

miRNA 在干细胞成骨分化中的调控作用

王森¹ 罗小辑² 唐大刚³ 高天乐³ 张艳亮³

重庆医科大学附属第一医院骨科, 重庆 400016

中图分类号: R336 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2015) 01-0104-03

摘要: MicroRNA(miRNA)即微小 RNA,是广泛存在于真核生物中的一类非蛋白基因表达调控因子;干细胞的成骨分化是一系列基因程序表达、精确调控的结果;而近年来研究证明,干细胞的成骨分化受到 miRNA 的严格调控,干细胞成骨分化的主要信号通路及相关转录因子均受到 miRNA 的调控。本文就 miRNA 对 BMPs/TGF β 、Wnt/ β -catenin 等干细胞成骨分化的主要信号通路的调控作用及机制,miRNA 对 Runx2、Osterix 等成骨分化的特征性下游转录因子的调控机制作一综述。目前如何可控制地使干细胞定向成骨分化是组织工程医学的热点,而研究 miRNA 在成骨分化过程中的调控作用将为这一问题提供新的解决思路和策略。

关键词: miRNA;干细胞;成骨分化;信号通路;转录因子

Regulatory role of miRNA in osteogenic differentiation of stem cells

WANG Miao, LUO Xiaoji, TANG Dagang, GAO Tianle, ZHANG Yanliang

Department of Orthopedics, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China

Corresponding author;LUO Xiaoji, Email: luoxiaoji@gmail. com

Abstract: miRNA is a non-protein regulation factor of gene expression and widely exists in eukaryotic organisms. The osteogenic differentiation of stem cells is the result of a series of gene expression program and precise regulation. Recent studies have shown that osteogenic differentiation of stem cells is strictly regulated by miRNA, and the main signaling pathways and transcription factors are regulated by the miRNA. This paper reviews the regulation mechanism of miRNA on major signaling pathways such as BMPs/TGF β and Wnt/ β -catenin, and on the characteristic downstream transcription factors as Runx2 and Osterix. Currently, the regulation and control of osteoblast differentiation by stem cells is the hot issue in engineering medicine. Study the role of miRNA in regulating osteogenic differentiation process provides new ideas and strategies to solve the problem.

Key words: miRNA; Stem cells; Osteogenic differentiation; Signal pathway; Transcription factor

1 干细胞的成骨分化受到 miRNA 的严格调控

干细胞是一种具有自我更新能力和多向分化潜能的细胞,如何可控制地使干细胞定向分化为成骨细胞是骨组织工程医学的热点和难点。综合目前的研究,学术界对干细胞成骨分化的共识是:干细胞的成骨分化是是一系列基因程序表达。精细调控的结果^[1],多种细胞因子如 BMPs、TGF β s、FGFs 等诱导干细胞成骨分化,多种信号通路如 Smad, Mapk,

Wnt, Notch, Hedgehog 参与成骨分化信号传达,多种转录因子如 Runx2, Osterix, ATF4, SOCS1, SATB2 等与成骨分化密切相关。以上的各种因素以一种彼此联系的复杂网络共同介导成骨分化这一过程^[2, 3]。然而,干细胞成骨分化的特异机制仍未完全阐明,纵然以目前公认的最强且唯一能诱导异位成骨分化的 BMPs 诱导干细胞,成骨分化也不是唯一结局,仍具有成脂肪、肌肉、软骨分化可能。所以,势必有更多的调控机制参与其中,近年来,相关研究表明:作为转录后非蛋白调控因子的 miRNA 与干细胞的成骨分化密切相关^[4, 5],研究人员发现在干细胞未分化与分化之后的内源性 miRNA 表达谱存在特征性的 miRNAs 表达差异^[5],并且使用 BMPs 诱导干细胞成骨分化后,会有特征性的 miRNAs 随即被诱导差异性表达。这些研究强烈提示干细胞的“不定向”成

基金项目: 国家自然科学基金(81272171), 国家自然科学基金(30901530)

