凤岐² 穆欢喜²

1. 甘肃省中医院 730050

2. 甘肃中医学院 730020

中图分类号: R68 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2014) 01-0084-07

摘要: MicroRNA (miRNA) 是一种非蛋白质的新型基因表达调控因子,广泛存在于真核生物中,参与了各种重要的细胞生物学过程。miRNA 在骨组织代谢过程中亦发挥了重要作用,研究人员对骨代谢相关 miRNA 的作用靶基因、信号通路等进行了大量研究,发现它们在调控骨组织代谢性疾病方面具有重要意义,因此笔者就 miRNA 的生物学特性、成骨相关 miRNA、成软骨相关 miRNA、骨吸收相关 miRNA 以及骨代谢性疾病相关 miRNA 的研究进展作一综述。骨代谢相关 miRNA 的研究仍处于初级阶段,但是它在组织发育及疾病发生发展过程中具有明显的特异性表达,又结合其组织特异性及时序性的特点,miRNA 就可以作为疾病的诊断标志物用于临床诊断中。

关键词: 微小 RNA; 骨代谢; 成骨分化; 成软骨分化; 信号通路

Research progress of the effect of micro RNA on the metabolism of bone tissueZHOU Wangwang¹, GUO Tiefeng², LI Shenghua¹, SUN Fengqi², MU Huanxi²

1. Gansu Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730050

2. Gansu College of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730020, China

Corresponding author: GUO Tiefeng, Email: 923433675@qq.com

Abstract: MicroRNA (miRNA) is a new type of non-protein factor, which regulates gene expression, widely exists in eukaryotic organisms, and participates in a variety of important cytobiology processes. miRNA also plays an important role in bone tissue metabolism. Through abundant researches on the target genes and signal pathways of bone metabolic related miRNA, the researchers discover that they play an important role in the regulation of bone metabolic diseases. Therefore, this paper reviews the research progress of the biological characteristics of miRNA, including osteogenic related miRNA, chondrogenic related miRNA, bone resorption related miRNA, and bone metabolic diseases related miRNA. Although the study of bone metabolic related miRNA is still at a preliminary stage, it shows significant specific expression in the process of tissue development and the pathogenesis and development of diseases. Combining with its characteristics of tissue specificity and time sequence, miRNA can be used as a biomarker for disease diagnosis in clinical diagnosis.

Key words: MicroRNA; Bone metabolism; Osteogenic differentiation; Chondrogenic differentiation; Signal pathway

在骨代谢中起到最关键作用的细胞包括成骨细胞与破骨细胞,成骨细胞的主要作用是合成骨基质,破骨细胞则是吸收骨基质。这两种细胞的相互作用,使骨的生成和吸收达到动态的平衡,从而保持正常的骨代谢,同时还存在骨髓中的红细胞生成细胞、基质细胞相互作用,它们也参与了骨的改建和重建。当这种骨的代谢平衡被打破,则会导致骨的病理性改变,进而引起骨代谢性疾病,如骨质疏松、骨质硬化,骨质软化,骨坏死以及各种由于软骨组织代谢异

常引起的骨关节退行性病变。miRNAs 是在真核生物中发现的一类内源性的具有调控功能的非编码 RNA。研究表明 miRNA 参与人体中各种各样的调节途径,包括发育、造血过程、病毒防御、器官形成、脂肪代谢、细胞增殖和凋亡等。经过大量研究证实许多 miRNA 在骨代谢中都起到了关键的调控作用,参与维持骨代谢的平衡,对这些 miRNA 的深入研究可为骨代谢疾病的诊断与治疗提供新的思路与方法,本文重点对 miRNA 的生物学特性、成骨相关 miRNA、成软骨相关 miRNA、破骨相关 miRNA 以及骨代谢性疾病相关 miRNA 的研究进展作一综述。

*通讯作者: 郭铁峰, Email: 923433675@qq.com

1 miRNA 的合成及作用机制

miRNA 最早是由 Lee 等在秀丽新小杆线虫 (*C. elegans*) 体内最早发现的, 之后又有研究者^[1]在线虫中发现了另一种重要的具有转录后调节作用的 miRNA: Let-7。在生物体的生长、发育、衰老、死亡, 人体造血过程, 激素分泌, 器官形成, 肿瘤, 炎症发生发展, 细胞的增殖, 凋亡, 分化, 发育以及逆境应答等方面都起到重要作用。目前已鉴定的 miRNA 数目有 1100 多条, 但我们对大部分 miRNA 的具体功能作用尚不清楚。

