

· 综述 ·

MicroRNA-21 与骨质疏松症相关性的研究进展

柳博¹ 徐世红² 谢兴文^{2,3*} 李宁¹ 黄睿¹ 丁聚贤¹ 钱敏¹ 郭宏刚¹ 施彦龙¹

1.甘肃中医药大学,甘肃 兰州 730000

2.甘肃省中医药研究院,甘肃 兰州 730050

3.西北民族大学附属医院,甘肃 兰州 730030

中图分类号: R68 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2020) 08-1212-06

摘要: 骨质疏松症(osteoporosis, OP)是一种以易骨折为特点的全身代谢性骨骼疾病。在老龄化程度不断加剧的当今社会,其发病率逐年呈现显著上升趋势,尤其是骨质疏松性骨折导致的后遗症、副损伤给社会及患者带来极大的经济和生活负担。近年来诸多研究发现 microRNA 具有明确的抗骨质疏松作用,随着基因疗法应用的推广, microRNA 在临床治疗骨质疏松起到了很好的靶向作用,同时相关文献阐释,尤其是其家族成员 microRNA-21 可通过调控成骨细胞和破骨细胞的分化与功能,在 OP 等骨疾病的发生发展过程中起着重要作用。本文将通过对 microRNA-21 在骨质疏松中的相关作用机制进行综述,旨在为 OP 靶向治疗及相关分子机制研究提供理论依据和新的思路。

关键词: 骨质疏松; microRNA; microRNA-21; 成骨细胞; 破骨细胞

Research progress of the correlation between microRNA-21 and osteoporosis

LIU Bo¹, XU Shihong², XIE Xingwen^{2,3*}, LI Ning¹, HUANG Rui¹, DING Juxian¹, QIAN Min¹, GUO Honggang¹, SHI Yanlong¹

1.Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730000

2.Gansu Provincial Hospital of TCM, Lanzhou 730050

3.Affiliated Hospital of Northwest University for Nationalities, Lanzhou 730030, China

* Corresponding author: XIE Xingwen, Email: 827975272@qq.com

Abstract: Osteoporosis (OP) is a common systemic metabolic bone disease characterized by bone loss, bone tissue microstructural damage, increased bone fragility, and easy fracture. With the increasing aging, its incidence has shown a significant upward trend year by year. Sequelae and Deputy injury caused by osteoporotic fractures have brought great economic and living burden to society and patients. In recent years, many studies have found that microRNAs have a clear anti-osteoporosis effect. With the promotion of gene therapy, microRNA plays a key role in the clinical treatment of osteoporosis, and related literature illustrates the family member microRNA-21 can play an important role in the development and progression of bone diseases, such as OP by regulating the differentiation and function of osteoblasts and osteoclasts. This article will review the related mechanisms of microRNA-21 in osteoporosis, aiming to provide theoretical basis and new research ideas for OP targeted therapy and related molecular mechanisms.

Key words: osteoporosis; microRNA; microRNA-21; osteoblasts; osteoclasts

骨质疏松症的主要临床表现为全身性骨痛、身体畸形及并发的骨质疏松性骨折。最新的调查^[1]表明我国 65 岁以上的老年人骨质疏松患病率为 32%。相关数据显示,当前我国大于 60 岁人口约占总人口的 10.1%^[2],因此,随着我国老龄化进程的日益加剧,该病发病率呈现逐年上升趋势。有数据^[3]

显示,预计到 2050 年,骨质疏松所导致的骨折相关医疗支出将达到 1 745 亿元。由此可见,骨质疏松现已是我国面临的重要社会公共卫生问题,但相关治疗药物存在着品种单一、副作用明显等不足之处。因此,寻找其疾病靶基因对骨质疏松的治疗将起到事半功倍的作用。近年来随着对 microRNA 的深入研究,发现其家族中 microRNA-21 在调控骨骼代谢方面起着重要的作用,尤其是在成骨细胞和破骨细胞的分化与功能方面具有举足轻重的作用。因此,

基金项目: 国家自然科学基金(81860864)