* 通讯作者: 罗小辑, Email: luoxiaoji@gmail. com。

骨分化与 miRNA 的调控密切相关。而后的大量研究证实:干细胞的成骨分化的确受到 miRNA 的严格调控,以 BMP 为代表的成骨分化上游启动因子,以 Runx2 为代表的下游成骨分化标志性基因等均受到 miRNAs 的调控。这些 miRNAs 中,既有抑制干细胞成骨分化的 miRNA,也有促进干细胞成骨分化的 miRNA,故而研究这些 miRNA 的调控机制,将为如何可控制地使干细胞定向成骨分化这一问题提供新的思路与策略。

2 miRNAs 对成骨分化上游信号 TGFβ/BMP 的调控作用

我们已经知道,骨形态发生蛋白 BMPs,作为 TGFβ 家族成员,是目前公认的最强且唯一异位诱导成骨细胞因子,BMPs 介导干细胞成骨分化,是先与跨膜受体 BMPR 结合,随后通过 Smad 或 MAPK 信号通路级联传递信号,磷酸化下游转录因子 Runx2, Osterix 等而发挥介导成骨分化效应。研究人员^[6]在萎缩性骨不连组织中发现 miRNA-654-5P 高表达,推测其为成骨分化的抑制因子,而后在干细胞成骨分化实验中证实 miRNA-654-5P 可显著抑制干细胞的成骨分化,其机制是直接抑制了 BMP2 的 mRNA 表达,从上游降低了成骨分化信号的传递。同样的,miRNA-542-3P 亦被证实是强烈的成骨分化抑制因子,沉默 miRNA-542-3p,在切除卵巢的小鼠体内依然可检测到骨小梁的形成。研究证实 miRNA-542-3p 直接抑制 BMP7 的表达^[7];而在 Zeng 等^[8]研究中,hAscs 细胞诱导成骨与未分化之间比较,发现 miRNA-100 表达水平显著下降(3d 减少 50%),推测 miRNA-100 为干细胞成骨分化的负调控因子,随后外源转染 miRNA-100-inhibitor,证实可加强成骨分化效应,进一步实验证明 miRNA-100 以 BMPR2 为直接靶标,miRNA-100 抑制跨膜受体 BMPR2 的表达而降低成骨分化信号,抑制干细胞成骨分化。相反的,miRNA-210 却是促成骨分化的^[9],在 BMP4 诱导 ST2 细胞成骨分化过程中,miRNA-210 表达持续上调,实验证实 miRNA-210 可被 BMP4 诱导表达,高表达的 miRNA-210 直接抑制 ACR1b(TGFβ 的转录因子),从而在上游增强成骨分化信号的传递促进干细胞成骨分化。

3 miRNAs 对成骨分化重要信号通路 Wnt/β-catenin 的调控作用

Wnt/β-catenin 信号通路又称经典 wnt 信号通

路,是干细胞成骨分化中的一条重要信号通路,作用机制目前认为是胞外 wnt 蛋白与跨膜受体 Frizzled 或胞膜共受体 LRP5/6 结合,形成二聚体而后促使 β-catenin 在胞内累聚,β-catenin 进入细胞核与 T 细胞转录因子(TCF)、淋巴增强因子(LEF)结合形成复合体,激活下游 cyclinD1、c-myc、Runx2、Osx 等转录因子,从而发挥对细胞增殖和分化的调控作用^[10, 11],wnt/β-catenin 信号传递受 GSK3β、APC、DKKs、DSH 等因子的调控。Kapinas 等^[12, 13]研究发现,经典 wnt 信号可以诱导 miRNA-29 的表达,高表达的 miRNA-29 一方面对 Wnt/β-catenin 信号通路的抑制因子 DKK1、Kremen2、SFRP2 产生直接抑制效应,从而促成成骨分化信号的传递;另一方面 miRNA-29 又以干细胞成骨分化的下游标志性分子 OC(骨粘蛋白)为直接抑制对象,在成骨分化晚期抑制骨粘蛋白的表达水平。该课题组推测 miRNA-29 与经典 Wnt 信号通路以一个反馈回路的方式调控成骨分化。而通过上调经典 Wnt 通路信号而促进干细胞成骨分化的 miRNA 有 miRNA-27、miRNA-142-3P、miRNA-335-5P,其中 miRNA-27 与 miRNA-142-3p 在干细胞成骨分化过程中特异性上调,并直接抑制腺瘤息肉基因 APC,(APC 表达将抑制 β-catenin 的累聚),从而促进 β-catenin 累聚加强 wnt 信号;而 miRNA-335-5P 则是直接抑制 DKK1(wnt 信号通路的上游抑制因子),从而增强 wnt 信号促进成骨分化^[14-16]。

