

· 论 著 ·

miR-187-5p 对骨髓间充质干细胞成骨分化能力的调控作用

孙毅¹ 张翼飞² 李娜³ 王晓岩¹ 祖佳宁¹ 闫景龙^{1*}

1. 哈尔滨医科大学附属第二医院, 黑龙江 哈尔滨 150086

2. 哈尔滨医科大学附属第四医院, 黑龙江 哈尔滨 150026

3. 哈尔滨医科大学公共卫生学院, 黑龙江 哈尔滨 150081

中图分类号: R363 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2019) 08-1116-06

摘要: **目的** 利用小鼠骨髓间充质干细胞(BMSCs)的成骨分化模型,探讨 miR-187-5p 在成骨分化中的表达趋势及调控作用。**方法** 通过切除雌性小鼠双侧卵巢构建小鼠骨质疏松模型;应用 qRT-PCR 技术检测组织和细胞中 miR-187-5p 的表达;应用基因转染技术观察过表达或敲减 miR-187-5p 对 BMSCs 向成骨分化的影响;应用茜素红和碱性磷酸酶染色检测 BMSCs 中矿化结节的数量和矿化区域的染色面积。**结果** qRT-PCR 结果显示 miR-187-5p 在骨质疏松模型小鼠的骨组织及 BMSCs 中均表达下降。过表达 miR-187-5p 可提高 ALP、Collagen-1、Runx2、BMP4、OCN 和 OPN 等成骨分化相关基因 mRNA 的表达,促进 BMSCs 向成骨分化;而敲减 miR-187-5p 降低 ALP 等成骨分化相关基因 mRNA 的表达,抑制 BMSCs 向成骨分化。在体实验同样证实,过表达 miR-187-5p 可以显著促进骨质疏松小鼠 BMSCs 向成骨分化,改善小鼠的骨质疏松表型。**结论** 过表达 miR-187-5p 促进 BMSCs 向成骨分化,敲减 miR-187-5p 抑制 BMSCs 向成骨分化。

关键词: 骨质疏松;骨髓间充质干细胞;成骨分化;miR-187-5p

Regulative function of miR-187-5p in enhancing the differentiation capacity of bone marrow mesenchymal stem cells into osteoblasts

SUN Yi¹, ZHANG Yifei², LI Na³, WANG Xiaoyan¹, Yan Jinglong^{1*}

1.The Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150086, China

2.The Forth Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150086, China

3.The Public Heath College of Harbin Medical University, Harbin 150081, China

* Corresponding author; YAN Jinglong, Email: bjqq88@163.com

Abstract: **Objective** Using the osteoblast differentiation model of mouse bone marrow mesenchymal stem cells (BMSCs), the expression trend and regulatory effect of miR-187-5p in osteoblast differentiation were investigated. **Methods** Osteoporosis model was established by excising the bilateral ovaries of female mice. qRT-PCR was used to detect the expression of miR-187-5p in bone tissues and BMSCs. Gene transfection technique was applied to overexpress or knockdown miR-187-5p. The number of mineralized nodules and the mineralized staining areas in BMSCs were detected by Alizarin red and alkaline phosphatase staining. **Results** qRT-PCR result showed that, compare to the sham group, the expression of miR-187-5p decreased in bone tissue and BMSCs in OVX group. Overexpression of miR-187-5p effectively increased the mRNA level of osteogenic differentiation-related genes such as ALP, collagen-1, Runx 2, BMP 4, OCN, and OPN, suggesting that the overexpression of miR-187-5p promoted BMSCs to differentiate into osteoblasts. However, the knockdown of miR-187-5p effectively reduced the mRNA level of osteogenic differentiation-related genes, suggesting that the knockdown of miR-187-5p inhibited osteogenic differentiation of BMSCs. In vivo experiments also confirmed that the overexpression of miR-187-5p significantly promoted osteogenic differentiation of BMSCs in osteoporotic mice and then improved the osteoporotic phenotype of mice. **Conclusion** Overexpression of miR-187-5p promotes BMSCs osteoblast differentiation, and miR-187-5p knockdown inhibits BMSCs osteoblast differentiation.