* 通信作者: 谢兴文, Email: 827975272@qq.com

本文通过文献的回顾性分析,进一步阐释 microRNA-21 在骨质疏松中的相关分子机制,为临床治疗和基础研究提供一定的借鉴。

1 MicroRNA 与骨质疏松的研究

1.1 骨质疏松的发病机制

人体中的骨骼在一生中持续不断地进行着骨重塑,即破骨细胞对受损骨组织的骨吸收和成骨细胞的新骨形成的过程,而成熟骨组织的维系依赖于骨髓间充质干细胞(bone mesenchymal stem cell, BMSCs)来源的成骨细胞的骨形成与造血干细胞(hematopoietic stem cell, HSC)来源的破骨细胞骨吸收之间的动态平衡关系^[4-5];作为一种全身代谢性骨骼疾病,OP 的发生机制主要是因为骨重塑的这种微妙动态平衡状态被打破,即体内骨代谢平衡打破,骨吸收远大于骨形成,从而表现为骨量的流失,进一步出现全身性的骨痛及各种骨折并发症。随着对 microRNA 在人体细胞增殖、分化及凋亡等过程中重要作用的揭示^[6-10],并且其在疾病发生发展过程中具有的特异性表达,为骨质疏松的全新靶向治疗方式提供了极大的可能性。

1.2 MicroRNA 与骨质疏松

MicroRNA 是一类内生长度约为 18~22 个核苷酸的单链非编码小 RNA 分子,其在细胞内具有多种重要的调节作用;microRNA 转录后水平与靶基因 mRNA 的 3'-untranslation region (3-UTR) 不完全碱基配对,进一步调控 30% 以上基因的表达^[7-9];microRNA 通过改变相应的基因表达,可以调控细胞分化、凋亡、血管生成和细胞增殖等多种细胞生理过程^[6,10],可作为维持细胞生长动态平衡的良好候选基因,也为骨质疏松的防治提供了新的方向。

随着近年来对骨质疏松发病机制的研究,越来越多的研究^[11]表明 microRNA 与骨重塑的关系密切,如 miR-214 可通过靶向 FGFR-1 减弱间充质干细胞的成骨分化,还可通过靶向 Pten/PI3k/Akt 通路促进破骨细胞形成^[12];相关研究^[13-15]发现 miRNA 家族成员 miRNA-214 和 miR-29c 可有效调控间充质干细胞成骨分化,主要表现为促进 BMP-2、Wnt/ β -Catenin 通路的激活并调控骨基质蛋白的表达。同时相关研究^[16-19]发现 miR-27、miR-2861、miR-3960、miR-335-5p、miR-204 等 microRNA 均在调控成骨分化中有特异性表达。

近年来随着对 microRNA 在抗骨质疏松机制中作用的不断深入研究,尤其是发现了其家族中

microRNA-21 在调控成骨细胞和破骨细胞的分化与功能方面起着重要作用;作为体内重要的转录后调控因子,microRNA-21 基因位于第 17 号染色体,全长 22 nt,参与体内多个生物过程,如 miRNA-21 可以通过靶向抑制紧张素同源蛋白(PTEN)及调控 TGF- β 1 信号通路抑制骨肉瘤细胞增殖^[20];亦可靶向抑制 PTEN 的表达以促进肿瘤细胞增殖和迁移^[21],此外 microRNA-21 还可通过 PTEN/PI3K/Akt/mTOR 信号通路调节高血压大鼠的病理症状和心肌细胞凋亡^[22]。关于骨质疏松的相关研究^[23]表明,microRNA-21 在 OP 患者血清中的表达明显高于对照组,并在 OP 患者并发的髌骨骨折患者中的表达水平存在显著差异^[24]。microRNA-21 在多个体内多个生物过程中均有表达,随着对其在 OP 机制中的研究不断深入,发现它在 OP 中具有显著的特异性表达,参与骨重塑过程并发挥着独特的作用^[25],现就 microRNA-21 在骨质疏松相关分子机制中的研究进行综述,为 OP 的防治提供一种新的靶标治疗方向。

