

MiRNA 对成骨分化调控及骨质疏松发生的研究进展

潘虹旭*
上海市嘉定区中心医院口腔科,上海 201800

中图分类号: R681 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2018) 01-0121-04

摘要: 微小 RNA(microRNA,miRNA)是一类具有调控功能的非编码 RNA,其主要起转录后的调控作用,在生物信号调节网络中扮演着重要的角色。miRNA 与成骨分化,骨质新生,骨改建等过程密切相关,miRNA 表达异常可导致骨质疏松等一系列骨代谢相关疾病。鉴于 miRNA 在骨代谢调控中的重要作用,本文就 miRNA 在细胞成骨分化及其与骨质疏松发病机制的研究进行综述,以期 为骨代谢相关疾病的治疗提供新的方向。
关键词: 微小 RNA;成骨分化;骨代谢;骨质疏松

Research progress in the role of miRNA in regulation of osteoblastic differentiation and occurrence of osteoporosis

PAN Hongxu*
Department of Stomatology, Central Hospital of Jiading District, Shanghai 201800, China
* Corresponding author; PAN Hongxu, Email: panhongxu2008263117@ sina. com

Abstract: MicroRNAs are a class of non-coding RNAs possessing regulatory function. They regulate gene expression in posttranscriptional way and play a vital role in the regulation network of biological signals. MiRNAs are closely related to osteoblastic differentiation, bone regeneration and reconstruction. Aberrant expression of miRNA result in a series of bone metabolism-related diseases, such as osteoporosis. Due to the crucial role of miRNA in the regulation of bone metabolism, this review mainly focuses on the functions of miRNA in the process of osteoblastic differentiation and pathogenesis of osteoporosis, which may provide new directions for the treatment of bone metabolism-related diseases.
Key words: miRNA; Osteoblastic differentiation; Bone metabolism; Osteoporosis

微小 RNA(micro RNA, miRNA)是一类长度为 16~29nt 的茎环状内源性小 RNA,其存在于所有真核细胞中,miRNA 基因大多位于非编码区内,少量位于编码区内。miRNA 的表达具有组织特异性和发育阶段特异性,其参与调控人类近 1/3 的蛋白编码基因并在细胞增殖、分化、凋亡以及个体生长发育过程中发挥着重要的作用^[1]。miRNA 对靶基因进行转录后调控,其通过与靶 mRNA 特异性结合从而诱导其降解或翻译抑制,当某些 miRNA 含量发生异常变化,其调节的靶基因表达水平也将随之改变,进而诱发相应症状^[2,3]。
骨组织中时刻发生着成骨细胞介导的骨形成和破骨细胞参与的骨吸收,两者之间维持着动态平衡

的状态,活跃的骨代谢水平使骨骼不断更新,维持骨组织健康。miRNA 可通过调控间充质组织的成骨分化和破骨细胞的分化成熟调节骨组织代谢水平,因此骨代谢相关 miRNA 的异常表达与骨质疏松等骨代谢相关疾病的发生必然具有密切的联系^[4-6]。

1 miRNA 的调节成骨分化作用

细胞命运决定及其表型分化是一个由转录因子介导的复杂过程,这些转录因子是调节细胞特征表型表达的正反馈或负反馈循环中的一员并发挥着重要的作用。miRNA 可通过调节 mRNA 活性从而有效调控相关转录因子的表达,时刻影响着细胞的各个生理过程。影响间充质干细胞的成骨向分化及成骨前体细胞分化成熟的转录因子主要有 Runx2, Osterix(OSX)及其他同源结构域蛋白,miRNA 与转录因子间相互作用,构成复杂的调控网络,协调骨组

