

· 论 著 ·

淫羊藿苷对兔股骨 MEG3、H19 和 DANCER 表达的影响

张传志 周庚 胡晓波 刘莉*

重庆市中医院(重庆市第一人民医院)骨二科,重庆 400100

中图分类号: R681 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2019) 10-1437-05

摘要: **目的** 研究淫羊藿苷对去卵巢新西兰白兔不同部位骨中链非编码 RNA 母系表达基因 3 (maternally expressed gene 3, MEG3)、H19、DANCER/ANCER(anti-differentiation ncRNA)和骨形态发生蛋白 2(bone morphogenetic protein 2, BMP2)的表达情况。**方法** 选取 48 只新西兰白兔(7 月龄)制作骨质疏松组模型,根据体重随机分为假手术组、去卵巢模型组(OVX)和淫羊藿苷治疗组(OVX 加治疗)。淫羊藿苷治疗组于术后第 4 周开始采用淫羊藿苷[20 mg/(kg·d)]灌胃给药,去卵巢模型组与假手术组每天给予等量的生理盐水灌胃,持续 8 周。术后 12 周通过 μ CT 图像进行三维重建来评价骨质疏松模型的建立以及股骨的 BV/TV、Tb·Th、Tb·N、BS/BV、Tb·Sp 等的变化;术后 12 周时通过 qRT-PCR 检测股骨、椎骨、颅骨组织中链非编码 RNA MEG3、H19、DANCER 的表达水平以及 Runx2 的 mRNA 表达水平;通过免疫组化检测股骨石蜡切片中 BMP2 的表达情况。**结果** 与去卵巢模型组相比,淫羊藿苷通过降低长链非编码 RNA MEG3、H19 和 DANCER 的水平提高了骨质疏松兔股骨的骨小梁体积,其对椎骨中三种 lncRNA 的影响表现为使 MEG3 的表达水平降低了($P<0.05$),对颅骨的影响集中在 DANCER 的表达变化方面。接受淫羊藿苷治疗的兔的股骨, BMP2 的表达情况最高。**结论** 研究淫羊藿苷对 lncRNA 的影响,对骨质疏松的治疗具有指导意义。

关键词: 淫羊藿苷;长链非编码 RNA;母系表达基因 3;H19;DANCER;骨形态发生蛋白 2

Effect of icariin on the expression of lncRNA MEG3, H19 and DANCER in rabbit bone

ZHANG Chuazhi, ZHOU Yu, HU Xiaobo, LIU Li*

Second Department of Orthopedics, Chongqing Hospital of Traditional Chinese Medicine (the First People's Hospital of Chongqing), Chongqing 400100, China

* Corresponding author; LIU Li, Email: 277589956@qq.com

Abstract: **Objective** To study the effects of icariin on the expression of long non-coding RNA MEG3 (maternally expressed gene 3), H19, DANCER/ANCER (anti-differentiation ncRNA) and BMP2 in different parts of the bone of New Zealand white rabbits after ovariectomy. **Methods** 48 New Zealand white rabbits (age of 7 months) were used to make the model of osteoporosis group, which was randomly divided into 3 groups as sham operation Group, ovariectomized model group (OVX) and icariin treatment Group (OVX plus treatment) according to body weight. From the 4th week after operation, the treatment group received gastric administration of icariin [20 mg/(kg·d)], and the sham and OVX groups received the same amount of saline every day for 8 weeks. Three-dimensional reconstruction of μ CT images was performed 12 weeks after operation to evaluate the establishment of osteoporosis model and femur BV/TV, Tb·Th, Tb·N BS/BV, Tb·Sp and other changes. The expression level of long chain non-encoded RNA MEG3, H19 and DANCER and the mRNA expression level of Runx2 in femur, vertebrae and skull tissue and were detected by qRT-PCR at 12 weeks after operation. Immunohistochemistry was used to detect the expression of BMP2 in femoral paraffin section. **Results** Compared with the ovariectomized model group, icariin reduced the level of long-chain non-coding RNA MEG3, H19 and DANCER to improve the volume of femoral trabeculae in osteoporosis rabbits, while the effect of icariin on the three lncRNAs in the vertebrae was mainly on reducing the expression level of MEG3 ($P<0.05$), and the influence on the skull was mainly on the changes in DANCER expression. The expression of BMP2 in femur treated by icariin was the highest. **Conclusion** Studying the effect of icariin on lncRNA has guiding significance for the treatment of osteoporosis.