* 通信作者: 闫景龙, Email: rryysunyi@163.com

Key words: osteoporosis; bone marrow mesenchymal stem cells; osteogenic differentiation; microRNA-187-5p

随着科技的发展,人类的寿命正在逐渐延长,骨质疏松患者的人数也呈现逐步上升的趋势。骨质疏松是一种以骨密度降低、骨组织微结构破坏为特征的全身代谢性骨病^[1-3]。然而,在不同的药物治疗过程中,经常可观察到药物有较大的不良反应,这也限制了骨质疏松治疗药物在临床上的应用。研究表明,BMSCs的成骨分化能力与某些基因的表达密切相关,这些基因的过表达或缺失均可改变BMSCs的成骨分化能力,进而对骨质疏松的发生和治疗发挥一定作用^[4-6]。miRNAs是一类长约22个核苷酸的单链非编码小分子RNA,通过抑制靶基因mRNA的翻译过程或降解靶基因的mRNA分子,介导转录后基因表达的调控^[5,7-10]。本研究旨在探讨过表达或敲减microRNA对BMSCs向成骨分化过程的影响,进而为临床骨质疏松的治疗提供全新的药物作用靶点和治疗新策略。

1 材料和方法

1.1 实验动物

C57BL/6健康小鼠,6~8周龄,17~21g,购买于哈尔滨医科大学第二附属医院实验动物中心。

1.2 试剂与仪器

DMEM培养基(美国Hyclone公司),胎牛血清(美国Gibco公司), β -甘油磷酸钠、地塞米松、抗坏血酸(赛业生物科技有限公司),microRNA mimics、AMO、NC(上海吉玛制药技术有限公司),碱性磷酸酶活性染色试剂盒(南京建成生物科技有限公司),茜素红染色试剂盒(美国Sigma公司);体式显微镜、倒置相差显微镜及照相系统(日本Nikon公司),qRT-PCR仪(瑞士Roche公司)。

1.3 小鼠骨质疏松模型(ovariectomized,OVX)的制作及BMSCs的分离培养

1.3.1 小鼠OVX模型的制作:采用C57BL/6小鼠,去势法构建骨质疏松小鼠模型^[11]。将小鼠随机分为Sham组和OVX组。经腹腔注射80 mg/kg 1.5%戊巴比妥钠麻醉,俯卧固定,剃背毛,消毒皮肤,透过菲薄的肌膜分别行双侧卵巢切除或假手术。在无菌条件下,于卵巢部的肌膜上做一长约1 cm切口,取出卵巢,以丝线结扎并切除。成功的OVX模型被定义为骨质疏松症小鼠,设计相对的假手术组(Sham组),与OVX组形成对照。

1.3.2 骨髓间充质干细胞的分离及培养:

骨髓贴壁培养法对BMSCs进行培养^[4,12],培养全程均为无菌操作。首先选取数只实验小鼠,分离小鼠腿部的胫骨和股骨,用75%乙醇漂洗数次,剪开两端骨髓端。用BMSCs专用培养液反复从两头冲洗骨髓腔,直至骨髓发白,得到骨髓细胞,接种于培养瓶,置于细胞孵化箱培养(95%空气、5%CO₂,37℃)。根据BMSCs具有贴壁生长的特性分离BMSCs。72 h后,更换细胞培养基,从而分离提纯BMSCs,3天更换1次培养液。培养到7 d时,用胰酶消化细胞并进行传代培养,同时对细胞进行纯化。本研究使用的BMSCs均是经过3~5次传代后的细胞。

1.3.3 骨髓间充质干细胞的成骨诱导分化:使用3~5代的BMSCs进行诱导分化培养。将已经分离的BMSCs以105个/mL的浓度转移到六孔细胞培养板上,于37℃ 5% CO₂的条件培养24 h。细胞融合度达到70%~80%后,将孔内的培养液吸出,加入2 mL骨髓间充质干细胞成骨诱导分化培养液进行成骨诱导分化。每3天更换一次培养液,通常需要培养14 d,用显微镜观察细胞形态变化及生长状况。