* 通讯作者: 潘虹旭,Email:panhongxu2008263117@ sina. com

织的生成^[7]。

Runx2 是成骨早期分化即表达的转录因子,其参与了 BMPs, TGFs, Wnt, Hedgehog 等多条通路调节的成骨细胞分化过程,上调的 Runx2 又可激活下游 Osterix, Col I, ALP 等成骨相关基因的表达^[7-10]。Zhang 发现在间充质组织成骨分化过程中, miR-23 a, miR-30c, miR-34c, miR-133 a, miR-135 a, miR-137, miR-204, miR-205, miR-217, miR-218 和 miR-338 的表达与 Runx2 的表达呈负相关关系,其中除 miR-218 以外,其余 miRNA 均有抑制间充质组织成骨分化的作用^[7]。Li 用 BMP-2 诱导小鼠 ST2 细胞成骨分化时发现细胞内 miR-2861 表达增加,过表达 miR-2861 可增强 BMP-2 的诱导分化能力。miR-2861 主要通过下调组蛋白脱乙酰酶 5 (Histone deacetylase 5, HDAC5) 的表达从而抑制 Runx2 的降解,促进成骨分化^[11]。后续研究又发现与 miR-2861 同基因座的 miR-3960 同样具有促进 BMP-2 成骨诱导的作用,其主要是通过下调 Runx2 的抑制蛋白同源盒蛋白 A2 (Homeobox A2, HOXA2) 的表达实现的。反之,过表达 Runx2 又可促进 miR-3960 和 miR-2861 的表达,染色质免疫共沉淀结果显示 Runx2 可与 miR-3960/ miR-2861 的启动子结合,因此 miR-3960/ miR-2861 和 Runx2 构成正向反馈循环不断增强 ST2 细胞的成骨分化能力^[12]。当使用 BMP-2 刺激 C3H10T1/2 细胞成骨分化时,细胞内雌激素受体相关受体 (Estrogen receptor-related receptors, ERRs) 和 miR-433 发生下调,而将 miR-433 表达上调后,过表达的 miR-433 可与 Runx2 mRNA 结合抑制 BMP-2 诱导的 Runx2 表达,阻断 BMP-2 的成骨诱导分化^[13]。Tome 报道,miR-335 在人间充质细胞的分化过程中表达呈下降趋势,miR-335 的表达受 Wnt 通路调控,上调 miR-335 的表达抑制间充质细胞的增殖,迁移及成骨和成脂分化,而 Runx2 可能是 miR-335 发挥作用的一个重要靶蛋白^[14]。最近有研究显示,细胞在成骨分化过程中 Dicer 和 Runx2 的表达均上调,荧光素酶实验表明 Runx2 可促进 Dicer 的表达,Dicer 的上调进一步促进成骨诱导相关 miRNA 表达的增加,因此 Zheng 提出 Runx2/Dicer/miRNAs 级联效应在细胞成骨分化及骨组织形成中扮演着十分重要的角色^[15]。

OSX 亦名 Sp7,是诱导成骨分化的另一个重要转录因子,属 Kmppl 样家族的 SP 亚群,OSX 敲除小鼠可因骨骼矿化异常在出生后即迅速死亡。miR-143 可下调 OSX 的表达抑制 MC3T3-E1 细胞成骨分

化^[16],miR-145 抑制 OSX 表达后 C2C12 和 MC3T3-E1 细胞的成骨分化能力减弱^[17]。在小鼠原代成骨细胞中过表达 miR-93,发现,成骨细胞矿化能力明显下降,而使用 OSX 可逆转这一过程,研究表明 miR-93 仅影响了 OSX 的翻译过程,OSX mRNA 水平无明显改变^[18]。与之类似的,miR-31 亦是下调 OSX 的表达从而抑制骨髓间充质干细胞的成骨分化^[19]。有研究发现,骨质疏松人群的骨髓间充质干细胞内 miR-125b 表达量明显上调,miR-125b 可能是通过调节 OSX 的表达进而影响骨髓间充质干细胞的增殖和成骨分化^[20]。miR-214 可与 OSX mRNA 3'UTR 结合下调 OSX 表达,当给予 miR-214 抑制剂后,BMP-2 诱导 C2C12 细胞成骨分化能力显著增强^[21]。除此以外,miR-138,miR-142,miR-148 和 miR-637 均可抑制 OSX 的表达,而 miR-322 可上调 OSX 表达水平^[9, 22-24]。