4 miRNAs 对成骨分化标志性下游基因 Runx2 等的调控作用

Runx2 又称 Cbfa1,属于 Runt/Cbfa 转录因子家族,目前的共识是,Runx2 是细胞成骨分化信号的下游关键转录因子,包含 TGFβ, Wnt, BMPs, FGFs, Hedgehog 等在内的众多信号均会通过 Runx2 启动 Osterix、骨钙素基因 1(OG1)、I 型胶原蛋白基因 Colla1 等的表达,从而促进成骨细胞分化。研究人员^[17]在 BMP2 诱导的 ST2 细胞成骨分化过程中发现 miRNA-2861 及 miRNA-3960 可被 Runx2 诱导高表达,而高表达的 miRNA-2861 与 miRNA-3960 分别抑制 HADC(组蛋白脱乙酰化酶)与 Hoxa2(同源异型基因盒),而增强 Runx2 的表达,miRNA-2861、miRNA-3960、RUNx2 组成了一个调控环路。而在 Kim 等^[18]人的研究中,C3H10T1/2 细胞处于未分化状态时,ERRγ(雌激素相关受体)将诱导 miRNA-433 的表达,miRNA-433 对 Runx2 产生直接抑制效

应,从而抑制干细胞成骨分化倾向;而当用 BMP2 诱导时,证实 BMP2 将抑制 $ERR\gamma$,从而使 miRNA-433 低表达进而提高 Runx2 活性。miRNA-433, BMP2, Runx2 组成了一个调控环路。而针对转录因子 osterix^[19-21],相对较简单地,直接抑制 osterix 表达的 miRNA 有 miRNA-214,miRNA-31,miRNA-637。

综上所述,我们可以看到,在干细胞成骨分化这一多层次复杂网络介导的过程中,miRNA 是不可或缺的一员并发挥着重要的调控作用,miRNA 对干细胞的成骨分化,兼具抑制与促进效应,其机制既有直接作用于干细胞成骨分化相关转录因子,也有间接作用于转录因子相关的因素而发挥调控作用。而随着研究的深入,更多问题亟待阐明:参与成骨分化调控的 miRNA 是如何被诱导表达的?抑制(促进)成骨分化的 miRNA 的共性是什么,是否具有同一时空效应?miRNA 对靶标的沉默机制具体是什么等等。miRNA 在体内是一个巨大的网络体系,目前的研究方兴未艾,笔者认为,伴随着更多 miRNA 对成骨分化相关因素(如 Notch、Hedgehog 等)调控的发现,以及对上述问题的解答,不仅有助于 miRNA 这一生命活动调控因子的深入认识,也将有助于可控制地使干细胞定向成骨分化这一难题的解决,进而服务临床,造福人类。

【 参 考 文 献 】

[1] Selvamurugan N, Kwok S, Vasilov A, et al. Effects of BMP-2 and pulsed electromagnetic field (PEMF) on rat primary osteoblastic cell proliferation and gene expression[J]. J Orthop Res,2007,25(9):1213-1220.

[2] Lin GL, Hankenson KD. Integration of BMP, Wnt, and notch signaling pathways in osteoblast differentiation [J]. J Cell Biochem,2011,112(12):3491-3501.

[3] Chen G, Deng C, Li YP. TGF-beta and BMP signaling in osteoblast differentiation and bone formation[J]. Int J Biol Sci, 2012,8(2):272-288.

[4] Moorthi A, Vimalraj S, Avani C, et al. Expression of microRNA-30c and its target genes in human osteoblastic cells by nano-bioglass ceramic-treatment[J]. Int J Biol Macromol,2013, 56:181-185.

[5] Vimalraj S, Selvamurugan N. MicroRNAs Expression and their Regulatory Networks During Mesenchymal Stem Cells Differentiation towards Osteoblasts[J]. International journal of biological macromolecules,2014.

[6] Wei JQ, Chen H, Zheng XF, et al. [Hsa-miR-654-5p regulates osteogenic differentiation of human bone marrow mesenchymal stem cells by repressing bone morphogenetic protein 2][J]. Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao,2012,32(3):291-295.