Key words: icariin; lncRNA; MEG3; H19; DANCER; BMP2

* 通信作者: 刘莉, Email: 277589956@qq.com

绝经后骨质疏松症是由雌激素水平下降引起的一种全身性骨代谢疾病,其发病率在老年妇女中高

达 52%^[1]。既往研究^[2]表明, mRNA 在细胞增殖、分化、分裂、凋亡和信号转导过程中起着重要作用,并参与了多种疾病的发生和发展。而最近的研究^[3-4]证实,各种长链非编码 RNA (long non-coding RNA, lncRNA) 如母系表达基因 3 (maternally expressed gene 3, MEG3), 可通过调控转录、转录后以及表观遗传学水平来参与疾病的发生, 是一种重要的调节因子。越来越多的证据^[4-5]表明 MEG3 在调控骨髓间充质干细胞的分化过程中起着重要作用。MEG3 与 BMSC 的异常分化诱导密切相关, 但是 MEG3 与绝经后骨质疏松症的关系尚未见报道。研究发现^[6-7]长链非编码 RNA H19、DANCR 可调节成骨细胞的增殖和分化。三种长链非编码 RNA 已在体外实验中被证明了其对成骨细胞的调节作用, 但在体内的影响还未开展相关研究。淫羊藿苷是从天然植物中提取的黄酮类药物, 已被证明有促进成骨与抑制破骨的双重作用。本研究旨在通过淫羊藿苷干预骨质疏松新西兰白兔, 检测其不同部位骨的长链非编码 RNA MEG3/H19/DANCR 的表达情况, 同时研究其对股骨显微结构变化的影响。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 建立 OVX 模型:选取未生育的 7 月龄健康成年新西兰白兔 48 只, 体重 (1.6±0.29) kg。在 10 天的适应期后, 根据体重随机分为假手术组、去卵巢模型组 (OVX) 和淫羊藿苷治疗组 (OVX 加治疗)。假手术组实施手术切除双侧卵巢周围脂肪一块; 去卵巢模型组与淫羊藿苷治疗组在使用戊巴比妥钠 (30 mg/kg) 对腹腔进行注射全麻后, 行双侧卵巢切除术, 双侧切口长约 3~4 cm。术后每天观察动物的切口直至愈合。

1.1.2 淫羊藿苷给药:行双侧卵巢切除术后 4 周, 淫羊藿苷治疗组给予淫羊藿苷 [20 mg/(kg·d)] 灌胃^[8], 去卵巢模型组与假手术组每天给予等量的生理盐水灌胃, 持续 8 周。术后 12 周, 对实验动物实施安乐死后取其双侧的股骨与腰椎 (L₅) 备用。

1.2 方法

1.2.1 Micro-CT 分析骨质疏松模型的建立:用 70% 的乙醇对取得的新西兰白兔股骨进行固定。24 h 后对股骨头进行 micro-CT (SkyScan 1072) 扫描, 使用相关分析软件 (SkyScan, Belgium) 进行分析, 图像采集时所选择的电压和电流为 100 kV、98 mA, 将样本密封在紧密的塑料包里以避免在扫描过程中出现移动或样品出现脱水。对图像进行阈值分割以从背景图像中分割出骨的图像。通过配套的 3D 软件将 2D 图像通过 3D 渲染获得 3D 模型。微 CT 图像分辨率为 18.2 μm。再根据三维图像对标本的骨参数进行分析, 具体包括: 骨体积/总体积 (BV/TV), 骨表面积/骨体积 (BS/BV), 骨小梁的分离度 Tb·Sp, 骨小梁的厚度 Tb·Th, 骨小梁的数量 (Tb·N)。