2 miRNA 与骨质疏松的关系

骨质疏松是以骨显微结构受损,骨矿成分和骨基质不断减少,皮质骨变薄,骨小梁数量下降,骨脆性增加和骨折危险度升高的一种全身骨代谢障碍性疾病。miRNA 参与的表观遗传在骨代谢过程中发挥着重要的作用,极大程度地决定了相关细胞的分化方向,因此,骨质疏松的发生和 miRNA 的代谢紊乱具有密切的联系^[25]。Chen 检测绝经期妇女的血清发现 miR-30b-5p 明显下调,而后 Chen 将这一结果在去势大鼠模型上进行验证,发现两者变化趋势一致^[26]。在青少年特发性骨质疏松病例中,Li 报道部分患者可能存在 pre-miR-2861 纯合突变^[11]。通过对比去势手术小鼠和假手术小鼠的骨髓间充质干细胞 (Bone marrow mesenchymal cells, BMSCs),有研究发现 miR-26 a 在去势组的表达明显下降,该实验证实了 miR-26 a 对小鼠 BMSCs 的成骨诱导能力并肯定了 miR-26 a 作为骨质疏松的负向调控因子^[27]。以上证据表明,骨质疏松的发生伴随着相关 miRNA 的代谢紊乱,而相关 miRNA 表达水平的变化又导致了骨代谢信号通路的改变。

BMP-Smad 通路是间充质组织成骨分化过程中较为重要的信号通路之一,BMP-2 与胞膜上 BMP 受体结合后特异性激活胞内 Smad1/5/8,磷酸化的 Smad1/5/8 与 Smad-4 结合进入胞核,激活下游因子的转录过程。Xie 发现 miR-146 a 可下调 Smad4 的表达,过表达 miR-146 a 抑制了 BMP-2 诱导的脂肪来源的间充质干细胞的成骨分化,使用 miR-146 a

抑制剂后成骨分化相关蛋白 Runx2, OSX 表达水平明显上升^[28]。MiR-106b-5p 和 miR-17-5p 通过抑制 Smad5 的表达使 C2C12 和 MC3T3-E1 细胞的成骨分化能力减弱,而在沉默骨质疏松小鼠体内 miR-106b-5p 和 miR-17-5p 的表达后,小鼠骨量水平得到明显改善,这一证据提示 miR-106b-5p 和 miR-17-5p 有望成为骨质疏松临床治疗的潜在靶点^[29]。MiR-497 ~ 195 簇属于 miR-15 家族,其表达水平随着成骨细胞的分化成熟不断增加,研究显示 MiR-497 ~ 195 簇具有拮抗 BMP-Smad 信号通路的作用,而 Smad5 是其作用位点之一^[30]。MiR-100 和 miR-26 a 可作用于 Smad1 从而抑制 BMP 诱导的成骨分化,但与 miR-100 不同的是,miR-26 a 不仅作用于 BMP-Smad 信号通路,其还可作用于 Wnt 信号通路^[31, 32]。

