

文章编号:1004-7220(2020)05-0504-07

力学调控长链非编码 RNA 对间充质干细胞成骨分化作用的研究进展

程 威^{1,2}, 林祥龙^{2,3}, 张 扬², 刘 洋^{1,2}, 朱双龙¹, 刘迎节¹, 李瑞欣^{4*}, 徐云强^{1*}, 张西正²

(1.天津医科大学总医院 骨科,天津 300052; 2.军事科学院 系统工程研究院,卫勤保障技术研究所,天津 300161;

3.天津理工大学 天津市先进机电系统设计与智能控制重点实验室,天津 300384; 4.天津市口腔医院 中心实验室,天津 300041)

摘要:随着第3代高通量测序技术和组织工程的发展,近年来研究发现,许多长链非编码 RNA (long-chain non-coding RNAs, LncRNAs) 在力学调节间充质干细胞 (mesenchymal stem cells, MSCs) 的成骨分化中起重要作用。力学因素调控相关的 LncRNAs, 然后 LncRNAs 通过转录、转录后以及表观遗传等多层次发挥调节作用,进一步调控骨相关细胞功能。LncRNAs 也可能作为力学响应分子参与 MSCs 成骨分化、骨重建以及骨骼系统疾病的病理过程。

关键词:力学调控; 长链非编码 RNA; 骨髓间充质干细胞; 成骨分化

中图分类号: R 318.01 文献标志码: A

DOI: 10.16156/j.1004-7220.2020.05.018

Research Advances in the Effect of Mechanical Regulation of Long-Chain Non-Coding RNAs on Osteogenic Differentiation of Mesenchymal Stem Cells

CHENG Wei^{1,2}, LIN Xianglong^{2,3}, ZHANG Yang², LIU Yang^{1,2}, ZHU Shuanglong¹,
LIU Yingjie¹, LI Ruixin^{4*}, XU Yunqiang^{1*}, ZHANG Xizheng²

(1. Department of Orthopaedics, General Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin 300052, China;

2. Institute of Medical Support Technology, Academy of System Engineering, Academy of Military Science,

Tianjin 300161, China; 3. Tianjin Key Laboratory for Advanced Electromechanical System Design and Intelligent

Control, Tianjin University of Technology, Tianjin 300384, China; 4. Central Laboratory, Tianjin Stomatological

Hospital, Tianjin 300041, China)

Abstract: With the development of the 3rd-generation high-throughput sequencing technology and tissue engineering, recent studies show that many long-chain non-coding RNAs (LncRNAs) have played an important role in osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells (MSCs). LncRNAs, which are involved in the regulation of mechanical regulation, further regulate bone-related cell functions and play a regulatory role at multiple levels, including transcription, post-transcriptional and epigenetic. LncRNAs may be involved in the osteogenic differentiation and bone remodeling of MSCs, the regulation of bone-related cell functions as a mechanical response molecule, as well as the pathological process of skeletal diseases.

Key words: mechanical regulation; long-chain non-coding RNAs (LncRNAs); bone marrow stromal cells (BMSCs); osteogenic differentiation

收稿日期:2019-02-25; 修回日期:2019-04-04

基金项目:国家自然科学基金项目(31470935,11432016)

通信作者:徐云强,主任医师, E-mail:doxu@sina.com;李瑞欣,副教授, E-mail:limxin@163.com

* 为共同通信作者

骨髓间充质干细胞 (bone marrow stromal cells, BMSCs) 是一种源自骨髓基质具有自我更新和分化能力的干细胞, 已成为骨组织工程中修复骨缺损重要的种子细胞之一。研究表明, 生化环境对 BMSCs 表型分化具有重要的调节作用, 并证实生物力学信号在调节干细胞的表型分化和补充或协调生化信号 (例如细胞因子) 过程中起关键的作用^[1]。近年来, 随着进一步对长链非编码 RNA (long-chain non-coding RNAs, lncRNAs) 结构、功能和作用相关机制的深入研究, 发现 lncRNAs 可能参与染色质重塑、DNA 甲基化、组蛋白修饰、miRNA 前体的修饰以及调控其他的 RNA 分子, 同时也可与 miRNA、ceRNA 以及一些小分子 RNA 共同调节细胞增殖和分化^[2]。