1.4 细胞转染及在体转染

1.4.1 细胞转染:使用脂质体转染法,在无菌条件下进行。首先取培养的细胞,弃去细胞培养基,加入Opti-MEM培养基,饥饿处理2 h。转染开始,利用X-treme包裹,使转染试剂更易进入细胞。在转染过程中,miR-187-5p mimics的终浓度为50 nmol/L,miR-187-5p AMO的终浓度为100 nmol/L。转染2 h后,弃去转染液体,加入中和培养液。培养1 d后弃去中和培养液,换成干细胞完全培养基进行培养。

1.4.2 在体转染:实验事先构建出miR-187-5p mimics与mimics NC质粒重组体以及质粒脂质体复合物。取实验所用小鼠,将30 μ L质粒脂质体复合物用900 μ L OMEM培养基稀释,经尾静脉快速注射完全液体。

1.5 碱性磷酸酶染色(alkaline phosphatase,ALP)及茜素红染色(alizarin red S,ARS)

1.5.1 ALP染色:取出已经分化完毕的BMSCs,吸出弃去培养液,用PBS缓冲液冲洗3次。每孔加入500 μ L 4%多聚甲醛固定20 min,用PBS缓冲液冲洗,每孔加1 mL孵育液,37℃孵育4 h,弃净孵育液,每孔加入500 μ L 2%硝酸钴,常温孵育3~5 min。弃净孵育液,用PBS缓冲液冲洗,每孔加入500 μ L 1%硫酸铵溶液,常温放置2 min。反应完

毕,弃去溶液,使用 PBS 缓冲液清洗,并用倒置显微镜进行拍照分析。

1.5.2 ARS 染色:取已经分化完毕的 BMSCs,吸出培养液弃去,用 PBS 缓冲液清洗细胞 1~2 次,之后每孔加入 500 μ L 4% 多聚甲醛,室温固定细胞 20 min。细胞固定完毕后,再用 PBS 缓冲液清洗 2~3 次,之后每孔加 500 μ L 茜素红,室温放置 20 min。染色完毕,弃去进行分析染色液,用 PBS 缓冲液清洗细胞,使用倒置显微镜对已染色细胞进行拍照。

1.6 PCR

1.6.1 RNA 提取分离:BMSCs 细胞弃去上清液,胰酶消化,离心 (250 g, 5 min),弃去上清液。加入 1 mL Trizol 溶液,将细胞吹匀,转移至 EP 管内,4 $^{\circ}$ C 放置 30 min,使之充分裂解。加入 200 μ L 氯仿,剧烈震荡 15 s,室温静置 3 min 后放入离心机中离心 (13 500 r/min, 15 min, 4 $^{\circ}$ C)。转移上清液至 EP 管内,加入等体积的异丙醇,室温静置 10 min 离心 (13 500 r/min, 10 min, 4 $^{\circ}$ C)。弃去上清液,加入 1 mL 75% 的乙醇,使沉淀悬浮,放入离心机中离心 (10 600 r/min, 5 min, 4 $^{\circ}$ C)。弃去上清液,置通风处干燥 EP 管,加入 6~10 μ L DEPC,将沉淀溶解混匀,顺离,并测定浓度。

1.6.2 反转录:取已经测好浓度的 cRNA 样品,按下列体系加入 20 μ L 于 EP 管内,并放到反转录仪中。

1.6.3 qRT-PCR:反转录完成后的测 cDNA 样及 PCR 试剂盒,按体系加入 PCR 板中,经过变性、退火、延伸、保存。

1.6.4 PCR 引物序列见表 1。

1.7 统计学处理

数据均利用 Graphpad Prism 5.0 软件进行分析,并采用单因素方差分析检验差异 (One-ANOVA) 的显著性,多组数据之间的显著性采用 TURKEY 法比较,双尾概率以 $P<0.05$, $P<0.01$, $P<0.001$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 miR-187-5p 在骨质疏松小鼠骨组织及 BMSCs 中表达下降

在成功构建小鼠骨质疏松模型 8 周后,我们应用 qRT-PCR 技术检测 Sham 组和 OVX 组小鼠的骨组织和 BMSCs 中 miR-187-5p mRNA 的表达。qRT-PCR 结果显示,与 Sham 组小鼠骨组织相比,miR-187-5p 在 OVX 组小鼠骨组织中的表达显著降低