miRNA 是一类内源性的具有调控功能的非编码 RNA, 作为一种非蛋白质的新型基因表达调控因子, 广泛存在于真核生物中, 本身不具有开放阅读框架, 不编码蛋白质。长度约 21 ~ 25 个核苷酸, 具有能形成分子内茎环结构的前体, 能够识别特定的靶 mRNA, 调控转录后 mRNA 的表达。miRNA 基因最初是在核内经 RNA 聚合酶 II (polII) 转录形成具有多聚腺苷酸尾巴 (AAAAA) 和 7MGpppG 的 pri-miRNA。随后核酸酶 Drosha (核糖核酸酶 III) 在因子 Pasha (双链 RNA 结合域蛋白) 的辅助作用下将 pri-miRNA 的侧翼序列切除, 处理成具有茎环结构, 70 ~ 80 个核苷酸组成的 pre-miRNA。pre-miRNA 再由 Ran-GTP 依赖的核质/细胞质转运蛋白 Exportins-5 的作用下, 从核内运输到胞质中, 再由核糖核酸酶 III (Dicer 酶) 将其剪切产生约为 19 ~ 23 个核苷酸长度的 miRNA: miRNA * 双链。该双链 RNA 是由一条成熟的 miRNA 引导链与另一条与之相对的 miRNA * 所构成的二聚体, 这种双链很快被引导进入沉默复合体 (RISC) 复合体中, 其中较成熟的一条单链 miRNA 被保留在这一复合体中, 并与 AGO (argonaute) 蛋白结合形成复合物发挥其生物学功能, 而另一条则被降解。另外, 也有一部分 miRNA 可通过 Drosha 酶非依赖途径进行合成, 其与前一种途径的区别在于: 1 pri-miRNA 是由内含子转录而来, 不是有独立基因转录的; 2 pri-miRNA 合成 pre-miRNA 的过程不需核酸酶 Drosha 及因子 Pasha 的参与。

miRNA 发挥序列特异性转录后调控作用, 成熟的 miRNA 在形成 miRNA -RISC 复合体后, 可与其互补的靶基因的 mRNA 位点在 3' 非翻译区 (3' UTR) 完全互补结合, 通过碱基配对后直接靶向切割 mRNA 并引起靶 mRNA 的降解以调控基因表达, 这主要发生在植物中; 当 miRNA -RISC 复合体与相应

的靶 mRNA 不完全互补时, mRNA 稳定性不受到影响, 但可以阻遏靶 mRNA 的翻译, 主要发生在动物中; 所以 miRNA 在机体中的调控作用主要取决于 miRNA 与靶 mRNA 的互补程度。miRNA 可调控人体内 30% 的编码蛋白质的基因^[2], 但也有文献报道 miRNA 却调控着 40% - 90% 的人类蛋白编码基因^[3]。单一 miRNA 通常具有多个靶基因, 而多个 miRNA 也可同时调控一个靶基因。大多数已发现的 miRNA 表达都具有严格的组织特异性与时序性, 大量研究证明在处于同一发育阶段的不同细胞中或处于不同的发育阶段的同一细胞中, miRNA 表达谱各不相同; 而相同的 miRNA 在个体发育的不同阶段其表达也是不同的。

2 miRNA 与成骨分化

由于 Dicer 和 Drosha 在 miRNA 生成过程中所起的关键作用, 有实验将 Dicer 和 Drosha 酶敲除, 从而导致细胞内所有 miRNA 生成障碍, 通过观察发现骨髓基质干细胞向成骨细胞分化的能力完全丧失^[4]。

成骨细胞一般来源于骨髓基质干细胞, 在观察骨形态发生蛋白-2 (BMP-2) 诱导骨髓基质干细胞向成骨细胞分化过程中 miRNA 谱的变化时, 发现有 25 个 miRNA 发生显著变化, 在下调的 22 个 miRNA 中, miR-133 和 miRNA-135 与成骨分化关系密切^[5]。Schoolmeesters 等^[6]在研究人干细胞向成骨细胞分化时发现, miRNA-489、miRNA-27a 表达水平下调, miRNA-148b 表达水平上调。而 miR-125b 又可通过调整细胞的增殖参与成骨细胞的定向分化^[7]。有报道称在股骨头坏死的研究中发现 miR-2861 在骨细胞中表达较高, 在破骨细胞不表达, 说明 miR-2861 与成骨分化关系密切。另外脂肪干细胞及胚胎干细胞在一定条件下亦可向成骨细胞方向分化。目前研究发现影响人类胚胎干细胞早期成骨分化的 miRNA 有: miR-148b, miR-27a, 及 miR-489。这些 miRNA 通过其表达水平的上调或下调, 会对成骨细胞的分化产生抑制或促进的作用。

2.1 促进成骨分化的相关 miRNA

王海鹏等^[9]证实 miRNA-30a-5p 在 MSCs 定向成骨分化的过程中具有一定的促进增强作用。miR-29b 和 miR-210 则已被证实可促进成骨细胞分化。Wnt/ β -catenin 作为 miR-29 的上游信号通路, 可增加 miR-29 的表达量, 而 miR-29 的下游靶基因是骨连接素, 可促进成骨分化。另外有研究^[10]发现

miRNA-29b 通过下调成骨细胞分化抑制物(如转化生长因子 P3、组蛋白脱乙酰化酶等)的表达,间接促进成骨细胞分化。有报道称抑制 miR-2861 的表达能够延缓 ST2 和 BMSCs 向成骨细胞分化,而过表达的 miR-2861 可以促进在 ST2 和 BMSCs 向成骨细胞分化。Wang 等研究发现 miR-27/wnt/p-catenin 信号通路可正性调节成骨细胞分化,其表达水平与 p-catenin 呈正相关^[11]。miR-27 通过调节 wnt 信号通路促进成骨细胞分化,miR-27 表达水平与 Wnt 信号的关键蛋白 p-catenin 呈正相关。miR-20 通过与靶基因 BAMBI 与 CRIM1 结合抑制其表达,从而上调了 BMP/Runx2 信号通路,促进成骨细胞的合成。

