

· 论 著 ·

长链非编码 RNA GAS5 在绝经后骨质疏松症肾阴虚证的表达及对骨免疫细胞因子的调控作用

陈娟 李生强 叶云金 谢丽华 陈赛楠 葛继荣*

福建省中医药研究院骨质疏松证候基因组学重点实验室,福建 福州 350003

中图分类号: R681 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2019) 12-1691-05

摘要: 目的 研究长链非编码 RNA GAS5 (long non-coding RNA GAS5, lncRNA GAS5) 在绝经后骨质疏松症 (postmenopausal osteoporosis, PMOP) 肾阴虚证的表达及其对骨免疫相关细胞因子的调控作用。方法 随机选择绝经后妇女, 经骨密度检测和中医辨证分型, 分为肾阴虚证组 (38 例)、肾阳虚证组 (32 例) 和健康对照组 (35 名)。通过实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 检测外周血单核细胞中 lncRNA GAS5 的表达。通过慢病毒介导的 RNA 干扰技术, 抑制 THP-1 人单核细胞中 lncRNA GAS5 基因的表达, 并应用细胞因子抗体芯片技术检测骨免疫相关细胞因子的表达变化。结果 与对照组比较, lncRNA GAS5 在 PMOP 肾阴虚证组和肾阳虚证组的表达水平均明显降低 ($P < 0.01$); 与肾阳虚证组比较, 肾阴虚证组 lncRNA GAS5 的降低趋势更明显 ($P < 0.05$); RNA 干扰抑制 lncRNA GAS5 表达后, 与对照组比较, 干扰组 lncRNA GAS5 的表达下调 67.58%, 而白细胞介素 (IL-6、IL-7、IL-17)、转化生长因子 β (TGF- β 1)、集落刺激因子 (G-CSF、M-CSF) 等 23 种骨代谢相关细胞因子的表达水平显著上调, 重组人巨噬细胞炎症蛋白-1 β (MIP-1 β)、白细胞介素 1 b (IL-1 b)、胞间黏附分子-1 (ICAM-1) 等 3 种因子的表达下调。结论 lncRNA GAS5 在 PMOP 肾阴虚证中低表达; 体外抑制 lncRNA GAS5 的表达可影响骨免疫相关细胞因子水平。

关键词: 中医中药; 绝经后骨质疏松症; 肾阴虚证; 长链非编码 RNA GAS5; 细胞因子; 骨免疫

Expression of long-chain non-coding RNA GAS5 in postmenopausal osteoporosis with kidney Yin deficiency syndrome and its effect on bone immune cytokines

CHEN Juan, LI Shengqiang, YE Yunjin, XIE Lihua, CHEN Sainan, GE Jirong*

Key Research Laboratory of Osteoporosis Syndrome Genomics, Fujian Institute of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350003, China

* Corresponding author; GE Jirong, Email: gjrrjgcy@sohu.com

Abstract: Objective To study the expression of long non-coding RNA GAS5 (lncRNA GAS5) in postmenopausal osteoporosis (PMOP) with kidney Yin deficiency syndrome and its regulation on bone immune related cytokines. **Methods** Postmenopausal osteoporosis patients were randomly selected and divided to kidney Yin deficiency syndrome group (38 cases) and kidney yang deficiency syndrome group (32 cases) according to the TCM syndrome differentiation. Thirty-five healthy postmenopausal women were selected as normal control group. lncRNA GAS5 expression in peripheral blood mononuclear cells was detected using real-time fluorescence quantitative PCR (qRT-PCR). The expression of lncRNA GAS5 gene was inhibited by lentiviral-mediated RNA interference in THP-1 human monocytes. The cytokine antibody chip technology was used to detect the expression changes of bone immune-related cytokines after down-regulation of lncRNA GAS5. **Results** The expression level of lncRNA GAS5 was significantly lower in the PMOP kidney yin deficiency syndrome group and the kidney yang deficiency syndrome group ($P < 0.01$) than in the control group. Compared with the kidney yang deficiency syndrome group, the kidney yin deficiency syndrome group had a lower tendency of lncRNA GAS5. Significantly ($P < 0.05$). After inhibition of lncRNA GAS5 expression with RNA interference, lncRNA GAS5 expression was down-regulated by 67.58% in the interference group compared with that in the control group. The expression levels of interleukin (IL-6, IL-7, IL-17), transforming growth factor beta (TGF- β 1), colony stimulating factor (M-CSF, G-CSF), and other bone metabolism-related factors were significantly up-regulated, but MIP-1 β , IL-1 b, and ICAM-1