Wnt 信号通路是诱导成骨分化的又一重要信号通路,miR-335-5p 能与 DKK1 mRNA 3' UTR 结合并下调 DKK1 的表达,GSK-3 β 发生磷酸化, β -catenin 转录活性增强,体内实验证实小鼠胚胎成骨细胞及肥大软骨细胞内 miR-335-5p 呈高表达状态^[33]。miR-9 可对 DKK1 进行转录后调控,过表达 miR-9 对 C2C12 细胞的 DKK1 转录无明显影响,但其蛋白表达水平明显下降,Wnt 通路激活,成骨分化相关基因 Col I,OCN,BSP 表达上调^[34]。miR-29 a 在人间充质前体细胞系 hFOB1.19 及成骨细胞中均有表达并且对细胞的成骨分化过程至关重要,Wnt 通路激活可诱导 miR-29 a 的表达,上调的 miR-29 a 又可下调 Wnt 通路抑制蛋白 DKK1, Kremen2 和分泌型卷曲相关蛋白 2 (secreted frizzled related protein 2, sFRP2) 的表达,反向促进 Wnt 通路的激活,miR-29 a 和 Wnt 通路二者构成正反馈调节不断放大成骨分化信号,促进间充质组织的成骨分化^[35]。与之类似的,miR-218 的表达受 Wnt 通路调控,上调的 miR-218 抑制硬骨素 (Sclerostin, SOST), DKK2 和 sFRP2 表达,形成相似的正反馈调节循环,引导细胞成骨分化^[36]。除以上信号通路以外, TGF β -Smad, IGF, Hedgehog 等信号通路在骨代谢过程中亦发挥着重要的作用,miRNA 与这些信号通路之间的相互作用仍需深入研究。

在上述关于表观遗传机制的研究中,我们发现多种 miRNA 参与了骨代谢相关的信号通路调节。然而到目前为止,仅有部分 miRNA 在人体内或去势小鼠模型上得到验证,大量 miRNA 的体内效果仍不明确,其与骨质疏松症的联系有待进一步的探索,相关的研究将有助于促进我们对骨质疏松症的认识。

3 小结

miRNA 作为转录后调控的重要一员,参与了细胞内众多转录因子的表达和调节通路的激活过程,在生物体的生长发育及疾病的发生发展过程中发挥着重要的作用。鉴于此重要性,近年来关于 miRNA 的研究已成为生命科学研究领域的热点。骨代谢相关 miRNA 时刻影响着骨质的新生与改建,miRNA 表达异常与骨质疏松密切相关,通过对这些相关 miRNA 的深入研究,将有助于我们更好地了解骨代谢与骨质疏松的发病机制。然而,现阶段研究对于 miRNA 的认识仍十分有限,不仅有大量未知 miRNA 的功能仍需学者们的继续探索;对于已知的 miRNA,其调控机制、下游靶 mRNA 的选择、表达时序性、与相关疾病的联系等问题亦需要深入研究。尽管如此,骨质疏松相关特异性表观 miRNA 标志物的识别将极大地促进骨质疏松症的临床诊断和治疗,而骨质疏松相关表观遗传调节机制研究则具有巨大的潜力。

【参考文献】

- [1] Sterniginossar N, Elefant N, Zimmermann A, et al. Host Immune System Gene Targeting by a Viral miRNA. *Science*. 2007,317 (5836):376-381.
- [2] Gu C, Bo L, Li X, Li K. Network Consistency Projection for Human miRNA-Disease Associations Inference. *Scientific reports*. 2016,6:36054.
- [3] 姜徽,谢兴文,李宁. MicroRNA 调控成骨分化与骨质疏松症相关性研究进展. *中国骨质疏松杂志*, 2014,20(3):338-342.
- [4] Jiang W, Xie WX, Li N. Research progress in microRNA regulated osteogenic differentiation and osteoporosis. *Chin J Osteoporos*. 2014,20(3):338-342.
- [5] 邓展涛,金洁雯. miRNA 与骨代谢. *中国矫形外科杂志*, 2016,24(11):1019-1022.
- [6] Deng ZT, Jin JW. MicroRNAs in regulation of bone metabolism: a literature review. *Orthopedic Journal of China*, 2016,24(11):1019-1022.
- [7] 李济伶,冯正平. MicroRNA 调控成骨细胞增殖、凋亡的研究进展. *中国骨质疏松杂志*, 2015,21(4):499-503.
- [8] Li JL, Feng ZP. Research progress of microRNA in regulating osteoblast proliferation and apoptosis. *Chin J Osteoporos*. 2015, 21(4):499-503.
- [9] 韩俊,郑苏阳,郭杨,等. miRNA 调控破骨细胞分化研究进展. *中国骨质疏松杂志*, 2015,21(11):1393-1396.
- [10] Han J, Zheng SY, Guo Y, et al. Research progress in miRNA regulation of osteoclast differentiation. *Chin J Osteoporos*. 2015, 21(11):1393-1396.
- [11] Zhang Y, Xie R, Croce CM, et al. A program of microRNAs controls osteogenic lineage progression by targeting transcription factor Runx2. *Proceedings of the National Academy of Sciences of*