Runx2 作为成骨关键因子,其上游受到了多种 miRNA 信号通路的调节,而下游又可将信号传给多个 miRNA。SATB2 是一种骨形成的激活剂,有研究^[12]证明 miR-23a ~ 27a 可抑制 SATB2 的表达,而转录因子 Runx2 又能够降低一组基因 miR-23a ~ 27a 的表达,从而使 SATB2 得以表达。有研究表明 miR-210 通过下调 AcvR1b 蛋白的表达抑制了 TGF- β /activin 信号通路,从而促进了 ST2 细胞成骨分化^[13]。而当 miR-204 被抑制时,成骨能力增强,成脂能力减弱。Li 等发现 miR-2861/HDAC5/Runx2 可促进成骨细胞分化,原因可能是 miR-2861 抑制了 HDAC5 对 Runx2 的降解作用。miR-3960 通过 Runx2/miR-3960/BMP-2 通路调节成骨细胞,miR-3960 过表达会促进 BMP-2 诱导的成骨细胞分化,而 miR-3960 的表达下降则抑制 BMP-2 诱导的成骨细胞分化^[14]。miR-204/211 与 miR-2861 同时作为 Runx2 的上游调控因子,都通过对 Runx2 的调节作用促进成骨分化。miRNA-20b 可介导 BMPs-Cbfa1/Runx2 信号通路促进成骨分化,其机制可能是 miRNA-20b 下调了此信号通路中几个阻遏基因的表达量^[15]。有报道称 Smad3 可以抑制 Runx2/Cbfa1/Aml3 信号通路对成骨分化的促进作用,而 miR-140 又可直接抑制在 Smad3 的表达,从而解除 Smad3 对 Runx2/Cbfa1/Aml3 的抑制^[16]。围绕着 Runx2 这一成骨关键因子,多种 miRNA 都通过不同的信号通路直接或间接对它的表达产生影响,相当于围绕 Runx2 这一个点构成了一个 miRNA 的调控网络,此网络对成骨分化产生促进作用,而这种网络实际上也是属于更大一级的 miRNA 调控网络。

另外脂肪干细胞及胚胎干细胞在一定条件下亦可向成骨细胞方向分化,并通过 miRNA 调节有效促进成骨分化。目前研究发现影响人类胚胎干细胞早

期成骨分化的 miRNA 有: miR-148b, miR-27a, 及 miR-489。张浩等^[17]研究发现脂肪来源干细胞在成骨分化前后有 9 个 miRNA 表达差异变化明显,其中上调的有: miRNA-17, miRNA-20a, miRNA-20b, miRNA-106a, miRNA-199b-5p; 下调的有: miRNA-31, miRNA-125a-5p, miRNA-125b, miRNA-193a-3p, 这些 miRNA 的表达量在成骨分化过程的不同时间点出现变化,并且发现 miRNA 调控的关键时间是在成骨诱导 2 周左右,呈明显的时间依赖性。miR-22 通过抑制其靶基因 HDAC6 从而抑制 hADMSCs 成脂分化及促进成骨分化,进而在 hADMSCs 成脂分化和成骨分化平衡中发挥调节作用。Kim^[18]等发现 miR-196a/Hoxc8 通路可调节脂肪干细胞向成骨细胞分化和增殖。miR-26a 参与了脂肪干细胞向成骨细胞分化的调控,其通过转录因子 SMADI 调节成骨细胞后期分化,并且当脂肪基质干细胞成骨分化成熟时 miR-26a 表达量最高,可抑制 Smad1 的表达量,同时促进成骨分化相关因子: ALP、I 型胶原、RUNX2、Ocn 的表达,对成骨分化产生促进作用。

2.2 抑制成骨分化的相关 miRNA

有研究人员^[19]找到 10 个 miRNA 分子: miR-23a、miR-30c、miR-34c、miR-133a、miR-135a、miR-137、miR-338、miR-205、miR-217、miR-204。它们均能通过调节 Runx2 的表达抑制成骨分化过程,由于 Runx2 在成骨分化过程中的重要性,它也成为抑制成骨分化的相关 miRNA 的一个重要靶位点。miR-206 的低表达可促进成骨细胞分化,说明其对成骨分化有抑制作用^[20]。有研究^[21]证实在 BMSC 诱导成骨分化的过程中,miR-146a 的表达下降,而当 miR-146a 表达升高时,诱导成骨分化必须的信号刺激之一 Runx 2 下降,说明过表达 miR-146a 对成骨分化有抑制作用。已有实验证明 hMSCS 向成骨细胞分化时,miRNA-138 是下调的,说明 miR-138 可抑制 hMSCS 向成骨细胞分化。同时有文献报道 miR-138 对成骨细胞的负向调节作用通过介导 FAK-ERK1/2 信号通路来完成的^[22]。