2 MicroRNA-21 在 OP 中的机制研究

2.1 Micro-RNA 21 与成骨细胞的相关性

目前,相关的研究^[26-29]表明,micro-RNA 与相关的成骨因子之间存在着紧密联系,作为体内重要的转录后调控因子,参与了体内的多种生物过程,特别是肿瘤的发生发展及治疗;近年来的研究发现 microRNA-21 在调控成骨分化中也发挥着重要的作用。在研究细胞成骨分化的过程中发现,多种 microRNA 表达上调,其中包括 microRNA-21,人为调控 microRNA-21 过表达可促进细胞成骨分化及异位成骨,并促进骨折愈合以及骨质疏松患者的成骨分化^[30-31]。而间充质干细胞(MSC)分化为成骨细胞,作为成骨分化中关键的环节之一,相关研究^[32]表明 microRNA-21 可以通过促使 Sox2 的表达进而调控 MSC 成骨分化及增殖;另有研究^[33]发现当 microRNA-21 表达抑制时,TNF- α 表达上调,导致成骨受到损害,进而导致机体骨形成与骨吸收失衡;而肿瘤坏死因子 α (TNF- α)是一种具有诱导炎症介质激活、细胞凋亡及免疫调节的多效应细胞因子^[34],在骨质疏松的相关分子机制中,对成骨分化具有重要的调控作用。已有研究^[35]表明 TNF- α 能够抑制人牙周膜干细胞成骨分化,其主要作用机制为抑制 Osterix、Runx2 等成骨基因表达。综上所述,microRNA-21 可能通过调控 TNF- α 、Sox2 的表达及

NF- κ B 信号通路的激活,进一步调控成骨的分化增殖,促进骨形成。

同时有研究^[36]表明,在成骨分化中扮演着重要的角色的骨形态发生蛋白 9 (BMP-9),是一种可高效诱导成骨分化的骨形态发生蛋白 (BMPs)。在相关研究^[37]中,小鼠多向分化干细胞 (metanephric mesenchyme cell, MMC) 在由 BMP-9 介导后,发现 microRNA-21 的水平显著上调,并且二者通过发挥协同作用,进一步促进碱性磷酸酶和钙盐沉积。因此,该研究表明 MMCs 中 microRNA-21 表达及增强 BMP-9 可诱导成骨细胞形成及其矿化。

Micro-RNA 不仅可通过与相关成骨因子之间相互作用、在成骨分化中发挥作用,还可通过相关的成骨信号通路发挥调控作用;研究^[38]发现 Smad7 对 MMCs 的成骨分化具有负向调控作用,具有抑制成骨细胞的增殖、分化和矿化的作用。在骨质疏松患者血浆中发现 microRNA-21 表达下降,Smad7 处于高水平表达^[39],而 microRNA-21 则已经被证实可通过抑制 Smad7 促进 MMCs 的成骨分化^[38]。此外 BMP9/Smad 信号通路在骨重塑的过程中起着重要作用,尤其在 MSC 分化过程中起着关键作用,并在此过程中处于持续激活状态^[37],同时 microRNA-21 与 BMP9 协同作用,进一步调节 Smad7 和 BMP9/Smad 信号通路的相互作用。上述的研究进一步表明,microRNA-21 可能通过 BMP9/Smad 信号通路在成骨分化中发挥重要作用。

Liu 等^[40]发现 microRNA-21 与 SPRY1、磷酸酶和紧张素同源物 (PTEN) 具有明显相关性,而且 Sprouty1 (SPRY1) 是 ERK/MAPK 信号通路的抑制因子,对该信号通路具有负调控作用。通过研究^[41-43]发现,microRNA-21 可以抑制 SPRY1 的表达,进而激活 ERK/MAPK 通路,从而证明 microRNA-21 可以促进 MSC 成骨分化,进一步证明了 microRNA-21 在促进成骨分化中的作用;另有研究^[43]发现 microRNA-21 在促进 MSC 成骨分化过程中,可通过激活 PI3K/AKT/GSK3 β 信号通路,促进 ALP、Runx2、OCN 等成骨基因的表达,进而促进成骨分化;Zhao 等^[44]通过反转录-定量聚合酶链反应技术对 48 例 OP 患者和 48 例正常人的骨组织和血清进行检测,发现在 OP 患者的标本中 microRNA-21 表达水平最低;同时该研究通过分离培养 rBMSCs,实验组转染 microRNA-21 并诱导成骨,经过检测发现与模拟组相比,microRNA-21 可显著促进骨髓间充质干细胞向成骨细胞分化。