1.2.2 qRT-PCR 检测:在骨质疏松模型建立的第 12 周时通过 qRT-PCR 检测两组股骨、椎骨组织中长链非编码 RNA MEG3、H19、DANCR 的表达水平以及 Runx2 的 mRNA 表达水平。根据试剂盒说明书用 Trizol 提取细胞的总 RNA (Invitrogen)。实验设 6 个复孔, 通过紫外分光光度计测定总 RNA 浓度。总 RNA 的反转录遵循反转录试剂盒 (Thermo) 操作说明, PCR 的扩增使用实时定量 PCR 的预混合溶液 SYBR Green qPCR Master Mix (Thermo), 扩增之后的 MEG 和 Runx2 的相对表达分析以 GAPDH 作为内源参照基因, 引物由上海生工合成, 具体见表 1。独立的实验重复 3 次以减少误差, 结果的计算采用 2^{-ΔΔCt} 法。

表 1 qRT-PCR 中应用的引物序列
Table 1 The primer sequences for qRT-PCR

基因	正向引物	反向引物
MEG3	5-CTGCCCCTCTACACCTCAGG-3	5-CTCTCCGCCGTCTCGCTAGGGGCT-3
Lnc-H19	5-GCACTGTATGCCCTAACCG-3	5-ATCCCTCCCTCCAACCCA-3
DANCR	5-GCGCCACTATGTAGCGGGTT-3	5-TCAATGGCTTGTGCCTGTAGTT-3
Runx2	5-ATGATGACACTGCCACCTCT-3	5-GGGATGAAATGCTTGGGAAC-3
GAPDH	5-TCACGGCAAAATCAACGGCAGCTCAAGGC-3	5-CAGCACCACTGGATGCAGCGATGATCTTCT-3

1.2.3 免疫组化检测 BMP2:采用 S-P 法, 假手术组和去卵巢模型组一抗用磷酸盐缓冲液 (PBS) 代替, 其余各步均同淫羊藿苷治疗组, 步骤如下: ①切片脱蜡入水: 将切片分别浸泡于二甲苯液中 30 min、

无水酒精中 5 min、95 % 酒精中 5 min、75 % 酒精中 5 min, 用蒸馏水清洗 2 次, 在 PBS (pH=7.4) 中浸泡 5 min; ②内源性过氧化物酶阻断: 滴加 A 液 50 μL 于切片上, 室温孵育 10 min, 在 PBS 中浸泡 5 min (3

次);③抗原修复:切片浸泡于 0.1 mol/L EDTA 修复液中,加温至 99 ℃并保持 10 min,任其自然冷却至室温,在 PBS 中浸泡 5 min(3 次);④非免疫血清封闭:滴加 B 液 50 μ L 于切片上,室温孵育 10 min,在 PBS 中浸泡 5 min(3 次);⑤滴加一抗:淫羊藿苷治疗组滴加鼠抗兔抗体,假手术组和去卵巢模型组使用 PBS 代替,室温下孵育 60 min,在 PBS 中浸泡 5 min(3 次);⑥滴加二抗:滴加羊抗鼠抗体液于切片上,室温孵育 10 min,在 PBS 中浸泡 5 min(3 次);⑦滴加抗生物-过氧化物酶溶液,室温孵育 10 min,在 PBS 中浸泡 5 min(3 次);⑧滴加过氧化物酶底物,显微镜下观察 6 min,当部分切片出现较强的棕黄色产物时,用 PBS 终止显色反应,在 PBS 中浸泡 5 min(3 次);⑨用蒸馏水冲洗,在盐酸中浸泡 2 s 后再用蒸馏水冲洗;⑩脱水、封片:在 95 % 酒精中浸泡 5 min,在无水酒精中浸泡 10 min,烘干,镜下观察,显微摄影。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 18.0 统计软件对结果数据进行统计学分析。计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示,比较采用 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 显微 CT 分析骨质疏松模型的建立