目前研究发现, lncRNAs 可调节干细胞成骨细胞的分化, 并且对骨重建过程具有关键的影响^[3]。细胞受到力学刺激经相应分子信号途径可以在转录和转录后水平精确调节干细胞的成骨分化, 进而调控成骨分化进程。因此, 本文基于国内外有关力学环境下 lncRNAs 调控干细胞分化的研究, 从干细胞受到力学刺激、进一步的信号转导和引起相应靶基因的差异变化、具体调控机制 3 个方面概述 lncRNAs 在力学刺激信号转导机制下促进间充质干细胞 (mesenchymal stem cells, MSCs) 成骨分化的机制以及力学调控中较为重要的 lncRNAs。归纳国内外相关研究理论和结果, 期望为进一步探究 MSCs 成骨分化相关影响因素、筛选相关分子药物、预防和治疗骨代谢相关疾病的研究提供指导和参考。

1 力学调控 MSCs 成骨分化

研究普遍认为, MSCs 生长的微环境对其表型的分化和表达具有重要影响。微环境主要由细胞因子以及分泌生长因子的生化环境和复杂的生物力学环境组成。Frost 教授的“力学稳定性理论”指出了机械力学与骨骼形成的关系。此外, 力学刺激信号通过不同的信号传导途径和生化信号 (如细胞因子的补体或配位) 调节干细胞的表型分化^[5]。在人体运动过程中受到各种力学作用, 如压应力、拉伸应力、弯曲应力、扭转应力和剪切应力。Savag 等^[6]提出, 骨基质变形引起的细胞外液流动引起的流体剪切力 (fluid shear stress, FSS) 是骨骼细胞所

感受到的主要应力, 适宜的力学刺激能促进 BMSCs 的矿化和特征性成骨分化基因升高, 如碱性磷酸酶 (alkaline phosphatase, ALP)、I 型胶原蛋白 (type I collagen, COL1)、骨桥蛋白 (osteopontin, ON)、骨涎蛋白 (bone sialoprotein, BSP) 以及骨钙蛋白 (osteocalcin, OC) 等。但是目前力学调控 MSCs 成骨分化的机制尚不清楚, 通常认为该机制主要包括 3 个阶段: 细胞骨架等对力学刺激的反应阶段 (力学偶联); 力学信号转换成生化信号阶段 (生化耦合); 信号在细胞内的传导及细胞效应的表达阶段。通过这些阶段将作用在细胞上的应力信号转换成生化信号, 进一步引起相应的生物学效应。

1.1 细胞对力学刺激的反应 (力学偶联)

在细胞感知到其周围环境的力学刺激后, 活化的整联蛋白首先与细胞外基质连接, 然后整联蛋白与细胞骨架连接, 细胞外基质-整联蛋白-细胞骨架形成完整的网络系统, 通过该系统可以传输和扩大细胞内外的机械和电信号。细胞骨架是整个信号网络初始的关键, 主要以两种方式的机械信号传递。第一种细胞骨架主要在信号传递过程中发挥物理传导作用, 另一种则作为机械化学信号的转换器, 框架结构的自适应变化可以增加与其耦合的离子通道渗透性和受体的一部分活性, 在第 2 信使的共同传递下力学信号最终传递到细胞核, 并调节相关敏感的靶基因的表达, 共同完成外部力学刺激的传递和转化。有研究对小鼠 MC3T3-E1 施加 $f=0.5 \text{ Hz}$ 、 $\varepsilon=5$ 的微应变周期性拉应力, 观察到细胞收缩变形, 伪足收缩变短, 微丝排列紊乱, 细胞骨架松散排列, 方向性差, 轮廓变得模糊, 细胞骨架甚至出现破碎等现象^[7]。

1.2 机械信号转换成生化信号 (生化耦合)