表 1 PCR 引物序列

Table 1 PCR primer sequences

引物	序列 (5'-3')
ALP F	ACCAACCTGACTGACCCTTCG
ALP R	TCATGATCTCCCTGCTCAAT
BMP4 F	TCGTTACCTCAAGGGAGTGG
BMP4 R	ATGCTTGGGACTACCTTTTCG
OCN F	TTCTGCTCACTCTGCTGACC
OCN R	TTTCTAGCGGCTCTTCAAGC
OPN F	ACACTTTCACTCCAATCGTCC
OPN R	TGCCCTTTCCGTTGTTGTCC
Collagen-1 F	CAGCCGCTTCACCTACAGC
Collagen-1 R	TTTTGTATTCAATCACTGTCTTGCC
Runx2 F	AGAAGGCACAGACAGAAGCTTGA
Runx2 R	AGGAATGCGCCCTAAATCACT
mmu-miR-miR-187-5p-5p F	GCCGAGGGACGGGACGCTGCTG
mmu-miR-miR-187-5p-5p R	CAGCCACAAAAGAGCACAAT
mmu-miR-miR-187-5p-5p RT	CCTCTTCTCTCCAGCCACAAAAG AGCACAATATTTCAGGAGACAA CAGGAACACTG
U6 F	GCTTCGGCAGCACATATACTAAAAT
U6 R	CGCTTCACGAATTTGCGTGCAT

(图 1A)。同样地,分别提取了两组小鼠的 BMSCs,并检测细胞中 miR-187-5p mRNA 的表达。qRT-PCR 结果显示,与 Sham 组小鼠 BMSCs 相比,miR-187-5p 在 OVX 组小鼠 BMSCs 中的表达显著降低 (图 1B)。以上结果证实,miR-187-5p 在骨质疏松小鼠骨组织及 BMSCs 中表达下降,表明 miR-187-5p 参与了小鼠的骨质疏松进程。这提示我们,提高组织或者细胞中 miR-187-5p 的表达有可能改善小鼠的骨质疏松表型。

2.2 miR-187-5p 调控 BMSCs 成骨分化

qRT-PCR 技术检测 BMSCs 中成骨分化相关基因 ALP、Collagen-1、Runx2、BMP4、OCN 和 OPN 等 mRNA 的表达。qRT-PCR 结果显示,与 mimics-NC 相比,miR-92b mimics 组中成骨分化相关基因 ALP、Collagen-1、Runx2、BMP4、OCN 和 OPN mRNA 表达均显著升高,证明过表达 miR-187-5p 能够促进 BMSCs 向成骨分化 (图 2A)。与 AMO-NC 相比,miR-187-5p AMO 组中成骨分化相关基因 ALP、Collagen-1、Runx2、BMP4、OCN 和 OPN mRNA 表达均显著降低,表明敲减 miR-187-5p 能够显著抑制 BMSCs 向成骨分化 (图 2B)。

2.3 过表达 miR-187-5p 有效改善 OVX 小鼠骨质疏松表型

茜素红染色检测各组 BMSCs 向成骨分化能力,如图 3A 所示,Sham 组相比于 OVX 组小鼠的 BMSCs 向成骨分化能力增强;Sham + miR-187-5p

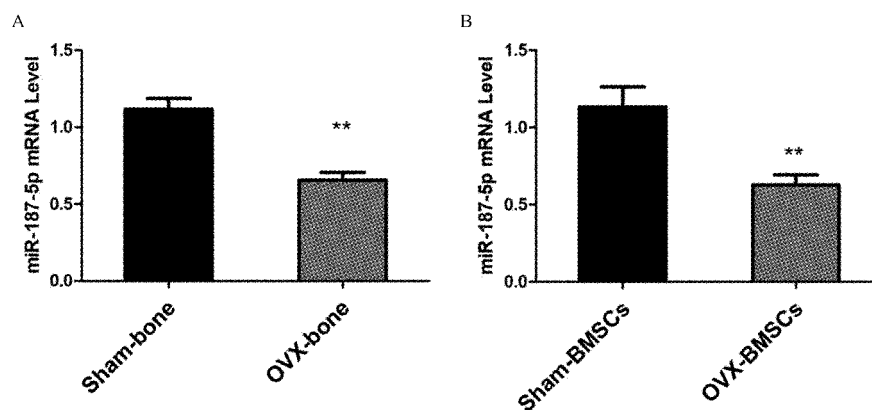


图 1 miR-187-5p 在骨质疏松小鼠骨组织及 BMSCs 中表达下降

A: qRT-PCR 检测 Sham 组和 OVX 组小鼠骨组织中 miR-187-5p mRNA 的表达; B: qRT-PCR 检测 Sham 组和 OVX 组小鼠 BMSCs 中 miR-187-5p mRNA 的表达。与 Sham 组比较, * $P < 0.05$ 。