总之,microRNA-21 可以通过调控 MSC 的成骨分化、TNF- α 的表达以及 ERK/MAPK 信号通路、PI3K/AKT/GSK3 β 信号通路和 BMP9/Smad 信号通路等,调控成骨分化,在成骨细胞分化增殖过程中发挥着重要调控作用。

2.2 MicroRNA-21 对 OP 中破骨细胞的作用

破骨细胞作为骨组织中唯一负责骨吸收的细胞类型,在功能上与成骨细胞相互对应、相互配合,在骨骼的形成和发育过程中发挥着重要作用。而破骨细胞的分化及其在骨代谢中功能的体现是一个复杂的协调过程,其中有多种细胞因子及信号通路共同参与;随着对 microRNA 在骨质疏松中相关分子机制的研究,microRNA-21 在破骨细胞分化过程中起到的重要作用也得到了很好的揭示^[45-47]。相关研究^[48]证明了 microRNA-21 可调控骨髓间充质干细胞中 RANKL/OPG 的相对平衡,通过进一步降低成熟破骨细胞的再吸收活性来影响成熟破骨细胞的分化;而 NF- κ B 配体受体激活剂 (RANKL) 作为成骨细胞分化过程中主要的驱动因子之一,可促进 NF- κ B、磷酸肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B (PI3K/AKT) 等破骨细胞分化所必需基因的激活和表达^[49]。骨保护素 (osteoprotegerin, OPG) 具有骨保护效应,可参与调节破骨细胞的分化和活化,与骨质疏松的发生密切相关^[50];NF- κ B 受体活化因子配体 (RANKL) 是 OPG 的配体之一,两者具有高度的亲和力,最新的研究^[51]表明 OPG 可结合 RANKL,通过阻断其促进破骨分化的作用,达到防治骨质疏松骨量流失的目的。Sugatani 等^[52]通过体外实验证实 microRNA-21 是 rankl 诱导破骨细胞分化的 microRNA 表达特征,并与雌激素对成熟破骨细胞的促凋亡作用相反^[53]。Hu 等^[54]通过研究敲除 microRNA-21 的小鼠,发现 microRNA-21 在 BMSCs 不同功能方面的差异导致 microRNA-21 敲除小鼠维持骨形成和成骨细胞形成,同时在骨形成的过程中发现成骨细胞中 microRNA-21 靶向 Spry1 调节胞外信号调节激酶 (extracellular signal-regulated kinase, ERK) 信号通路,从而抑制 RANKL 和促进 OPG 升高,表明 microRNA-21 可促进破骨细胞的生成。

Sugatani 等^[53]报道雌激素下调 microRNA-21 的表达,而 microRNA-21 作用于靶点 FasL 蛋白,并促进 FasL 蛋白的表达,进一步诱导破骨细胞的凋亡。Fujita 等^[55]证实了转录因子活化蛋白-1 (AP-1) 可以上调 microRNA-21 的表达,而核蛋白转录因子 (c-fos) 蛋白是 AP-1 的主要成分;在破骨细胞分化过程

中, c-fos 亦可上调 microRNA-21 的表达水平, 而 microRNA-21 作用于靶点程序性凋亡基因 4 (PDCD-4) 的 3'-UTR 区, 可下调 PDCD-4 的蛋白表达, 但 PDCD-4 又会抑制 C-FOS 的表达^[52], microRNA-21 与 PDCD-4、AP-1、C-FOS 在破骨细胞的分化过程中, 形成一个以 microRNA-21 为中心调节破骨细胞分化的网络。由此可见, microRNA-21 在破骨细胞形成及凋亡过程中具有举足轻重的作用。