[7] Kureel J, Dixit M, Tyagi AM, et al. miR-542-3p suppresses osteoblast cell proliferation and differentiation, targets BMP-7 signaling and inhibits bone formation[J]. Cell Death Dis,2014, 5:e1050.

[8] Zeng Y, Qu X, Li H, et al. MicroRNA-100 regulates osteogenic differentiation of human adipose-derived mesenchymal stem cells by targeting BMPR2[J]. FEBS letters,2012,586(16):2375-2381.

[9] Mizuno Y, Tokuzawa Y, Ninomiya Y, et al. miR-210 promotes osteoblastic differentiation through inhibition of AcvR1b[J]. FEBS Lett,2009,583(13):2263-2268.

[10] Kestler HA, Kuhl M. From individual Wnt pathways towards a Wnt signalling network[J]. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci, 2008,363(1495):1333-1347.

[11] Kestler HA, Wawra C, Kracher B, et al. Network modeling of signal transduction: establishing the global view[J]. Bioessays, 2008,30(11-12):1110-1125.

[12] Kapinas K, Kessler C, Ricks T, et al. miR-29 modulates Wnt signaling in human osteoblasts through a positive feedback loop [J]. J Biol Chem,2010,285(33):25221-25231.

[13] Kapinas K, Kessler CB, Delany AM. miR-29 suppression of osteonectin in osteoblasts: regulation during differentiation and by canonical Wnt signaling[J]. J Cell Biochem,2009,108(1): 216-224.

[14] Wang T, Xu Z. miR-27 promotes osteoblast differentiation by modulating Wnt signaling[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2010,402(2):186-189.

[15] Hu W, Ye Y, Zhang W, et al. miR-142-3p promotes osteoblast differentiation by modulating Wnt signaling [J]. Molecular medicine reports,2013,7(2):689-693.

[16] Zhang J, Tu Q, Bonewald LF, et al. Effects of miR-335-5p in modulating osteogenic differentiation by specifically downregulating Wnt antagonist DKK1[J]. J Bone Miner Res, 2011,26(8):1953-1963.

[17] Hu R, Liu W, Li H, et al. A Runx2/miR-3960/miR-2861 regulatory feedback loop during mouse osteoblast differentiation [J]. J Biol Chem,2011,286(14):12328-12339.

[18] Kim E, Kang I, Lee J W, et al. MiR-433 mediates $ERR\gamma$ -suppressed osteoblast differentiation via direct targeting to Runx2 mRNA in C3H10T1/2 cells[J]. Life sciences,2013,92(10):562-568.

[19] Shi K, Lu J, Zhao Y, et al. MicroRNA-214 suppresses osteogenic differentiation of C2C12 myoblast cells by targeting Osterix[J]. Bone,2013,55(2):487-494.

[20] Wu T, Zhou H, Hong Y, et al. miR-30 family members negatively regulate osteoblast differentiation[J]. J Biol Chem, 2012,287(10):7503-7511.

[21] Zhang J F, Fu W M, He M L, et al. MiR-637 maintains the balance between adipocytes and osteoblasts by directly targeting Osterix[J]. Mol Biol Cell,2011,22(21):3955-3961.

(收稿日期:2014-08-17)

miRNA在干细胞成骨分化中的调控作用

作者：[王淼](#)，[罗小辑](#)，[唐大刚](#)，[高天乐](#)，[张艳亮](#)，[WANG Miao](#)，[LUO Xiaoji](#)，[TANG Dagang](#)，[GAO Tianle](#)，[ZHANG Yanliang](#)
作者单位：[重庆医科大学附属第一医院骨科, 重庆, 400016](#)
刊名：[中国骨质疏松杂志](#)
英文刊名：[Chinese Journal of Osteoporosis](#)
年，卷(期)：2015(1)

引用本文格式：[王淼](#).[罗小辑](#).[唐大刚](#).[高天乐](#).[张艳亮](#).[WANG Miao](#).[LUO Xiaoji](#).[TANG Dagang](#).[GAO Tianle](#).[ZHANG Yanliang](#) [miRNA在干细胞成骨分化中的调控作用](#) [期刊论文]-[中国骨质疏松杂志](#) 2015(1)