Fig.1 The mRNA expression of miR-187-5p decreased in bone tissues and BMSCs

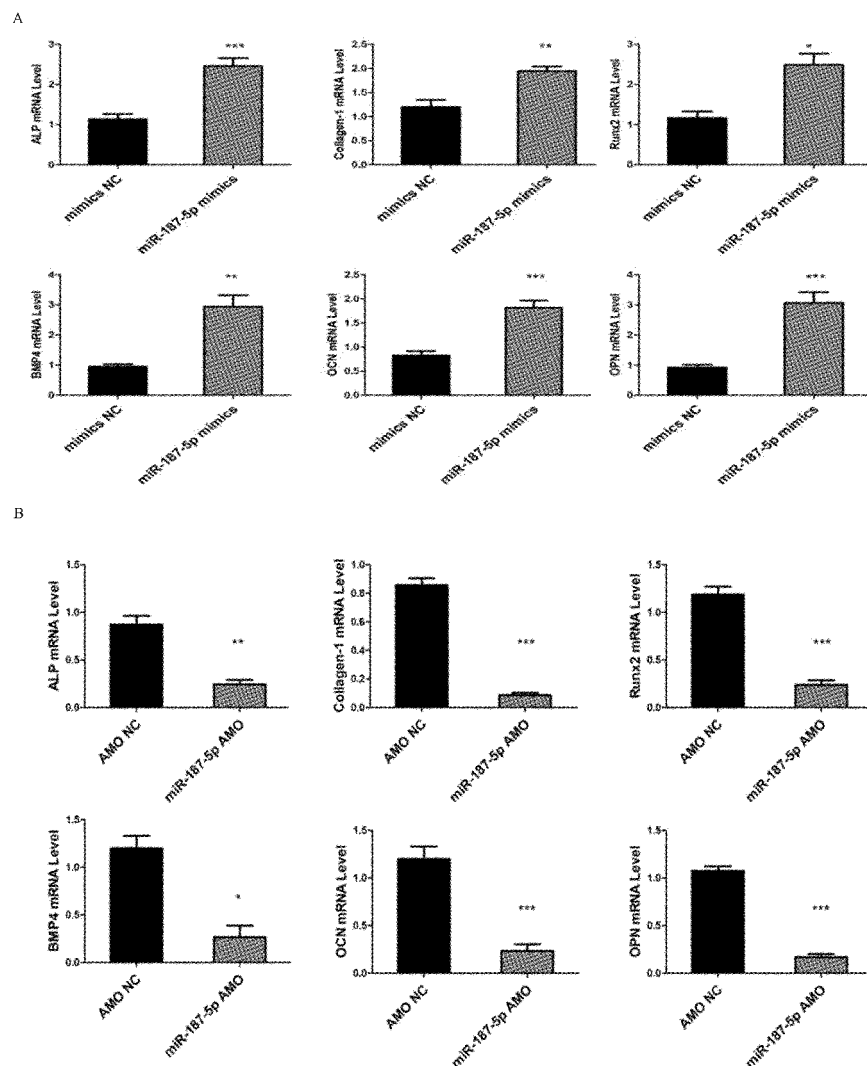


图 2 A: 过表达 miR-187-5p 促进 BMSCs 向成骨分化; B: 敲减 miR-187-5p 抑制 BMSCs 向成骨分化

注: 与 mimics NC 组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$; 与 AMO NC 组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ 。

Fig.2 (A) The overexpression of miR-187-5p promoted the osteogenic differentiation of BMSCs. (B) The knockdown of miR-187-5p inhibited the osteogenic differentiation of BMSCs