基金项目: 国家自然科学基金 (81774350)

* 通信作者: 葛继荣, Email: gjrrjgcy@sohu.com

expressions were downregulated. **Conclusion** lncRNA GAS5 is lowly expressed in PMOP kidney yin deficiency syndrome. Inhibition of lncRNA GAS5 expression affects bone immune-related cytokine levels in vitro.

Key words: Chinese medicine; kidney Yin deficiency; postmenopausal osteoporosis; lncRNA GAS5; cytokine; bone immunity

绝经后骨质疏松症 (postmenopausal osteoporosis, PMOP) 是中老年妇女的常见病,以骨强度下降和骨折风险增加为特征,严重影响着老年妇女的身心健康。中医学基于“肾主骨”理论,认为“肾精亏虚”是绝经后骨质疏松症发生的根本病因,肾虚可引起机体免疫功能下降^[1-3]。骨免疫学认为免疫系统和骨骼系统间存在相互作用,免疫失调会导致骨代谢异常,因此免疫因素在 PMOP 的发病机制中发挥着重要作用^[4]。

lncRNA GAS5 (the growth arrest-specific transcript 5, GAS5)^[5], 亦称为生长停滞特异性转录本 5, 作为肿瘤细胞的抑制因子被大家普遍认可。目前研究^[6]表明, lncRNA GAS5 能通过调控免疫细胞的增殖和活性, 参与免疫应答从而影响自身免疫性疾病的发生发展。本课题组的前期研究^[7]用 lncRNA 芯片筛选 PMOP 肾阴虚证差异表达 lncRNA, 发现 PMOP 肾阴虚证中 lncRNA GAS5 表达下调。本研究拟应用细胞因子抗体芯片技术观察 lncRNA GAS5 对骨免疫相关因子的调控作用, 初步探讨其在 PMOP 肾阴虚证发病机制中的作用。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 研究对象: 随机选择居住在福州地区自然绝经 5 年以上的汉族女性为受试者。通过双能 X 线骨密度仪检测受试者腰椎 (L₂₋₄)、左侧股骨颈、大转子及 Ward 区的骨密度; 通过填写调查问卷用于获取受试者的生活方式和健康状况信息; 运用血常规、尿常规、B 超和心电图检查排除受试者的严重疾病。经中医辨证分型, 将受试者分为肾阴虚证组 (38 例)、肾阳虚证组 (32 例) 和健康对照组 (35 名)。受试者均签署知情同意书, 且本研究方案已获福建省中医药研究院伦理委员会审批通过。纳入标准: ①西医诊断标准参照《中国人骨质疏松症建议诊断标准 (第二稿)》^[8]; ②中医证候诊断标准参照《中医药防治原发性骨质疏松症专家共识》^[1]。排除标准: ①不符合西医诊断及中医辨证标准者; ②患有类风湿性关节炎、糖尿病、甲状腺功能亢进等继发性骨质疏松症者; ③合并有严重心脑血管疾病者; ④近 1 个月内服用过中药治疗骨质疏松症者, 近 3 个月内用

过激素替代治疗、使用降钙素者, 近 6 个月内有连续 15 天使用双膦酸盐等防治骨质疏松症者。

1.1.2 实验细胞: THP-1 人单核细胞白血病细胞株, 购自中国科学院细胞库 (货号 TCHu 57)。

1.1.3 试剂: RPMI-1640 培养基 (GIBCO); 胎牛血清 (Gibco 公司); β -巯基乙醇 (GIBCO)、人外周血淋巴细胞分离液 (Solarbio 公司); lncRNA GAS5 shRNA 设计合成和慢病毒 (含有增强型绿色荧光蛋白基因序列, EGFR) 包装由赛业生物科技有限完成; Trizol 试剂 (Invitrogen 公司); PrimeScript 反转录试剂盒 (Fermentas 公司); 引物 (Takara 公司); 荧光定量 PCR 试剂盒 (Takara 公司); 人细胞因子抗体芯片 (Raybiotech 公司)。