Mizuno 等研究发现^[23] miR-125b / ALP 信号通路在成骨分化过程中发挥负调控作用,同时 miR-125b/BMP-4 亦能够抑制间充质干细胞 ST2 成骨分化的过程,说明 miR-125 可同时调节多个信号通路抑制成骨分化。Itoh^[24]等研究发现 miR-141 与 miR-200a 通过抑制 DLX5 转录调节骨形成蛋白 2 诱导的前成骨细胞的分化。同时在对 Runx2 上游 miRNA 的研究也发现 miR-204/211 对 Runx2 具有

负调节作用,可抑制间质祖细胞和骨髓基质干细胞成骨分化,并促进脂肪形成^[25]。亦有实验证实由 miR-126 介导的 VEGFA/PIK/AKT 在成骨分化过程中起重要作用。Chen 等^[26]发现 miRNA-133 通过直接抑制 Cbfa1/Runx2 表达可抑制骨髓间充质干细胞向成骨分化。Smad5 介导了 TGF 家族诱导成骨分化的关键信号通路,miR-135 通过衰减 Smad5 信号转导通路,抑制成骨细胞的分化。miR-204、miR-23 则可以通过抑制 RUNX2 而抑制成骨分化^[27]。魏均强^[28]等研究发现 hsa-miR-654-5p 通过与 BMP2 的特定靶位点结合抑制其蛋白表达,以调控 BMP2 的成骨作用,其机制可能是 hsa-miR-654-5p 直接调控位于 TGF- β 信号通路上游的 BMP2 靶基因,进而影响整个成骨分化信号通路的发生和进展,hsa-miR-654-5p 对 BMP2 靶基因的抑制作用取决于其表达量的变化。同时他们的研究还发现在 hBMSCs 成骨分化过程中,hsa-miRNA-149 可调控其靶基因 ALPL 的蛋白表达,且成负相关。Smad5 是成骨分化的关键细胞内转导信号因子,可介导 BMP 的信号,促进成骨分化,miRNA-26a 可以通过直接阻断 Smad5 信号从而抑制成骨细胞分化^[29]。目前研究发现的抑制成骨细胞的分化的 miRNA 还有 miR-206、miRNA-489、miRNA-27a 等。其中 miRNA-489 与 miRNA-27a 是编码骨形成蛋白信号蛋白抑制物 AHSG 和 CHRD 基因的上游信号分子。

3 miRNA 与成软骨分化

国内外学者通过实验研究已发现了可能在成软骨分化过程中发挥作用的多种 miRNA:miRNA-9、miRNA-98、miR-101、miR-140、miR-143、miR-145、miR-30a、miR-146a、miR-21、miR-675、miR-223、miRNA-26b、miR-199a *, miR-34a 等。S. W. Jones^[30]等在 OA 软骨中 miR-9、miR-98、miR-146 表达升高。也有研究显示 I 级 OA 病人的软骨组织中,miR-146a 和胶原 2A1 表达显著升高,而 II、III 级 OA 病人的软骨组织中,miR-146a 和胶原 2A1 的表达下降,在人 BMSCs 体外软骨分化过程中 miRNA-26b 的表达持续升高。大量国内外报道显示这些 miRNA 对软骨外基质调节作用显著,而软骨细胞外基质在软骨组织的代谢起到至关重要的作用。miR-146a 在 OA 患者的膝关节软骨细胞中的表达就很高。

还有一些研究发现了与成软骨分化相关的 miRNA,但在相关文献中没有说明它们对成软骨分

化的作用是抑制还是促进。有实验证明 miR-145 对软骨的调节作用有可能通过调节靶基因 Sox9,而 Sox9 是软骨形成过程中不可或缺的一种转录因子,已有实验证明 miR-145 能与 Sox9 的 3-UTR 上预测靶位点有效结合,发挥抑制效应,而 Sox9 的下游靶基因包括 Col2a1、Col9a2、Col11a1、Agc1、COMP 等,而这些基因都与软骨代谢相关,所以 miR-145/ Sox9 信号通路是调节软骨代谢的重要信号通路。结缔组织生长因子(CCN2)做为 miRNA-18a 的作用靶点位之一,也是软骨内成骨的重要调节器,miR-18a 通过 CCN2 的调控参与软骨细胞的分化^[31]。Lin 等^[32]发现了 Smad1 是 miR-199 的靶基因之一,而 Smad1 是调节 MSCs 成软骨分化的重要因子,所以 miR-199/ Smad1 也是影响成软骨分化的重要信号通路之一。