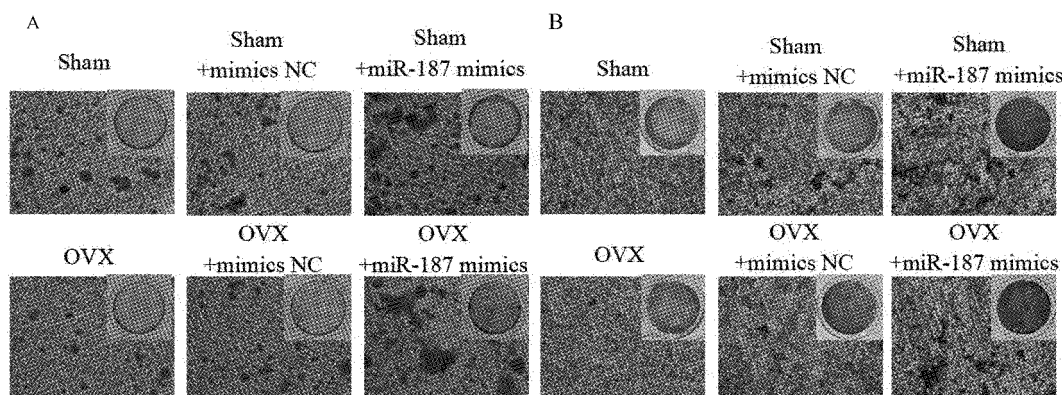


图3 过表达 miR-187-5p 有效改善 OVX 小鼠骨质疏松表型

A: 应用茜素红评价过表达 miR-187-5p 对骨质疏松模型小鼠的 BMSCs 向成骨分化的影响; B: 应用碱性磷酸酶染色评价过表达 miR-187-5p 对骨质疏松模型小鼠的 BMSCs 向成骨分化的影响。

Fig.3 The overexpression of miR-187-5p ameliorated the osteogenic differentiation of BMSCs in OVX mice

mimics 组与 Sham + mimics-NC 组相比, OVX + miR-187-5p mimics 组与 OVX + mimics-NC 组相比, 转染 miR-187-5p mimics 均可使染色程度较深, 表明过表达 miR-187-5p 可有效促进 BMSCs 向成骨分化。碱性磷酸酶染色检测各组 BMSCs 向成骨分化的能力, 如图 3B 所示, Sham 组小鼠相比于 OVX 小鼠的 BMSCs 向成骨分化能力更加显著; Sham + miR-187-5p mimics 组与 Sham + mimics-NC 组相比, OVX + miR-187-5p mimics 组与 OVX + mimics-NC 组相比, 转染 miR-187-5p mimics 的小鼠 BMSCs 的染色程度明显加深, 表明过表达 miR-187-5p 可有效促进 BMSCs 向成骨分化。以上结果表明, 过表达 miR-187-5p 不但可以促进正常小鼠的 BMSCs 向成骨分化, 对骨质疏松小鼠的 BMSCs 向成骨分化也有一定的促进作用。

3 讨论

骨质疏松的发病机制是成骨细胞与破骨细胞转换失衡所致, 当破骨细胞活性强于成骨细胞, 会导致骨密度降低, 继而引发骨质疏松^[2,13-14]。BMSCs 在体外特定诱导条件下具有分化为多种细胞的能力。近年来有大量研究表明, 在一定的环境诱导下, 可以分化为成骨细胞, 而 BMSCs 又因其易于提取分离和在体外可大量增殖等特点, 已经成为一类有望参与骨质疏松临床治疗的种子细胞^[13-18]。有研究证实, microRNA 可以促进 BMSCs 向成骨分化, 例如 miR-23a/b、miR-22、miR-563 等^[1-3,9,19-20], 同时也可以负向调控 BMSCs 成骨分化, 例如 miR-214、miR-503-5p、miR-138、miR-449c-5p、miR-93-5p 等^[8,16-18,21]。

在本研究中, 首先检测了假手术组小鼠和骨质疏松模型小鼠的骨组织及 BMSCs 中 miR-187-5p 的表达, 发现骨质疏松小鼠骨组织和 BMSCs 中 miR-187-5p 表达均显著下降。提示提高 miR-187-5p 的表达也许可以改善骨质疏松的症状。miR-187-5p 是在人类、马和小鼠等动物的组织中广泛表达, 并且是序列高度保守的一种 miRNA 分子。miR-187-5p 在肿瘤、免疫、感染、代谢等多个领域均发挥了重要的调控作用。