1.1.4 仪器: 双能 X 线骨密度仪 (美国 Hologic Discovery); CO₂ 培养箱 (Thermo Scientific); 核酸检测仪 Nano2100 (美国 Agilent 公司); 荧光定量 PCR 仪 7500 FAST (美国 ABI 公司); 倒置相差显微镜 (Leica); 芯片扫描仪 (Agilent SureScan Dx Microarray Scanner, USA)。

1.2 方法

1.2.1 外周血单个核细胞的分离和 RNA 的提取: 采用人外周血淋巴细胞分离液分离提取外周血单个核细胞。通过 Trizol 方法提取总 RNA, 并通过分光光度计读取 260 nm 和 280 nm 处的吸光度值以确定 RNA 溶液的纯度。通过 1% 甲醛变性琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 的完整性。

1.2.2 实时荧光定量 PCR: 每个样本取 1 μ g 总 RNA 进行反转录, 引物序列见表 1。荧光定量 PCR 反应体系均如下: SYBR[®] Premix Ex Taq[™] GC 12.5 μ L, 上下游引物各 0.5 μ L, dH₂O 9.5 μ L, cDNA 2 μ L, 25 μ L 体系。反应条件如下: ①预变性: 95 $^{\circ}$ C, 10 s; ②变性: 95 $^{\circ}$ C, 5 s; ③退火、延伸: 60 $^{\circ}$ C, 31 s, 40 个循环。采用 ABI 7500 Real time PCR 仪检测各样本中 lncRNA GAS5 的表达情况。每个样品的 lncRNA GAS5 相对表达水平用以下公式计算: 相对 lncRNA GAS5 表达 = $2^{-\Delta Ct}$, ΔCt 值 = 靶基因 Ct 值 - GAPDH Ct 值。以甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH) 作为内参照, 每组均做 3 个重复, 取均数。

表 1 引物序列

Table 1 Primer Sequences

基因	序列号	引物序列	引物长度(bp)
GAS5	NR_002578	上游: 5'-AGC TGG AAG TTG AAA TGG -3'	150
		下游: 5'-CAA GCC GAC TCT CCA TACC-3'	
GAPDH	NM_00256799	上游: 5'-CGG AAA CTG TGC CGT CAT -3'	299
		下游: 5'-GAG TGG GTG TCG CTG TTG A -3'	

1.2.3 THP-1 细胞培养和慢病毒感染:收集对数生长期的 THP-1 细胞,接种于 96 孔板中。实验分为对照组(携带 NC-shRNA 的阴性慢病毒感染 THP-1 细胞)和干扰组(携带 GAS5-shRNA 的慢病毒感染 THP-1 细胞)。GAS5-shRNA 干扰序列为: ACTTGCCTGGACCAGCTTAAT。按照感染复数 100 (multiplicity of infection, MOI), 分别感染 shRNA-GAS5 及相应阴性对照慢病毒。24 h 后换正常培养液,转染 72 h 后通过荧光显微镜观察细胞中绿色荧光蛋白(GFP)的表达,按绿色荧光显色细胞所占百分比估计感染效率。感染效率 80% 以上时收取细胞进行 qRT-PCR 检测,验证基因沉默效果。

1.2.4 细胞因子抗体芯片检测:用 Raybiotech 裂解液提取细胞总蛋白,用 BCA 法进行蛋白定量。每个样品取 50 μ g 细胞蛋白进行芯片检测。加入 100 μ L 封闭液(Blocking Buffer),室温封闭 30 min。加入样品,置于水平摇床,70 r/min,4 $^{\circ}$ C 过夜。加入 150 μ L 1 $\times$ Wash Buffer I,室温轻摇洗涤 3 次,每次 2 min。将芯片放入洗涤盒中,加入足够量的 1 $\times$ Wash Buffer I;置于水平摇床,70 r/min,室温,洗涤 2 次。加入 Biotin Conjugated Anti-Cytokines,室温,孵育 2 h。洗涤后加入 Blocking buffer。加入稀释后的 Streptavidin-Fluor,避光,室温,孵育 2 h。洗涤后经 Agilent SureScan Dx Microarray Scanner 芯片扫描仪于 532 nm 处扫描芯片。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 17.0 软件进行数据分析,计量资料用均数 $\pm$ 标准差表示,两组间差异比较采用 *t* 检验方法,多组间比较采用 One-way ANOVA 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 研究对象基础资料的比较