由表 2、图 1 可见,骨质疏松模型建立成功。与去卵巢模型组相比,经淫羊藿苷干预后,骨质疏松兔股骨头的 BV/TV 升高了 41.86 % ($P < 0.01$)、Tb · Th 升高 34.78 % ($P < 0.05$)、Tb · N 升高 41.05 % ($P < 0.01$)、BS/BV 降低 30.76 % ($P < 0.05$)、Tb · Sp 降低 36.58 % ($P < 0.05$)。

表 2 显微 CT 对股骨头的显微结构分析结果 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Results of micro-CT analysis of femur ($\bar{x} \pm s$)

显微结构参数	假手术组	去卵巢模型组	淫羊藿苷治疗组
BV/TV/%	0.23 $\pm$ 0.12	0.43 $\pm$ 0.13	0.61 $\pm$ 0.11 ^{**}
BS/BV/(1/mm)	5.84 $\pm$ 0.47	16.25 $\pm$ 1.37	11.25 $\pm$ 1.89 [*]
Tb · Sp/ μ m	0.05 $\pm$ 0.02	0.41 $\pm$ 0.05	0.26 $\pm$ 0.03 [*]
Tb · Th/ μ m	0.49 $\pm$ 0.07	0.23 $\pm$ 0.08	0.31 $\pm$ 0.06 [*]
Tb · N/(1/mm)	2.45 $\pm$ 0.44	0.95 $\pm$ 0.24	1.34 $\pm$ 0.04 ^{**}

注:与去卵巢模型组比较, ** $P < 0.01$; 与去卵巢模型组比较, * $P < 0.05$ 。

2.2 不同部位骨的长链非编码 RNA MEG3/H19/DANCR 的表达情况

表 3 所示,淫羊藿苷治疗组股骨中 MEG3、H19、DANCR 的表达与去卵巢模型组相比明显升高,分别

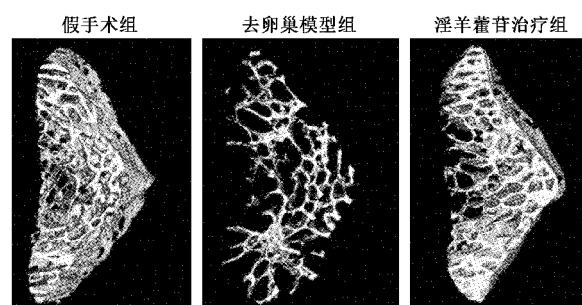


图 1 股骨 3D 图像

Fig.1 3D image of femur

升高 38.1 % ($P < 0.01$)、44.9 % ($P < 0.01$)、49.15 % ($P < 0.01$)。椎骨中 H19、DANCR 的表达与去卵巢模型组相比无明显变化 ($P > 0.05$)。MEG3 的表达与去卵巢模型组相比升高 64 % ($P < 0.01$)。颅骨中 MEG3、H19 的表达与去卵巢模型组相比无明显变化 ($P > 0.05$)。然而 DANCR 的表达与去卵巢模型组相比升高了 31.25 % ($P < 0.05$)。股骨、椎骨 (L₅)、颅骨中 Runx2 与去卵巢模型组相比分别升高 32.97 % ($P < 0.05$)、29.79 % ($P < 0.05$)、29.41 % ($P < 0.05$)。