- the United States of America. 2011,108(24):9863-9868.
- [8] Jun JH, Yoon WJ, Seo SB, et al. BMP2-activated Erk/MAP kinase stabilizes Runx2 by increasing p300 levels and histone acetyltransferase activity. *Journal of Biological Chemistry*. 2010, 285(47):36410-36419.
 - [9] 王森, 罗小辑, 唐大刚, 等. miRNA 在干细胞成骨分化中的调控作用. *中国骨质疏松杂志*. 2015(1):104-106.
Wang M, Luo XJ, Tang DG, et al. Regulatory role of miRNA in osteogenic differentiation of stem cells. *Chin J Osteoporos*. 2015, (1):104-106.
 - [10] Bruderer M, Richards RG, Alini M, et al. Role and regulation of RUNX2 in osteogenesis. *European Cells & Materials*. 2014,28(28):269.
 - [11] 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. *Journal of Clinical Investigation*. 2009,119(12):3666-3677.
 - [12] Hu R, Liu W, Li H, et al. A Runx2/miR-3960/miR-2861 regulatory feedback loop during mouse osteoblast differentiation. *Journal of Biological Chemistry*. 2011,286(14):12328-12339.
 - [13] Kim EJ, Kang IH, Lee JW, et al. MiR-433 mediates ER γ -suppressed osteoblast differentiation via direct targeting to Runx2 mRNA in C3H10T1/2 cells. *Life Sciences*. 2013,92(10):562-568.
 - [14] Tomé M, Lópezromero P, Albo C, et al. miR-335 orchestrates cell proliferation, migration and differentiation in human mesenchymal stem cells. *Cell Death & Differentiation*, 2010,18(6):985-995.
 - [15] Zheng L, Tu Q, Meng S, et al. Runx2/DICER/miRNA Pathway in Regulating Osteogenesis. *Journal of Cellular Physiology*. 2016,232(1):182-191.
 - [16] Li E, Zhang J, Yuan T, et al. MiR-143 suppresses osteogenic differentiation by targeting Osterix. *Molecular & Cellular Biochemistry*. 2014;390(1-2):69-74.
 - [17] Jia J, Tian Q, Ling S, et al. miR-145 suppresses osteogenic differentiation by targeting Sp7. *FEBS letters*. 2013,587(18):3027.
 - [18] Li Y, Peng C, Chao C, et al. miR-93/Sp7 function loop mediates osteoblast mineralization. *Journal of Bone & Mineral Research the Official Journal of the American Society for Bone & Mineral Research*. 2012,27(7):1598.
 - [19] Serena Rubina B, Valentina D, Donatella G, et al. MicroRNA expression profiling of human bone marrow mesenchymal stem cells during osteogenic differentiation reveals Osterix regulation by miR-31. *Gene*. 2013,527(1):321.
 - [20] Chen S, Yang L, Jie Q, et al. MicroRNA 125b suppresses the proliferation and osteogenic differentiation of human bone marrow derived mesenchymal stem cells. *Molecular Medicine Reports*. 2014,9(5):1820.
 - [21] Shi K, Lu J, Zhao Y, et al. MicroRNA-214 suppresses osteogenic differentiation of C2C12 myoblast cells by targeting Osterix. *Bone*, 2013,55(2):487.
 - [22] Fang S, Deng Y, Gu P, et al. MicroRNAs Regulate Bone Development and Regeneration. *International Journal of Molecular Sciences*. 2015,16(4):8227-8253.
 - [23] 陈煦, 王新力, 邹远康, 等. 微小 RNA 在骨质疏松症治疗中的作用及机制的研究进展. *中国骨质疏松杂志*, 2016,22(6):786-790.