如表 2 所示,年龄、绝经年龄、体质量指数(bone mass index, BMI)等指标在肾阴虚证组、肾阳虚证组与健康对照组间比较,差异无统计学意义,说明三组间具有可比性。

表 2 研究对象基础资料的比较($\bar{x}\pm s$)Table 2 Comparison of basic data among the three groups ($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	年龄/岁	绝经年龄/岁	BMI/(kg/m ²)
健康对照组	35	61.56 $\pm$ 3.87	49.56 $\pm$ 2.75	25.16 $\pm$ 3.15
肾阴虚证组	38	62.34 $\pm$ 4.12	50.16 $\pm$ 2.34	25.02 $\pm$ 3.42
肾阳虚证组	32	61.45 $\pm$ 4.31	49.47 $\pm$ 3.16	24.78 $\pm$ 2.89
<i>F</i> 值	-	0.80	0.32	0.27
<i>P</i> 值	-	0.45	0.72	0.84

2.2 lncRNA GAS5 在肾阴虚证组中的表达情况

由图 1 定量 PCR 结果可以看出,与健康对照组比较,肾阴虚证组和肾阳虚证组 lncRNA GAS5 表达水平均明显降低, $P<0.01$;且与肾阳虚证组比较,肾阴虚证组 lncRNA GAS5 的降低趋势更明显($P<0.05$)。说明 lncRNA GAS5 在肾阴虚证中低表达。

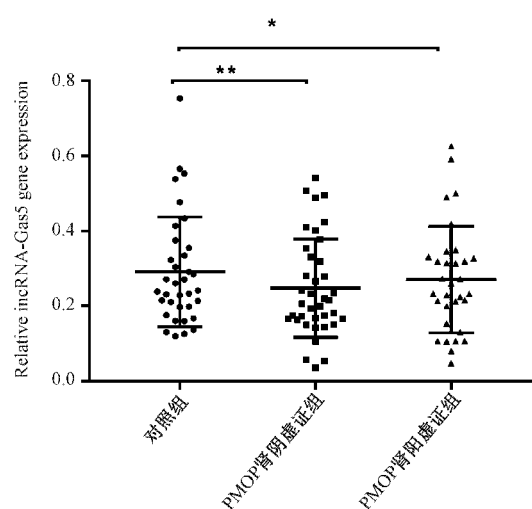


图 1 qRT-PCR 检测 lncRNA GAS5 在 PMOP 中的表达水平(* $P<0.05$,** $P<0.01$)

Fig.1 Expression of lncRNA GAS5 in women with PMOP (* $P<0.05$,** $P<0.01$)

2.3 慢病毒介导的 RNAi 抑制 THP-1 细胞中 lncRNA GAS5 的表达

如图 2 荧光显微镜下结果所示,shRNA-GAS5 干扰组和阴性对照组绿色荧光蛋白阳性细胞率 $>80\%$ 。qRT-PCR 检测结果显示(图 3),与对照组比较,干扰组 lncRNA GAS5 的表达水平明显下调,抑制效率为 67.58%,差异具有统计学意义($P<0.05$)。表明慢病毒介导的 RNAi 可以显著抑制 lncRNA GAS5 基因的表达,lncRNA GAS5 敲低的 THP-1 细胞株构建成功。

2.4 抑制 lncRNA GAS5 基因对骨代谢相关细胞因子水平的影响

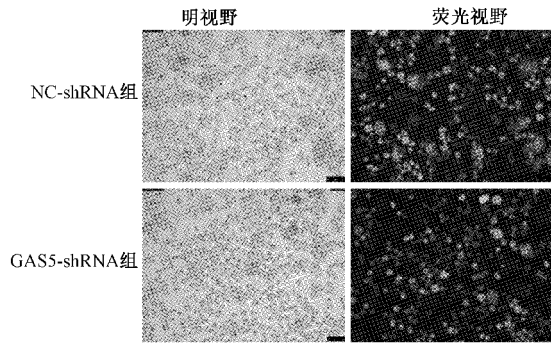


图2 慢病毒感染 72 h 后绿色荧光蛋白 (GFP) 的表达情况

Fig.2 Expression of green fluorescent protein (GFP) after 72 hours of lentivirus infection