表 3 不同部位骨中 lncRNA MEG3/H19/DANCR 的表达

Table 3 Expression of lncRNA MEG3/H19/DANCR in different bones

	基因	假手术组	去卵巢模型组	淫羊藿苷治疗组
股骨	MEC3	1.05±0.09	0.63±0.08 ^{**}	0.87±0.11 ^{**}
	lnc-H19	1.31±0.07	0.49±0.04	0.71±0.06 ^{**}
	DANCR	1.14±0.08	0.59±0.05 ^{**}	0.88±0.09 ^{**}
	Runx2	1.58±0.08	0.91±0.16 [*]	1.21±0.14 [*]
椎骨	MEC3	0.49±0.05	0.25±0.07 ^{**}	0.41±0.4 ^{**}
	lnc-H19	0.99±0.11	0.87±0.09	0.93±0.12
	DANCR	0.84±0.05	0.83±0.12	0.97±0.1
	Runx2	0.86±0.14	0.47±0.13 [*]	0.61±0.12 [*]
颅骨	MEG3	0.29±0.09	0.31±0.08	0.27±0.11
	lnc-H19	0.58±0.08	0.51±0.07	0.46±0.06
	DANCR	0.35±0.05	0.16±0.02 [*]	0.21±0.03 [*]
	Runx2	0.63±0.09	0.34±0.04 ^{**}	0.44±0.09 [*]

注:与去卵巢模型组比较, ** $P < 0.01$; 与去卵巢模型组比较, * $P < 0.05$ 。

2.3 免疫组化检测股骨颈中 BMP2 的表达

由图 2 可知,三组免疫组化结果中,淫羊藿苷治疗组胞浆、核周或细胞外基质的棕黄色颗粒状染色最多,说明淫羊藿苷治疗组股骨颈中的 BMP2 表达最高,其次为假手术组,去卵巢模型组股骨颈中的 BMP2 表达最低。

3 讨论

淫羊藿苷是淫羊藿中含量最丰富的一种黄酮类



图 2 免疫组化检测股骨颈中 BMP2 的表达

Fig.2 Immunohistochemical detection of BMP2 expression in the neck of femur

成分,具有良好的骨再生和修复作用^[9]。越来越多的证据^[10]表明淫羊藿苷可通过刺激骨形成同时抑制骨吸收而在骨转化的平衡中发挥双重作用,因此天然植物中提取的淫羊藿苷成为了防治骨质疏松症的一种具有潜力的替代品。重要的是,作为一种结构稳定的药物,它可以加载在生物材料上造成局部的释放,形成局部的骨诱导^[11-12]。最新的证据^[13]表明, lncRNA 是一种长度 ≥ 200 个核糖核酸的非编码 RNA,它在多种生物学过程(如转录调控、细胞生长和肿瘤发生)中起着重要作用。既往研究关注于骨质疏松治疗药物对 mRNA 的影响,然而越来越多的证据^[14-15]表明 MEG 3 对骨髓间充质干细胞的分化具有调控作用。研究发现^[16],绝经期后 MEG 3 和 miR-133a-3p 的表达在骨髓间充质干细胞中的表达呈正相关,长链非编码 MEG3 通过靶向调控 miR-133a-3p 的表达从而抑制绝经后骨质疏松症骨髓间充质干细胞的成骨分化。长链非编码 RNA H19 仅从母系遗传等位基因转录,不编码蛋白质, H19 在进化过程中高度保守以及外显子的突变率很低的特点使其具有重要的生物学功能,同时, H19 已被证明是成骨细胞增殖和分化的关键调节因子之一^[6,17],因此笔者推测 H19 可能与骨相关疾病有关。研究还发现 DANCER 可通过诱导的 IL-6 和 TNF- α 促进骨的吸收,可以作为绝经后骨质疏松症的生物标志物^[7]。此外, DANCER 还可调节成骨细胞的分化,是成骨细胞分化的重要介质^[18]。因此本次研究把焦点放在这 3 个长链非编码 RNA 上,探讨了淫羊藿苷对这 3 种非编码 RNA 在骨质疏松兔股骨、腰椎(L₅)、颅骨上表达的影响。笔者在淫羊藿苷干预骨质疏松模型中发现淫羊藿苷干预后股骨中 H19 的 RNA 表达上调,与之前的研究一致^[19]。

研究表明, RUNX 2 是成骨细胞生长的关键性因子,在对 821 名西班牙绝经期妇女的研究中^[20]发现, RUNX2 与腰椎和股骨的骨密度有关。此次研究通过 PCR 检测发现淫羊藿苷干预骨质疏松兔模型的 RUNX2。 BMP 2(骨形态发生蛋白-2)通过促