 - Chen X, Wang XL, Zou YK, et al. Research advance and mechanism of miRNA in the treatment of osteoporosis. *Chin J Osteoporos*. 2016,22(6):786-790.
 - [24] Gúmez B, Rodríguezcarballo E, Ventura F. MicroRNAs and post-transcriptional regulation of skeletal development. *Journal of Molecular Endocrinology*. 2014,52(3):R179.
 - [25] 郑洁, 郭海英, 潘思京, 等. 表观遗传调控与骨质疏松症的研究进展. *基础医学与临床*, 2014, 34(03):406-409.
Zheng J, Guo HY, Pan SJ, et al. Progress of epigenetic regulation in osteoporosis. *Basic&Clinical Medicine*. 2014, 34(03):406-409.
 - [26] Jian C, Kai L, Pang Q, et al. Identification of suitable reference gene and biomarkers of serum miRNAs for osteoporosis. *Scientific reports*. 2016,6.
 - [27] 范龙坤, 华泽权, 金岩, 等. miR-26a 对小鼠骨髓间充质干细胞成骨分化能力的调控作用. *中国医科大学学报*. 2012,41(7):591-895.
Fan LK, Hua ZQ, Jin Y, et al. Regulative 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):591-895.
 - [28] Xie Q, Wei W, Jing R, et al. Effects of miR-146a on the osteogenesis of adipose-derived mesenchymal stem cells and bone regeneration. *Scientific reports*. 2017,7:42840.
 - [29] Fang T, Wu Q, Zhou L, et al. miR-106b-5p and miR-17-5p suppress osteogenic differentiation by targeting Smad5 and inhibit bone formation. *Experimental cell research*. 2016,347(1):74-82.
 - [30] G J, B R, D E, et al. MiR-497 ~ 195 cluster microRNAs regulate osteoblast differentiation by targeting BMP signaling. *Journal of Bone & Mineral Research*. 2015,30(5):796.
 - [31] Fu HL, Pan HX, Zhao B, et al. MicroRNA-100 inhibits bone morphogenetic protein-induced osteoblast differentiation by targeting Smad1. *European Review for Medical & Pharmacological Sciences*. 2016,20(18):3911.
 - [32] Su X, Liao L, Shuai Y, et al. MiR-26a functions oppositely in osteogenic differentiation of BMSCs and ADSCs depending on distinct activation and roles of Wnt and BMP signaling pathway. *Cell Death & Disease*. 2015,6(8):e1851.
 - [33] Zhang J. Effects of miR-335-5p in modulating osteogenic differentiation by specifically downregulating Wnt antagonist DKK1. *Journal of Bone & Mineral Research the Official Journal of the American Society for Bone & Mineral Research*. 2011,26(8):1953-1963.
 - [34] Liu X, Xu H, Kou J, et al. MiR-9 promotes osteoblast differentiation of mesenchymal stem cells by inhibiting DKK1 gene expression. *Molecular Biology Reports*, 2016,43(9):939-946.
 - [35] Kapinas K, Kessler C, Ricks T, et al. miR-29 modulates Wnt signaling in human osteoblasts through a positive feedback loop. *Journal of Biological Chemistry*. 2010,285(33):25221-25231.
 - [36] Hassan MQ, Maeda Y, Taipaleenmaki H, et al. miR-218 directs a Wnt signaling circuit to promote differentiation of osteoblasts and osteomimicry of metastatic cancer cells. *Journal of Biological Chemistry*. 2012,287(50):42084-42092.

(收稿日期: 2017-05-02; 修回日期: 2017-09-11)