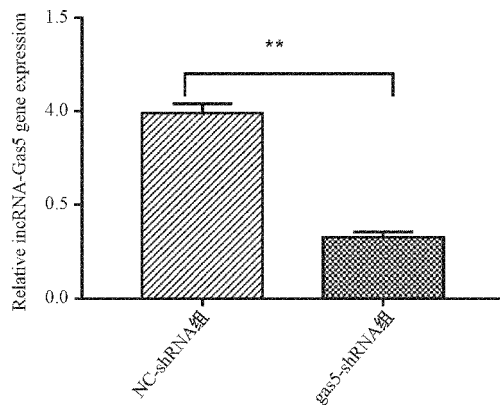


图3 qRT-PCR 检测慢病毒感染后 THP-1 细胞中 lncRNA GAS5 表达水平 (** $P < 0.0001$)

Fig. 3 Expression levels of lncRNA GAS5 determined by real-time PCR after lentivirus transduction (** $P < 0.0001$)

本研究采用的人细胞因子抗体芯片包含 40 种骨代谢相关细胞因子。通过倍数变化 (FC) 筛选差异表达的细胞因子, 选择标准 $FC > 1.5$, $P < 0.05$ 。如表 3 所示, RNA 干扰抑制 lncRNA GAS5 的表达, 与对照组相比, GAS5-shRNA 组白细胞介素 (IL-6、IL-7、IL-17)、转化生长因子 β (TGF- β 1)、集落刺激因子 (M-CSF、G-CSF) 等 23 种细胞因子的表达水平显著上调, MIP-1b、IL-1 b、ICAM-1 3 种因子的表达下调。提示, 体外抑制 lncRNA GAS5 表达可影响骨代谢相关细胞因子的表达水平。

3 讨论

绝经后骨质疏松症是由雌激素缺乏导致骨质量及骨强度降低的一种全身性骨骼疾病, 其发病机制与机体功能下降、免疫失调有关^[9]。细胞因子是骨

表 3 抑制 lncRNA GAS5 基因对细胞因子水平的影响

Table 3 Effect of inhibition of lncRNA GAS5 on cytokine expression

细胞因子	NC-shRNA 组 (OD _{532 nm})	GAS5-shRNA 组 (OD _{532 nm})	差异 倍数	变化 趋势
IL-1a	81.0±0.1	54.0±0.0	1.50	Up
IL-2	142.5±0.0	86.7±0.2	1.64	Up
IL-3	60.5±2.5	30.1±3.0	2.01	Up
IL-6	161.0±1.0	78.4±4.5	2.05	Up
IL-7	160.5±0.5	42.5±1.0	3.77	Up
IL-10	126.0±1.0	61.8±0.5	2.04	Up
IL-11	53.0±1.0	25.0±1.0	2.12	Up
IL-12	41.5±0.5	25.0±0.0	1.66	Up
IL-13	78.5±0.5	47.7±2.0	1.64	Up
IL-15	155.0±1.7	85.6±1.5	1.81	Up
IL-17	72.5±0.5	30.6±0.5	2.37	Up
G-CSF	127.5±2.5	71.1±6.5	1.79	Up
GM-CSF	140.0±4.0	83.6±4.5	1.67	Up
M-CSF	111.5±1.5	25.0±0.5	4.46	Up
IFN-gamma	133.0±3.0	76.8±1.0	1.73	Up
MCP-1	178.5±1.5	104.3±0.5	1.71	Up
MCP-2	126.5±0.5	25.0±3.0	5.06	Up
MIP-1a	42.5±0.5	25.0±0.5	1.70	Up
MIG	129.5±2.5	47.7±1.0	2.71	Up
sTNF RI	270.0±0.0	162.0±2.0	1.67	Up
sTNF RII	366.5±2.5	211.3±3.5	1.73	Up
TGF- β 1	95.5±1.5	47.7±0.0	2.00	Up
TIMP-2	191.0±2.5	85.1±2.0	2.24	Up
MIP-1b	118.1±2.0	518.8±1.5	0.23	Down
IL-1 b	76.5±1.5	224.8±0.5	0.34	Down
ICAM-1	188.0±0.7	395.2±1.4	0.48	Down