进间充质细胞分化为成骨细胞,从而促进骨形成与修复;此次研究的免疫组化结果显示,经淫羊藿苷治疗后的 BMP2 在股骨颈中表达最高。本次研究中证明淫羊藿苷对骨质疏松兔的模型有明显效果,与之前的研究^[9]一致,外源性的淫羊藿苷对骨质疏松的作用表现在使胫骨的骨小梁增加。有意思的是,淫羊藿苷对长链非编码 RNA (MEG3、H19、DANCER)的影响主要表现在股骨,对椎骨、颅骨的影响分别表现在 MEG3 和 DANCER 的影响,淫羊藿苷可通过促进股骨的 MEG3、H19、DANCER 的表达来促进骨质疏松的治疗。

综上,股骨中 3 个 lncRNA (MEG3、H19、DANCER)的表达与成骨基因 RUNX2 和 BMP2 表达上调有关。由于本次研究具有局限性,未来的研究可以进一步验证不同骨中 lncRNA (MEG3、H19、DANCER 等)的表达与成骨基因 RUNX2 和 BMP2 的关系,以及淫羊藿苷影响骨质疏松具体的信号转导机制。

【参考文献】

- [1] 林坦,高飞,吴燕芳,等. 50 例绝经后高疾病活动期的女性类风湿关节炎骨密度的临床观察 [J]. 中国骨质疏松杂志, 2018, 24(1):48-51.
- [2] Cobb M. Who discovered messenger RNA? [J]. Current Biology, 2015, 25(13):R526-R532.
- [3] Miyazono K, Ehata S, Koinuma D. Tumor-promoting functions of transforming growth factor- β in progression of cancer [J]. Upsala Journal of Medical Sciences, 2012, 117(2):143-152.
- [4] Tam WL, Weinberg RA. The epigenetics of epithelial-mesenchymal plasticity in cancer [J]. Nature Medicine, 2013, 19(11):1438-1449.
- [5] Wang Y, Shang Y. Epigenetic control of epithelial-to-mesenchymal transition and cancer metastasis [J]. Experimental Cell Research, 2013, 319(2):160-169.
- [6] Liu C, Yang Z, Wu J, et al. Long noncoding RNA H19 interacts with polypyrimidine tract-binding protein 1 to reprogram hepatic lipid homeostasis [J]. Hepatology, 2018, 67(5):1768-1783.
- [7] Tong X, Gu PC, Xu SZ, et al. Long non-coding RNA-DANCER in human circulating monocytes: a potential biomarker associated with postmenopausal osteoporosis [J]. Journal of the Agricultural Chemical Society of Japan, 2015, 79(5):732-737.
- [8] 张金娟,文斌,张贵林,等. 淫羊藿苷对骨质疏松模型小鼠骨组织形态计量学指标的影响 [J]. 贵州医药, 2010, 34(5):404-405.
- [9] Zhang X, Liu T, Huang Y, et al. Icariin: Does It have an osteoinductive potential for bone tissue engineering? [J]. Phytotherapy Research Ptr, 2014, 28(4):498-509.

(下转第 1462 页)