另外, Li 等^[56]对 120 例绝经后妇女血浆进行预选, 检测三组的 microRNA-21、microRNA-133a 和 microRNA-146a。microRNA-21 的下调以及 microRNA-133a 的上调在骨质疏松症和骨量减少患者血浆中, 与正常组相比发生了显著变化, 并与骨密度相关, 进一步表明 microRNA-21 可能被用作绝经后骨质疏松症的敏感和血浆生物标志物。由此可知, microRNA-21 可以通过调控 RANKL / OPG 通路、增加 RANKL 表达、促进 FasL 蛋白表达升高来调控破骨细胞的骨吸收作用。

3 小结

近年来随着我国社会老龄化程度的不断加剧, OP 的发病率逐年上升。作为一种全身代谢性疾病, OP 患者的骨量流失, 导致骨折风险增加, 给患者及其家属带来痛苦和经济负担。目前临床上应用的抗骨质疏松治疗药物主要有阿仑膦酸钠、唑来膦酸、雷洛昔芬等^[57], 但均有一定的副作用; 对于骨质疏松的诊疗, 急需新的方案和药物。近年来随着对 OP 相关发病机制研究的日益深入, 发现 microRNA 为体内重要的骨调节因子, 在成骨细胞的骨形成和破骨细胞的骨吸收中发挥着重要的作用^[32, 35, 45-47], 这为骨质疏松的防治提供了新的启示和思路。

本文虽对 microRNA-21 在成骨分化和破骨抑制的相关机制及调控作用方面做了相关的综述, 相关研究也证明了 microRNA-21 在骨质疏松的发病机制中具有特异性的表达和独特的调控作用, 但对其相关通路及作用机制的研究尚处于初始阶段, 认识较少且单一, 缺乏体内实验和体外相关实验的相互印证。因此, microRNA-21 在 OP 中对骨重塑的相关分子机制的调控有待进一步研究。相信随着该研究的不断深入, 将有助于为骨质疏松症等骨科疾病的防治提供新的思路和方案, 同时为开发新的抗骨质疏松靶标药物提供理论依据。

【参 考 文 献】

[1] 中华医学会骨质疏松和骨矿盐疾病分会. 中国骨质疏松症流

行病学调查及“健康骨骼”专项行动结果发布[J]. 中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志, 2019, 12(04): 317-318.

[2] 中华人民共和国国家统计局. 中国统计年鉴[M]. 北京: 中国统计出版社, 2015.

[3] Si L, Winzenberg TM, Jiang Q, et al. Projection of osteoporosis-related fractures and costs in China: 2010-2050[J]. Osteoporos Int, 2015, 26(7): 1929-1937.

[4] Ge DW, Wang WW, Chen HT, et al. Functions of microRNAs in osteoporosis [J]. European Review for Medical and Pharmacological Sciences, 2017, 21(21): 4784-4789.

[5] Vishnoi A. MiRNA biogenesis and regulation of diseases: An overview[J]. Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.), 2017, 1509: 1-10.

[6] Virant-Klun I, Ståhlberg A, Kubista M. MicroRNAs: from female fertility, germ cells, and stem cells to cancer in humans[J]. Stem cells international, 2016, 2016: 3984937.

[7] Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function[J]. Cell, 2004, 116(2): 281-297.

[8] Stark A, Brennecke J, Bushati N, et al. Animal MicroRNAs confer robustness to gene expression and have a significant impact on 3' UTR evolution[J]. Cell, 2005, 123(6): 1133-1146.

[9] Lewis BP, Burge CB, Bartel DP. Conserved seed pairing, often flanked by adenosines, indicates that thousands of human genes are microRNA targets[J]. Cell, 2005, 120: 15-20.

[10] Wang Y, Keys DN, Au-Young JK, et al. MicroRNAs in embryonic stem cells[J]. J Cell Physiol, 2009, 218: 251-255.