代谢和免疫系统之间的沟通桥梁, 对骨稳态的维持发挥着重要调控作用^[10]。本研究发现, lncRNA GAS5 在 PMOP 肾阴虚证中低表达。体外实验进一步证实, 下调 lncRNA GAS5 表达会影响骨代谢相关细胞因子的水平, 其中 IL-6、IL-7、IL-17、TGF- β 1、M-CSF、G-CSF 等 23 种细胞因子表达水平显著上调, 而 MIP-1b、IL-1 b、ICAM-1 3 种因子表达下调。因此笔者推测, lncRNA GAS5 可能通过对骨免疫通路的调控影响骨代谢平衡, 参与 PMOP 的发生和发展。

尽管 PMOP 的发生与多种因素有关, 但雌激素水平降低引起的免疫失衡起着重要作用。绝经后雌激素水平的降低可促进细胞因子如 IL-1、IL-6、IL-7、TNF 和干扰素 γ (IFN- γ) 的分泌, 从而影响破骨细胞前体细胞的分化和成熟^[11]。Chou^[12] 等研究也证实, 对于雌激素缺乏, 一方面能够产生促炎因子如 IL-2、IL-6、TNF- α 、TNF- β 1; 另一方面能够减少免疫细胞的凋亡, 增强破骨细胞形成, 从而影响骨吸收与骨形成的平衡。大量研究^[13-14] 表明, 炎症因子如 IL-17、IL-1 β 、TNF- α 等是绝经后妇女骨质疏松症的促

成因素。笔者发现, lncRNA GAS5 的下调引起各种细胞因子如 IL-1、IL-6、IL-17 和 TGF- β 的变化。这些因子是骨形成和骨吸收调节的关键介质。因此, lncRNA GAS5 表达的失衡影响骨免疫途径可能是骨质疏松症发生的分子机制之一。

LncRNA GAS5 在细胞生长、停滞、细胞增殖以及细胞凋亡等生物进程中发挥重要作用。近年来, LncRNA GAS5 被广泛认为是肿瘤细胞的抑制因子, 并且在各种肿瘤如前列腺癌、乳腺癌、非小细胞癌和肾癌中低表达^[15-16]。最新的研究证实, LncRNA GAS5 与自身免疫性疾病密切相关。LncRNA GAS5 在染色体 1q25 d 上的位点与系统性红斑狼疮 (SLE) 的发生具有相关性, 并且在 SLE 病人的 CD4⁺T 细胞和 B 细胞中 LncRNA GAS5 的表达水平呈明显下调趋势^[17]。Gharesouran^[18] 等发现 LncRNA GAS5 通过调节下游 NR3C1 基因参与多发性硬化的进展。此外, LncRNA GAS5 能与糖皮质激素反应元件结合, 参与糖皮质激素介导的免疫反应^[19-20]。以上研究表明, LncRNA GAS5 参与了机体的免疫调控, 为从骨免疫角度探讨其在 PMOP 中的分子机制提供了佐证。

综上所述, PMOP 的发生与雌激素缺乏导致的免疫失调密切相关, 但其分子机制还有待不断地进行挖掘分析。本研究发现, LncRNA GAS5 会影响骨代谢相关细胞因子的表达, 并且 LncRNA GAS5 在 PMOP 肾阴虚证中低表达。提示, LncRNA GAS5 表达异常可能引起免疫失调进而影响骨代谢平衡, 从而参与 PMOP 的发生发展, 但其如何发挥调控作用还需进行进一步的深入研究。