- study[J]. *Medicine*, 2017, 96(9):e6164.
- [12] Lehmann T, Aeberli D. Possible protective effect of switching from denosumab to zoledronic acid on vertebral fractures [J]. *Osteoporos Int*, 2017, 28(10): 3067-3068.
- [13] Nakamura T, Fukunaga M, Nakano T, et al. Efficacy and safety of once-yearly zoledronic acid in Japanese patients with primary osteoporosis: two-year results from a randomized placebo-controlled double-blind study (ZOledroNate treatment in Efficacy to osteoporosis; ZONE study) [J]. *Osteoporos Int*, 2017, 28(1): 1-10.
- [14] Miller PD, Pannacciulli N, Brown JP, et al. Denosumab or zoledronic acid in postmenopausal women with osteoporosis previously treated with oral bisphosphonates [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2016, 101(8): 3163.
- [15] Hsieh PC. Effectiveness and safety of zoledronic acid in the treatment of osteoporosis[J]. *Orthopedics*, 2016, 39(2):1.
- [16] Freitas-Neto CA, Willian Breno DOF, Jr Ribeiro M, et al. Unilateral uveitis with vitreous haze following zoledronic Acid therapy for osteoporosis [J]. *Semi Ophthalmol*, 2015, 30(3): 232-234.
- [17] Carda S, Cisari C, Invernizzi M, et al. Osteoporosis after stroke: a review of the causes and potential treatments[J]. *Cerebrovasc Dis*, 2009, 28(2): 191-200.
- [18] Bainbridge NJ, Davie MW, Haddaway MJ. Bone loss after stroke over 52 weeks at os calcis: influence of sex, mobility and relation to bone density at other sites [J]. *Age Ageing*, 2006, 35(2): 127-132.
- [19] Kim HD, Kim SH, Kim DK, et al. Change of bone mineral density and relationship to clinical parameters in male stroke patients[J]. *Ann Rehabil Med*, 2016, 40(6): 981-988.

(收稿日期: 2018-07-11;修回日期: 2018-11-01)

(上接第 1440 页)

- [10] Ming LG, Chen KM, Xian CJ. Functions and action mechanisms of flavonoids genistein and icariin in regulating bone remodeling [J]. *Journal of Cellular Physiology*, 2012, 228(3): 513-521.
- [11] Zhen Y, Zhou HF, Peng Z, et al. Effects of compatibility of main components from Chuanxiong Rhizoma and Astragali Radix on hypoxia damaged brain microvascular endothelial cells[J]. *Chinese Traditional & Herbal Drugs*, 2015, 46(9): 1326-1332.
- [12] Zhao J, Ohba S, Komiyama Y, et al. Icariin: a potential osteoinductive compound for bone tissue engineering[J]. *Tissue Engineering Part A*, 2009, 16(1): 233-243.
- [13] Gibb EA, Brown CJ, Wan LL. The functional role of long non-coding RNA in human carcinomas[J]. *Molecular Cancer*, 2011, 10(1): 38.
- [14] Lehner B, Kunz P, Saehr H, et al. Epigenetic silencing of genes and microRNAs within the imprinted Dlk1-Dio3 region at human chromosome 14, 32 in giant cell tumor of bone[J]. *BMC Cancer*, 2014, 14(1): 1-10.
- [15] Zhuang W, Ge X, Yang S, et al. Upregulation of lncRNA MEG3 promotes osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells from multiple myeloma patients by targeting bmp4 transcription [J]. *Stem Cells*, 2015, 33(6): 1985-1997.
- [16] Wang Q, Li Y, Zhang Y, et al. LncRNA MEG3 inhibited osteogenic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells from postmenopausal osteoporosis by targeting miR-133a-3p [J]. *Biomedicine & pharmacotherapy*, 2017, 89: 1178-1186.
- [17] Huang YP, Zheng YF, Jia LF, et al. Long Noncoding RNA H19 Promotes Osteoblast Differentiation Via TGF- β 1/Smad3/HDAC Signaling Pathway by Deriving miR-675[J]. *Stem Cells*, 2016, 33(12): 3481-3492.
- [18] Kretz M, Dan EW, Flockhart RJ, et al. Suppression of progenitor differentiation requires the long noncoding RNA ANCR [J]. *Genes & Development*, 2012, 26(4): 338-343.
- [19] Li B, Zhao J, Ma JX, et al. Overexpression of DNMT1 leads to hypermethylation of H19 promoter and inhibition of Erk signaling pathway in disuse osteoporosis[J]. *Bone*, 2018, 111: 82-91.
- [20] Bustamante M, Nogués X, Águeda L, et al. Promoter 2-1025 T/C Polymorphism in the RUNX2, Gene Is Associated with Femoral Neck BMD in Spanish Postmenopausal Women [J]. *Calcified Tissue International*, 2007, 81(4): 327-332.

(收稿日期: 2018-10-24;修回日期: 2018-11-15)