[11] Yang L, Ge D, Cao X, et al. MiR-214 attenuates osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells via targeting FGFR1[J]. Cellular Physiology and Biochemistry, 2016, 38: 809-820.

[12] Zhao C, Sun W, Zhang P, et al. miR-214 promotes osteoclastogenesis by targeting Pten/PI3k/Akt pathway[J]. Rna Biology, 2015, 12: 343-353.

[13] Wang CG, Liao Z, Xiao H, et al. LncRNA KCNQ10T1 promoted BMP2 expression to regulate osteogenic differentiation by sponging miRNA-214[J]. Exp Mol Pathol, 2019, 107: 77-84.

[14] 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.

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

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

[17] 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.

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

- [19] Cui RR, Li SJ, Liu LJ, et al. MicroRNA-204 regulates vascular smooth muscle cell calcification in vitro and in vivo [J]. Cardiovasc Res, 2012, 96(2): 320-329.
- [20] Hu X, Li L, Lu Y, et al. miRNA-21 inhibition inhibits osteosarcoma cell proliferation by targeting PTEN and regulating the TGF- β 1 signaling pathway [J]. Oncol Lett, 2018, 16: 4337-4342.
- [21] Zhang Y, Chen Z, Feng L, et al. Ionizing radiation-inducible microRNA-21 induces angiogenesis by directly targeting PTEN Asian Pac [J]. Cancer Prev, 2019, 20: 1587-1593.
- [22] Shi YJ, Xu W, Han YF, et al. Effects of miR-21 on hypertensive rats through PTEN/PI3K/Akt/mTOR signaling pathway [J]. European Review for Medical and Pharmacological Sciences, 2019, 23(11): 4924-4931.
- [23] Yang N, Wang G, Hu C, et al. Tumor necrosis factor α suppresses the mesenchymal stem cell osteogenesis promoter miR-21 in estrogen deficiency-induced osteoporosis [J]. Bone Miner Res, 2013, 28(3): 559-573.
- [24] Seeliger C, Karpinski K, Haug AT, et al. Five freely circulating miRNAs and bone tissue miRNAs are associated with osteoporotic fractures [J]. Bone Miner Res, 2014, 29(8): 1718-1728.
- [25] 陈楠. microRNA-21 在正畸牙齿移动过程中的作用研究 [D]. 第四军医大学, 2016.
- [26] Qi G, Hui Z, Ling Z, et al. MicroRNA-21 regulates non-small cell lung cancer cell proliferation by affecting cell apoptosis via COX-19 [J]. Int J Clin Exp Med, 2015, 8(6): 8835-8841.
- [27] Liu XY, Feng J, Tang JL, et al. The regulation and function of miR-21-FOXO3a-miR-34b/c signaling in breast cancer [J]. Int J Mol, 2015, 16: 3148-3162.
- [28] Ma Y, Xia H, Liu Y, et al. Silencing miR-21 sensitizes non-small cell lung cancer A549 cells to ionizing radiation through inhibition of PI3K/Akt [J]. Biomed Res Int, 2014, 2014: 617868.
- [29] Leone E, Morelli E, Di Martino MT, et al. Targeting miR-21 inhibits in vitro and in vivo multiple myeloma cell growth [J]. Clin Cancer Res, 2013, 19(8): 2096-2106.
- [30] 杨楠, 周威, 王光, 等. miR-21 调控人骨髓间充质干细胞成骨分化的研究 [J]. 牙体牙髓牙周病学杂志, 2015, 25(8): 465-471.
- [31] Sun Y, Xu L, Huang S, et al. MiR-21 overexpressing mesenchymal stem cells accelerate fracture healing in a rat closed femur fracture model [J]. BioMed research international, 2015, 2015: 412327.