【参 考 文 献】

- [1] 葛继荣, 郑洪新, 万小明, 等. 中医药防治原发性骨质疏松症专家共识 (2015) [J]. 中国骨质疏松杂志, 2015, 21(9): 1023-1028.
- [2] 许莹萍, 邱学敏, 桂玉燕, 等. CD4⁺T 细胞在绝经后骨质疏松症发病机制中的调控作用 [J]. 中国免疫学杂志, 2016, 32(4): 584-587.
- [3] 陈兰婷, 张娜, 邱学敏, 等. 调节性 T 细胞在绝经后骨质疏松症中的作用及其分子机制 [J]. 老年医学与保健, 2018, 24(3): 347-350.
- [4] Rauner M, Buttgerit F, Distler J, et al. Osteoimmunology-IMMUNOBONE: regulation of bone by inflammation [J]. Z Rheumatol, 2018, 77(Suppl 1): 12-15.
- [5] Ma C, Shi X, Zhu Q, et al. The growth arrest-specific transcript 5 (GAS5): a pivotal tumor suppressor long noncoding RNA in human cancers [J]. Tumour Biol, 2016, 37(2): 1437-1444.
- [6] Williams GT, Mourtiada-Maarabouni M, Farzaneh F. A critical role for non-coding RNA GAS5 in growth arrest and rapamycin inhibition in human T-lymphocytes [J]. Biochem Soc Trans, 2011, 39(2): 482-486.
- [7] 陈娟, 谢丽华, 李生强, 等. lncRNA 在绝经后骨质疏松症肾阴虚证中的表达特征及调控网络分析 [J]. 中国骨质疏松杂志, 2015, 21(5): 553-559.
- [8] 中华医学会骨质疏松和骨矿盐疾病分会. 原发性骨质疏松症诊疗指南 (2017) [J]. 中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志, 2017, 10(5): 413-443.
- [9] Faienza MF, Ventura A, Marzano F, et al. Postmenopausal osteoporosis: the role of immune system cells [J]. Clin Dev Immunol, 2013, 2013: 575936.
- [10] Arboleya L, Castaneda S. Osteoimmunology: the study of the relationship between the immune system and bone tissue [J]. Reumatol Clin, 2013, 9(5): 303-315.
- [11] Brincat SD, Borg M, Camilleri G, et al. The role of cytokines in postmenopausal osteoporosis [J]. Minerva Ginecol, 2014, 66(4): 391-407.
- [12] Chou CW, Chiang TI, Chang IC, et al. Expression levels of estrogen receptor alpha mRNA in peripheral blood cells are an independent biomarker for postmenopausal osteoporosis [J]. BBA Clin, 2016, 5: 124-129.
- [13] Azizieh F, Raghupathy R, Shehab D, et al. Cytokine profiles in osteoporosis suggest a proresorptive bias [J]. Menopause, 2017, 24(9): 1057-1064.
- [14] 张萌萌. 骨质疏松分子生物学研究的昨天与今天 [J]. 中国骨质疏松杂志, 2018, 24(6): 799-805.
- [15] Thiele JA, Hosek P, Kralovcova E, et al. lncRNAs in non-malignant tissue have prognostic value in colorectal cancer [J]. Int J Mol Sci, 2018, 19(9): 2672-2688.
- [16] Xu L, Xia C, Xue B, et al. A promoter variant of lncRNA GAS5 is functionally associated with the development of osteosarcoma [J]. J Bone Oncol, 2018, 12: 23-26.
- [17] Suo QF, Sheng J, Qiang FY, et al. Association of long non-coding RNA GAS5 and miR-21 levels in CD4⁺ T cells with clinical features of systemic lupus erythematosus [J]. Exp Ther Med, 2018, 15(1): 345-350.
- [18] Gharesouran J, Taheri M, Sayad A, et al. The growth arrest-specific transcript 5 (GAS5) and nuclear receptor subfamily 3 group c Member 1 (NR3C1): novel markers involved in multiple sclerosis [J]. Int J Mol Cell Med, 2018, 7(2): 102-110.
- [19] Lucafo M, De Iudicibus S, Di Silvestre A, et al. Long noncoding RNA GAS5: a novel marker involved in glucocorticoid response [J]. Curr Mol Med, 2015, 15(1): 94-99.
- [20] Kino T, Hurt DE, Ichijo T, et al. Noncoding RNA gas5 is a growth arrest- and starvation-associated repressor of the glucocorticoid receptor [J]. Sci Signal, 2010, 3(107): a8.

(收稿日期: 2018-11-29; 修回日期: 2019-01-18)