我们在体内检测了过表达 miR-187-5p 对骨质疏松模型小鼠 BMSCs 向成骨分化能力的影响。通过在体基因转染技术将 miR-187-5p mimics 分别转染到骨质疏松模型小鼠和假手术组小鼠尾静脉。染色结果显示, 无论是假手术组小鼠还是骨质疏松模型组小鼠的 BMSCs, 其成骨分化的能力均明显提高, 表明过表达 miR-187-5p 可有效促进 BMSCs 向成骨分化。本研究虽然在体内体外分别验证了小鼠 BMSCs 的成骨分化能力, 但是并没有确定其成骨分化的靶基因, 生物预测软件 Target Scan 显示 miR-187-5p 共有 4 000 多个靶基因, 因此寻找 miR-187-5p 成骨分化的下游靶基因是本研究接下来要完成的任务。

综上所述, 本研究成功的证明了过表达 miR-187-5p 对 BMSCs 向成骨分化具有促进作用。通过促进 BMSCs 成骨分化, 进而提高骨质疏松患者骨密度, 达到治疗骨质疏松的目的, 为治疗骨质疏松提供了一种新的方案。

(下转第 1133 页)

- [7] Yilmaz Y, Yonal O, Kurt R, et al. Serum levels of omentin, chemerin and adiponin in patients with biopsy-proven nonalcoholic fatty liver disease [J]. Scand J Gastroenterol, 2011, 46(1): 91-97.
- [8] Bozaoglu K, Bolton K, Mcmillan J, et al. Chemerin is a novel adipokine associated with obesity and metabolic syndrome [J]. Endocrinology, 2007, 148(10): 4687-4694.
- [9] Ozdemir A, Ucar M. Standardization of spine and hip BMD measurements in different DXA devices [J]. Eur J Radiol, 2007, 62(3): 423-426.
- [10] Compston JE, Flahive J, Hosmer DW, et al. Relationship of weight, height, and body mass index with fracture risk at different sites in postmenopausal women: the Global Longitudinal study of Osteoporosis in Women (GLOW) [J]. J Bone Miner Res, 2014, 29(2): 487-493.
- [11] Luis de DA, Aller R, Izaola O, et al. Role of rs6923761 gene variant in glucagon-like peptide 1 receptor in basal GLP-1 levels, cardiovascular risk factor and serum adipokine levels in naïve type 2 diabetic patients [J]. J Endocrinol Invest, 2014, 29(4): 1-5.
- [12] Alissa EM, Alnahdi WA, Alama N, et al. Relationship between the components of the metabolic syndrome and measures of bone mineral density in post-menopausal women [J]. J Diabetes Mellitus, 2014, 4(2): 155-164.
- [13] Yilmaz Y. Review article: non-alcoholic fatty liver disease and osteoporosis --clinical and molecular crosstalk [J]. Aliment Pharmacol Ther, 2012, 36(4): 345-352.
- [14] Napoli N, Strollo R, Sprini D, et al. Serum 25-OH Vitamin D in relation to Bone Mineral Density and Bone Turnover [J]. Inter J Endocrinol, 2014, 2014(5): 487463.
- [15] Sharma S, Tandon VR, Mahajan S, et al. Obesity: Friend or foe for osteoporosis [J]. J Midlife Health, 2014, 5(1): 6-9.
- [16] Muruganandan S, Sinal CJ. The impact of bone marrow adipocytes on osteoblast and osteoclast differentiation [J]. Iubmb Life, 2014, 66(3): 147-155.