3.1 促进成软骨分化相关 miRNA

有文献报道^[33]表明被敲除 miR-140 基因的小鼠,与对照组相比关节软骨发生了明显的退行性变,所以 miR-140 可抑制软骨的退行性变,大量研究已经证实 miR-140 是一种仅在软骨组织中表达的 miRNA,且有较强的软骨特异性,在体外诱导 MSCs 向软骨细胞分化的过程中,miR-140 与 Sox9、Col2a1 表达水平同步升高,其作用可能是抑制了软骨细胞的凋亡^[34]。miR-140 对软骨调节作用的机理是 miR-140 可通过与聚蛋白多糖酶 II 基因的 3'UTR 区结合抑制其表达,从而抑制了聚蛋白多糖酶 II 降解软骨基质中的聚蛋白多糖的功能。也有报道^[35]称 miRNA-140 通过诱导下调组蛋白去乙酰化酶 4 (HDAC4) 的表达量发挥其保护软骨的作用。而白细胞介素 1 β 又可抑制 miRNA-140 的表达,所以局部炎症可引起关节软骨的破坏^[36]。

除 miRNA-140 外,还有许多 miRNA 通过抑制软骨细胞外基质的降解,参与成软骨细胞的分化。miRNA-146a 与 miRNA-9 都通过调节 MMP-13 的分泌参与软骨代谢,其作用可能是抑制了 MMP-13 的分泌,从而保护软骨基质不被降解。亦有研究^[37]显示 miR-98 和 miR-146 可以减少 IL-1 β 调控的表达产物 TNF,从而减轻软骨的炎性破坏。软骨基质可被基质金属蛋白酶(MMP)破坏,RECK 基因主要调节:MMP-2、MMP-9 与 MMP-14,有研究表明 RECK 是 miR-21 的一个调控靶点,且二者的表达为负相关。所以 miR-21 可介导 RECK/TIMP-3 影响 MMP-2 与 MMP-9 的活性,抑制其对软骨基质的破坏。亦有实验证明 miR-27b 的下调可导致 MMP-13 表达的增强,说明 miR-27b 可通过抑制 MMP-13 的表达促进

成软骨分化。miR-675 通过上调软骨基质 I 和 II 型胶原纤维的表达促进软骨分化^[38]。有研究这一通过对骨关节炎小鼠模型的软骨检查发现 MiR-146a 过表达时, VEGF 表达水平上调, 而 Smad4 表达下调, 并得出结论 miRNA-146a 在骨关节炎的软骨细胞凋亡中发挥调控作用, 这种调节作用可能通过抑制了软骨细胞的凋亡, 促进成软骨分化^[39]。

3.2 抑制成软骨分化相关 miRNA

miR-199a * 在早期软骨形成过程中表达量较低, 而在成熟的软骨中表达量较高, 这主要发生在 BMP-2 诱导间充质干细胞系 C3H10T1/2 向成骨细胞分化的过程中。miR-199a * 在早期软骨形成过程中的低表达量, 说明其对早期软骨形成有抑制作用, 有实验证明 miR-199a * 通过降低 II 型胶原 (Col2), Sox9, 软骨低聚基质蛋白 (COMP) 等软骨细胞特异性基因的表达量发挥抑制作用。随后的研究又显示 miR-199a * 对软骨细胞基质的抑制作用主要通过下调 BMP-2/Smad1 来实现的^[40]。高表达的 miR-145 表达则可显著抑制软骨形成特征型表型基因的 mRNA 表达, 间接抑制成软骨分化。

4 破骨细胞相关 miRNA

破骨细胞是一种多核的巨细胞, 由单核细胞融合而成, 有很强的溶骨, 吞噬和消化能力, 其作用与成骨细胞相辅相成, 通过骨吸收过程参与骨的生长与改建。巨噬细胞集落刺激因子 (M-CSF) 也称为集落刺激因子-1 (CSF-1), 功能可诱导破骨细胞发生, 并调节成熟破骨细胞的吸收和迁移。有研究成功建立了成熟的诱导人 CD14 + PBMCs 向破骨细胞分化的细胞模型。并应用 miRNA 芯片发现了 CD14 + PBMCs 向破骨细胞分化过程中的特异性 miRNA, 其中表达上调的有 has-miR-148a, has-miR-483, has-miR-223, has-miR-21, Has-miR-214; 表达下调的有 has-miR-155, has-miR-125a, has-miR-27b, has-miR-145。以 has-miR-148a 及 has-miR-223 表达上调最为显著。亦有其他研究^[41]显示 miR-223 可通过调节 M-CSF 的表达从而控制破骨细胞的分化。有文献^[42]报道这种调节可能是通过 Pu. 1/miRNA-233/NFI-A/M-CSFR 通路完成的, Pu. 1 促进 miRNA-233 的表达, miRNA-233 抑制 NFI-A 表达, 而抑制 NFI-A 可使 M-CSFR 表达水平升高从而促进破骨细胞分化。在破骨细胞生成的过程中 DGCR8、Dicer1、Ago2 基因起到了重要的调控作用, 其中 Dicer 对 M-CSFR 与 PU. 1 均具有调控作用, 沉默 DGCR8、Dicer、Ago2