- [32] Trohatou O, Zagoura D, Bitsika V, et al. Sox2 suppression by miR-21 governs human mesenchymal stem cell properties [J]. Stem Cells Transl Med, 2014, 3(1): 54-68.
- [33] Yang N, Wang G, Hu C, et al. Tumor necrosis factor α suppresses the mesenchymal stem cell osteogenesis promoter miR-21 in estrogen deficiency-induced osteoporosis [J]. J Bone Miner Res, 2013, 28(3): 559-573.
- [34] Amaral FA, Bastos LF, Oliveira TH, et al. Transmembrane TNF- α is sufficient for articular inflammation and hypernociception in a mouse model of gout [J]. Eur J Immunol, 2016, 46(1): 204-211.
- [35] 张赞, 常群安, 李生梅, 等. 肿瘤坏死因子 α 可激活 NF- κ B 信号通路抑制牙周膜干细胞成骨分化 [J]. 中国组织工程研究, 2019, 25: 3993-3997.
- [36] Liao J, Wei Q, Zou Y, et al. Notch signaling augments BMP9-induced bone formation by promoting the osteogenesis-angiogenesis coupling process in mesenchymal stem cells (MSCs) [J]. Cell Physiol Biochem, 2017, 41(5): 1905-1923.
- [37] Song Q, Zhong L, Chen C, et al. MiR-21 synergizes with BMP9 in osteogenic differentiation by activating the BMP9/Smad signaling pathway in murine multilineage cells [J]. Int J Mol Med, 2015, 36: 1497-1506.
- [38] Yano M, Inoue Y, Tobimatsu T, et al. Smad7 inhibits differentiation and mineralization of mouse osteoblastic cells [J]. Endocrine Journal, 2012, 59(8): 653-662.
- [39] 邓纯博, 刘林, 肖正俊, 等. 骨质疏松小鼠骨组织中 miR-21 及 Smad7 的表达及其与骨密度的相关性 [J]. 中国医科大学学报, 2019, 48(1): 44-47.
- [40] Liu X, Luo F, Ling M, et al. MicroRNA-21 activation of ERK signaling via PTEN is involved in arsenite-induced autophagy in human hepatic L-02 cells [J]. Toxicol Lett, 2016, 252: 1-10.
- [41] Mei Y, Bian C, Li J, et al. miR-21 modulates the ERK-MAPK signaling pathway by regulating SPRY2 expression during human mesenchymal stem cell differentiation [J]. J Cell Biochem, 2013, 114(6): 1374-1384.
- [42] 郑金涛, 麦理想, 刘路, 等. microRNA21 在人牙周韧带细胞成骨分化中的表达变化 [J]. 中华口腔医学研究杂志 (电子版), 2015, 9(1): 7-13.
- [43] Meng YB, Li X, Li ZY, et al. microRNA-21 promotes osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells by the PI3K/beta-catenin pathway [J]. J Orthop Res, 2015, 33(7): 957-964.
- [44] Zhao ZF, Li XG, Zou DX, et al. Expression of microRNA-21 in osteoporotic patients and its involvement in the regulation of osteogenic differentiation [J]. Experimental And Therapeutic Medicine, 2019, 17: 709-714.
- [45] Venugopal P, Koshy T, Lavu V, et al. Differential expression of microRNAs let-7a, miR-125b, miR-100, and miR-21 and interaction with NF- κ B pathway genes in periodontitis pathogenesis [J]. J Cell Physiol, 2018, 233(8): 5877-5884.
- [46] 智信, 陈晓, 苏佳灿. 破骨细胞研究新进展 [J]. 中国骨质疏松杂志, 2019, 25(9): 1327-1330.
- [47] Zhang X, Chen D, Zheng J, et al. Effect of microRNA-21 on hypoxia-inducible factor-1 α in orthodontic tooth movement and human periodontal ligament cells under hypoxia [J]. Experimental and therapeutic medicine, 2019, 17(4): 2830-2836.
- [48] Pitari MR, Rossi M, Amodio N, et al. Inhibition of miR-21 restores RANKL/OPG ratio in multiple myeloma-derived bone marrow stromal cells and impairs the resorbing activity of mature osteoclasts [J]. Oncotarget, 2015, 6(29): 27343-27358.