(收稿日期: 2018-06-17;修回日期: 2018-07-11)

(上接第 1120 页)

【参考文献】

- [1] Cauley J A. Screening for osteoporosis [J]. JAMA, 2018, 319(24): 2483-2485.
- [2] Chen H, Wang Y, Dai H, et al. Bone and plasma citrate is reduced in osteoporosis [J]. Bone, 2018, 114: 189-197.
- [3] Jin J. Screening for osteoporosis to prevent fractures [J]. JAMA, 2018, 319(24): 2566.
- [4] Yang F, Yang L, Li Y, et al. Melatonin protects bone marrow mesenchymal stem cells against iron overload-induced aberrant differentiation and senescence [J]. J Pineal Res, 2017, 63(3): doi.10.
- [5] Zhang GP, Zhang J, Zhu CH, et al. MicroRNA-98 regulates osteogenic differentiation of human bone mesenchymal stromal cells by targeting BMP2 [J]. J Cell Mol Med, 2017, 21(2): 254-264.
- [6] Zhang J, Yu X, Yu Y, et al. MicroRNA expression analysis during FK506-induced osteogenic differentiation in rat bone marrow stromal cells [J]. Mol Med Rep, 2017, 16(1): 581-590.
- [7] Wei F, Yang S, Guo Q, et al. MicroRNA - 21 regulates osteogenic differentiation of periodontal ligament stem cells by targeting Smad5 [J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 16608.
- [8] Xu R, Zhao M, Yang Y, et al. MicroRNA-449c-5p inhibits osteogenic differentiation of human VICs through Smad4-mediated pathway [J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 8740.
- [9] Yan GQ, Wang X, Yang F, et al. MicroRNA-22 promoted osteogenic differentiation of human periodontal ligament stem cells by targeting HDAC6 [J]. J Cell Biochem, 2017, 118(7): 1653-1658.
- [10] Yao S, Zhao W, Ou Q, et al. MicroRNA - 214 suppresses osteogenic differentiation of human periodontal ligament stem cells by targeting ATF4 [J]. Stem Cells Int, 2017, 2017: 3028647.
- [11] 祁珊珊, 杨伟琦, 庞田田, 等. 去卵巢法建立 SD 大鼠绝经后骨质疏松模型手术探讨 [J]. 中国兽医杂志, 2014, 50(2): 27-29.
- [12] Yang F, Yan G, Li Y, et al. Astragalus Polysaccharide attenuated iron overload-induced dysfunction of mesenchymal stem cells via suppressing mitochondrial ROS [J]. Cell Physiol Biochem, 2016, 39(4): 1369-1379.
- [13] 姜微, 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 [J]. 中国骨质疏松杂志 (2014). 20(03): 338-342.
- [14] 周明旺, 郭铁峰, 李盛华. 微小 RNA (MiRNA) 对骨组织代谢影响的研究进展 [J]. 中国骨质疏松杂志, 2014, 20(1): 84-90.
- [15] Deng L, Hu C, Jin L, et al. Involvement of microRNA-23b in TNF-alpha-reduced BMSC osteogenic differentiation via targeting runx2 [J]. J Bone Miner Metab, 2018, 36(6): 648-660.
- [16] Liu J, Li Y, Luo M, et al. MicroRNA-214 inhibits the osteogenic differentiation of human osteoblasts through the direct regulation of baculoviral IAP repeat-containing 7 [J]. Exp Cell Res, 2017, 351(2): 157-162.
- [17] Liu L, Liu M, Li R, et al. MicroRNA-503-5p inhibits stretch-induced osteogenic differentiation and bone formation [J]. Cell Biol Int, 2017, 41(2): 112-123.
- [18] Tsukamoto S, Lovendorf MB, Park J, et al. Inhibition of microRNA-138 enhances bone formation in multiple myeloma bone marrow niche [J]. Leukemia, 2018, 32(8): 1739-1750.
- [19] Guo Q, Chen Y, Guo L, et al. miR-23a/b regulates the balance between osteoblast and adipocyte differentiation in bone marrow mesenchymal stem cells [J]. Bone Res, 2016, 4: 16022.
- [20] Zhang H, Xu C, Liu Y, et al. MicroRNA-563 promotes the osteogenic differentiation of posterior longitudinal ligament cells by inhibiting SMURF1 [J]. Zhonghua Wai Ke Za Zhi, 2017, 55(3): 203-207.
- [21] Zhang Y, Wei QS, Ding WB, et al. Increased microRNA-93-5p inhibits osteogenic differentiation by targeting bone morphogenetic protein-2 [J]. PLoS One, 2017, 12(8): e0182678.

(收稿日期: 2018-07-06;修回日期: 2018-08-07)