基因后, 全面抑制破骨细胞转录因子表达, 减少破骨细胞形成, 进而减少骨吸收。

5 骨代谢性疾病相关 miRNA

目前对骨代谢相关 miRNA 的研究虽然还处于初级阶段, 但随着研究的不断深入, 研究人员已经找到了一些与骨代谢性疾病相关的, 并具有一定特异性的 miRNA, 有研究通过对激素性股骨头坏死患者血浆 miRNA 测序及生物信息学分析发现了 27 个股骨头坏死特异表达的血浆 miRNA。其中 15 个 miRNA 表达上调, 12 个 miRNA 表达下调, 这些 miRNA 可能参与了股骨头坏死过程中细胞的凋亡、细胞增殖和干细胞分化等方面的调控, 这一研究为激素性股骨头坏死早期诊断的血清标记物研究奠定了基础。已有大量研究证明 miR-140 强特异表达于软骨发生中, 其对软骨退行性病变的预测与诊断具有十分重要的意义。Li^[43]等在对 2 例原发性骨质疏松症患者血液样本检测发现 miR-2861 表达量明显下调, 使其不能抑制 HDAC5 对 Runx2 的降解作用从而抑制成骨分化, 根据进一步的研究发现患者血清检发现反映成骨细胞活性的 ALP 活性明显低于正常人, 说明 miR-2861 是导致原发性骨质疏松症的重要 miRNA 分子。在对脊柱骨巨细胞瘤特异性 miRNA 的研究中发现了亦找到了一组具有较大差异性表达的 miRNA, 并进一步找出了相关的信号通路, 为诊断后的治疗提供理论依据。已经通过研究获得的这些特异性 miRNA 对骨代谢疾病虽有一定的诊断意义, 但是由于 miRNA 的时序性特点, 在未知疾病所处阶段的情况下, 利用 miRNA 诊断疾病并不可靠, 所以应在以上研究的基础上, 进一步研究患病过程中每一个时间节点的特异性 miRNA 的表达情况, 这样更有利于疾病的诊断与预防。

6 展望

miRNA 是机体中一个庞大复杂的调控网络体系, 对 miRNA 相关信号通路的研究是了解其调控机理的重要方式, 由于目前的研究应具有系统性和连贯性, 对其精确调节机制并未完全清楚。目前对骨代谢相关 miRNA 的研究仍处于初级阶段, 但是它在组织发育及疾病发生发展过程中具有明显的特异性表达, 又结合其组织特异性及时序性的特点, miRNA 就可以作为疾病的诊断标志物用于临床诊断中。此外, 随着研究的深入, 发现一些 miRNA 对成骨分化的调节并不是单一方向的, 首个被发现参

与成骨细胞分化的 miRNA 是 miR-26a, Ettore Luzzi^[44] 等发现其通过下调 Smad1 的表达抑制成骨分化。但国内亦有文献报道^[45] 在骨质疏松的环境中 miR-26a 表达下降,并且证实了 miR-26a 对小鼠 BMSCs 成骨潜能的促进作用。说明 miR-26a 对成骨分化可能具有双向调节作用,所以需要有研究对其作进一步的证实并阐明其机理。近几年有研究认为由于 miRNA 的组织特异性,将组织标本中的 miRNA 特异性表达谱用于临床诊断是不可行的。所以血清 miRNA 的研究越来越受到重视,其稳定性好,表达谱与正常人相似,与组织 miRNA 具有相关性,其在临床中的运用更具可行性。