- [28] Lin, XS, Wang HY, Zhang Z, et al. Effects of acupoint application therapy with tiangui powder on osteoporosis in ovariectomized rats through TGF-beta1 and Smad2/3 signaling pathway[J]. Orthop Surg, 2019, 11(1): 143-150.
- [29] 高静, 叶艳, 吴晨曦, 等. 子午流注纳支法穴位贴敷治疗老年性骨质疏松症: 随机对照研究[J]. 中国针灸, 2017, 37(4): 349-354.
- [30] 胡阳, 金宇. 老年性骨质疏松症患者施用于子午流注纳支法穴位贴敷的疗效分析[J]. 中国骨质疏松杂志, 2017, 23(6): 768-771, 777.
- [31] 吕文静. 穴位贴敷缓解骨质疏松性疼痛的护理[J]. 中西医结合护理(中英文), 2015, 1(1): 16-17.
- [32] 马俊义, 施振宇, 史晓林. 穴位贴敷疗法对绝经后骨质疏松患者血清 OPG、RANKL 和髋部骨密度的影响[J]. 中国骨质疏松杂志, 2017, 23(7): 921-925.
- [33] 张柱基, 谢韶妍, 庞瑞明, 等. 牛黄散穴位贴敷对 2 型糖尿病合并骨质疏松症治疗效果的临床观察[J]. 世界中西医结合杂志, 2018, 13(6): 834-837.
- [34] 何康宏. 中药穴位药贴治疗绝经后骨质疏松症的临床研究[D]. 浙江中医药大学, 2016.
- [35] 苗明三, 许二平, 高婷, 等. 中药穴位敷贴疗法临床外用技术规范(草案)[J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(9): 102-105.
- [36] 司勤. 冬病夏治穴位贴敷不良反应的处理及正确护理[J]. 湖北中医杂志, 2016, 38(5): 59-60.
- [37] 黄晋, 李建国, 谢兴文, 等. 中药复方治疗绝经后骨质疏松症的临床研究概况[J]. 中国骨质疏松杂志, 2019, 25(2): 277-280.

(收稿日期: 2020-04-30; 修回日期: 2020-05-19)

(上接第 1216 页)

- [49] Hrdlicka HC, Lee SK. MicroRNAs are critical regulators of osteoclast differentiation[J]. Current Molecular Biology Reports, 2019, 5(1): 65-74.
- [50] Qin S, Zhang Q, Zhang L. Effect of OPG gene mutation on protein expression and biological activity in osteoporosis[J]. Exp Ther Med, 2017, 14(2): 1475-1480.
- [51] Taylan A, Birlik M, Kenar G, et al. Osteoprotegerin interacts with biomarkers and cytokines that have roles in osteoporosis, skin fibrosis, and vasculopathy in systemic sclerosis: a potential multifaceted relationship between OPG/RANKL/TRAIL and Wnt inhibitors[J]. Mod Rheumatol, 2018, 25: 1-16.
- [52] Sugatani T, Vacher J, Hruska KA. A microRNA expression signature of osteoclastogenesis[J]. Blood, 2011, 117(13): 3648-3657.
- [53] Sugatani T. Down-regulation of miR-21 biogenesis by estrogen action contributes to osteoclastic apoptosis[J]. Journal of Cellular Biochemistry, 2013, 114(6): 1217-1222.
- [54] Hu CH, Sui BD, Du FY, et al. MiR-21 deficiency inhibits osteoclast function and prevents bone loss in mice[J]. Scientific reports, 2017, 7: 43191.
- [55] Fujita S, Ito T, Mizutani T, et al. MiR-21 gene expression triggered by AP-1 is sustained through a double-negative feedback mechanism[J]. J Mol Biol, 2008, 378(3): 492-504.
- [56] Li H, Wang Z, Fu Q, et al. Plasma miRNA levels correlate with sensitivity to bone mineral density in postmenopausal osteoporosis patients[J]. Biomarkers, 2014, 19(7): 553-556.
- [57] 马远征, 王以朋, 刘强, 等. 中国老年骨质疏松诊疗指南(2018)[J]. 中国老年学杂志, 2019, 39(11): 2557-2575.

(收稿日期: 2019-09-19; 修回日期: 2019-10-09)