【参 考 文 献】

- [1] Reinhart BJ, Slack FJ, Basson M, et al. The 21-nucleotide let-7 RNA regulates development of multiple tissues in *Caenorhabditis elegans*. *Nature*, 2000, 403(6772): 901-905.
- [2] Jayaswal V, Lutherborrow M, Ma DD, et al. Identification of microRNA-mRNA modules using microarray data. *BMC Genomics*, 2011, 12: 138.
- [3] Hu R, Li H, Liu W, et al. Targeting miRNAs in osteoblast differentiation and bone formation. *Expert Opin Ther Targets*, 2010, 14(10): 1109-1120.
- [4] Wang Junchen, Liu Hongcheng. MicroRNA in the cells into the regulation of osteogenic differentiation of mesenchymal stem. *Chinese Journal of Geriatric Dentistry*, 2012, 10(1): 40-44.
- [5] Li Z, Hassan MQ, Volinia S, et al. A microRNA signature for a BMP2 induced osteoblast lineage commitment program. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2008, 105(37): 13906-13911.
- [6] Schoolmeesters A, Eklund T, Leake D, et al. Functional profiling reveals critical role for miRNA in differentiation of human mesenchymal stem cells. *PLoS One*, 2009, 4(5): e5605.
- [7] Mizuno Y, Yagi K, Tokuzawa Y, et al. miR-125b inhibits osteoblastic differentiation by down regulation of cell Proliferation. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, 368(2): 267-272.
- [8] Zhang Hao, Kang Yan, Ma Yuanzhan, et al. Osteogenesis-specific miRNA expression pattern analysis in osteogenic differentiation of adipose-derived stem cells. *Journal of Clinical Rehabilitative Tissue Engineering Research*, 2011, 15(32): 4247-4250.
- [9] Wang Haipeng, Gao Jie, Zhang Xiaoping, et al. Function expression and verification of human miR-30a-5p in the inducing hBMSCs into osteoblasts. *China Medical Herald*, 2011, 8(16): 23-26.
- [10] Liz, Hassan MQ, Jafferji M, et al. Biological functions of miR-29b contribute to positive regulation of osteoblast differentiation. *J Biol Chem*. 2009, 284(23): 15676-15684.
- [11] Wang T. miR-27 Promotes osteoblast differentiation by modulating Wnt signaling. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 402(2): 186-189.
- [12] Hassan MQ, Gordon JAR, Beloti MM, et al. A network connecting Runx2, SATB2, and the miR-23a/27a/24-2 cluster regulates the osteoblast differentiation program. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2010, 107(46): 19879-19884.
- [13] Mizuno Y, Tokuzawa Y, Ninomiya Y, et al. miR-210 promotes osteoblastic differentiation through inhibition of AcvR1b. *FEBS Lett*, 2009, 13: 2263-2268.
- [14] Wang G, Zhang CQ, Sun Y, et al. Changes in femoral head blood supply and vascular endothelial growth factor in rabbits with steroid-induced osteonecrosis. *J Int Med Res*, 2010, 38(3): 1060-9.
- [15] He J, Zhang JF, Yi C, et al. miRNA-mediated functional changes through co-regulating function related genes. *PLoS One*, 2010, 5(10): e13558.
- [16] Pais H, Nicolas FE, Soond SM, et al. Analyzing miRNA expression identifies Smad3 as a microRNA-140 target regulated only at protein level. *RNA*. 2010, 16(3): 489-94. Epub 2010 Jan 13.
- [17] Zhang Hao, Kang Yan, Ma Yuancheng, et al. Osteogenesis-specific miRNA expression pattern analysis in osteogenic differentiation of adipose-derived stem cells. *Journal of Clinical Rehabilitative Tissue Engineering Research*, 2011, 15(32): 4247-4250.
- [18] Kim, Bae SW, Yu SS, et al. miR-196a regulates proliferation and osteogenic differentiation in mesenchymal stem cells derived from human adipose tissue. *Bone Miner Res*, 2009, 24(5): 816-25.
- [19] Zhang J, Li Z, Wang H, et al. Ultrasensitive quantification of mature microRNAs by real-time PCR based on ligation of a ribonucleotide-modified DNA probe. *Chem Commun (Camb)*, 2011, 47(33): 9465-9467.
- [20] Inoue H, Ochi H, Kimura A, et al. A microRNA regulatory mechanism of osteoblast differentiation. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2009, 20.
- [21] Kuang Wei, Tan Jiali, Zhang Hongmei, et al. miR-146a down regulates the osteogenic differentiation of murine bone marrow mesenchymal stem cells. *Biomedical Engineering and Clinical Medicine*, 2011, 15(5): 413-416.
- [22] Eskildsen T, Taipaleenmaki H. MicroRNA-138 regulates osteogenic differentiation of human stromal (mesenchymal) stem cells in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108(15): 6139-6144.
- [23] Mizuno Y, Yagi K, Tokuzawa Y, et al. miR-125b inhibits osteoblastic differentiation by down-regulation of cell proliferation. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, 368(2): 267-272.
- [24] Itoh T, Nozawa Y, Akao Y. MicroRNA-141 and -200a are involved in bone morphogenetic protein-2-induced mouse pre-osteoblast differentiation by targeting distal-less homeobox 5. *J Biol Chem*, 2009, 284(29): 19272-19279.

- [25] Huang J, Zhao L, Xing L, et al. MicroRNA-204 regulates Runx2 Protein expression and mesenchymal progenitor differentiation. *Stem Cells*, 2010, 28(2): 357-64.
- [26] Chen JF, Callis TE, Wang DZ. microRNAs and muscle disorders. *J Cell Sci*, 2009, 122(Pt 1): 13-20.
- [27] Hassan MQ, Gordon JA, Beloti MM, et al. A network connecting RUNX2, SATB2, and the miR-23a ~ 27a ~ 24-2 cluster regulates the osteoblast differentiation program. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107(46): 19879-19884.
- [28] Wei Junqiang, Cheng Hua, Zheng Xiaofei, et al. hsa-miR-654-5p regulates osteogenic differentiation of human bone marrow mesenchymal stem cells by repressing bone morphogenetic protein. *Journal of Southern Medical University*, 2012, 32(3): 291-295.
- [29] Li Z, Hassan MQ, Volinia S, et al. A microRNA signature for a BMP2-induced osteoblast lineage commitment program. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008, 105(37): 13906-13911.
- [30] Jones SW, Watkins G, Le Good N, et al. The identification of differentially expressed microRNA in osteoarthritic tissue that modulate the production of TNF- α and MMP13. *Osteoarthritis Cartilage*, 2009, 17(4): 464-472.
- [31] Li Chuanjun, Bao Tongzhu, Xing Rongchun, et al. Research and application of micro RNA in osteoarthritis. *Guangdong Medical Journal*, 2012, 33(16): 2527-2529.
- [32] EA Lin, Kong L, Bai XH, et al. miR-199a, a bone morphogenic protein 2-responsive MicroRNA, regulates chondrogenesis via direct targeting to Smad1. *J Biol Chem*, 2009, 284(4): 11326-11335.
- [33] Miyaki S, Sato T, Inoue A, et al. MicroRNA-140 plays dual roles in both cartilage development and homeostasis. *Genes Dev*, 2010, 24(11): 1173-1185.
- [34] Tuddenham L, Wheeler G, Ntounia-Fousara S, et al. The cartilage specific microRNA-140 targets histone deacetylase 4 in mouse cells. *FEBS Lett*, 2006, 17: 4214-4217.
- [35] Tuddenham L, Wheeler G, Ntounia Fousara S, et al. The cartilage specific microRNA-140 targets histone deacetylase 4 in mouse cells. *FEBS Lett*, 2006, 580(17): 4214-4217.
- [36] Miyaki S, Nakasa T, Otsuki S, et al. MicroRNA-140 is expressed in differentiated human articular chondrocytes and modulates interleukin-1 response. *Arthritis Rheum*, 2009, 60(9): 2723-2730.
- [37] Jones SW, Watkins G, Le Good N, et al. The identification of differentially expressed microRNA in osteoarthritic tissue that modulate the production of TNF- α and MMP13. *Osteoarthritis Cartilage*, 2009, 17(4): 464-472.
- [38] Dudek KA, Lafont JE, Martinez Sanchez A, et al. Type II collagen expression is regulated by tissue-specific miR-675 in human articular chondrocytes. *J Biol Chem*, 2010, 285(32): 24381-24387.
- [39] Li J, Huang J, Dai L, et al. MiR-146a, an interleukin-1 β responsive microRNA, induces vascular endothelial growth factor and chondrocyte apoptosis by targeting Smad4. *Arthritis Res Ther*, 2012, 14(2): R75.
- [40] Bernard R, Wilfred, Wang-Xia Wang, Peter T. Nelson. Energizing miRNA research: A review of the role of miRNA in lipid metabolism, with a prediction that miR-103/107 regulates human metabolic pathways. *Molecular Genetics and Metabolism*, 2007, 91: 209-217.
- [41] Sugatan T, Hruska KA. Impaired Micro-RNA pathways diminish osteoclast differentiation and function. *J Biol Chem*. 2009; 284(7): 4667-4678.
- [42] Fan Longkun, Chen Yong, Hua Zequan, et al. MicroRNA affects bone marrow-derived stem cells, osteoblasts and osteoclasts in bone metabolism. *Chinese Journal of Tissue Engineering Research*, 2012, 16(32): 6047-6052.
- [43] Li H, Xie H, Liu W, et al. A novel microRNA targeting HDAC5 regulates osteoblast differentiation in mice and contributes to primary osteoporosis in humans. *J Clin Invest*, 2009, 119(12): 3666-3677.
- [44] Ettore Luzi, Francesca Marini. Osteogenic differentiation of human adipose tissue-derived stem cells is modulated by the miR-26a targeting of the SMAD1 transcription factor. *Journal of bone and mineral research*, 2008, 23(2): 287-95.
- [45] Fan Longkun, Hua Zequan, Jin Yan, et al. Regulatory function of miR-26a in enhancing the differentiation capacity of bone marrow mesenchymal stem cells into osteoblasts. *Journal of China Medical University*, 2012, 41(7): 591-606.

(收稿日期: 2013-05-06)

微小 RNA (miRNA) 对骨组织代谢影响的研究进展

作者：[周明旺](#)，[郭铁峰](#)，[李盛华](#)，[孙凤岐](#)，[穆欢喜](#)，[ZHOU Wangwang](#)，[GUO Tiefeng](#)，[LI Shenghua](#)，[SUN Fengqi](#)，[MU Huanxi](#)

作者单位：[周明旺, 李盛华, ZHOU Wangwang, LI Shenghua \(甘肃省中医院 730050\)](#)，[郭铁峰, 孙凤岐, 穆欢喜, GUO Tiefeng, SUN Fengqi, MU Huanxi \(甘肃中医学院 730020\)](#)

刊名：[中国骨质疏松杂志](#)



英文刊名：[Chinese Journal of Osteoporosis](#)

年，卷(期)：[2014\(1\)](#)

本文链接：http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical_zggzsszz201401019.aspx