Riddle 等^[8]研究发现, 0.5、1 和 2 kPa 的剪切应力作用于 BMSCs, 通过活化三磷酸肌醇使胞内钙离子浓度增加, 并同时磷酸化 ERK1/2 和活化钙敏感性蛋白激酶, 引起 MSCs 的生物活性的改变, 进一步触发肌醇 3-磷酸受体介导内质网释放 Ca^{2+} , 增加 BMSCs 中的 NFATc1 的核定位, 从而促进骨形成。因此, 该研究认为力学刺激 BMSCs 成骨分化主要依赖于丝裂原活化蛋白激酶和钙信号传导途径。

1.3 生物化学信号在细胞内的传导

目前关于力学信号在细胞内信号传导的具体

机制尚未阐明,研究主要集中在 BMPs/Smad 通路、TGF-6 信号通路、MAPK 通路、Runx2/osteorix 信号通路、Notch 通路、Wnt 通路等。

1.3.1 MAPK 信号通路 MAPK 可分为 4 个亚族: ERK、p38、JNK 和 ERK5。许多生物、化学刺激,如生长因子、细胞因子、温度、氧含量、辐射、渗透压和剪切力,可以激活 MAPK 信号转导通路。Simmons 等^[9]利用 3%、0.25 Hz 牵拉应变和成骨性诱导剂地塞米松、 β -磷酸甘油钠、抗坏血酸作用于 BMSCs,发现基质矿化增加了 2~3 倍。进一步研究其信号转导机制发现,力学刺激激活了 ERK1/2 及 p38 MAPK 途径,不影响 c-jun N 末端激酶的激活;给予 ERK1/2 抑制剂, Ca^{2+} 浓度降至 55%,细胞 ALP 和矿化沉积显著减少。因此,该研究认为,促进拉伸后的 BMSCs 成骨分化主要通过 ERK1/2 信号传导途径介导。

1.3.2 BMPs/Smad 通路 BMPs 是一类重要的成骨诱导因子,与 II 型受体结合并激活受体后磷酸化 I 型受体,然后依次激活下游系列的 Smad 蛋白,然后转入细胞核后聚集。Wang 等^[7]通过四点弯曲力学拉伸 MC3T3-E1 发现,机械信号激活 p38 MAPK 信号通路,Smurf1 表达下调促进 BMPs/Smad 通路激活,并进一步诱导成骨前体细胞的分化。

1.3.3 Wnt/ β -catenin 信号通路 Wnt/ β -catenin 信号通路由 19 个高度保守的富含半胱氨酸的分泌糖蛋白组成,如 Wnt1、Wnt3a、Wnt4、Wnt5a、Wnt7a、Wnt7b、Wnt10b 等。BMSCs 表达多种 Wnt 蛋白和受体。目前主要包括 3 种途径:① Wnt/ β -catenin 途径;② Wnt/planarcellpolarity 或者 Wnt/JNK 途径;③ Wnt/ Ca^{2+} 途径。Wnt/ β -catenin 途径又称经典 Wnt 通路,Wnt/JNK 和 Wnt/ Ca^{2+} 途径又称非经典 Wnt 通路。Arnsdorf 等^[10]研究发现,力学刺激使 N-钙黏着蛋白与 β -catenin 的解交联,从而促使游离的 β -catenin 细胞因子作用调节 Runx2 基因表达,促使其成骨分化,激活 RhoA 使得其效应蛋白 ROCKII 作用于 Runx2,上调 Runx2 的表达。以上结论说明,经典和非经典 Wnt 通路在 BMSCs 的成骨分化增殖中起重要作用,两者之间可能存在相互调节作用。

2 LncRNAs 在 MSCs 分化中的作用

LncRNAs 是一类转录长度大于 200 bp 的非编

码 RNA,有的甚至超过 10 kb,根据在基因中序列的位置,可分为 lincRNAs、反义 LncRNAs 和内含子区域 LncRNAs。Guttman 等^[11]研究发现,20 多个 LncRNAs 分子与多能性标记转录因子(Nanog、Oct4)的表达有关,表明 LncRNAs 分子在干细胞分化中可能起关键的调节作用。Sui 等^[12]研究表明,有 3 638 个 LncRNAs 在 MSCs 分化为软骨期间发生显著改变(2 166 表达上调和 1 472 下调)。通过使用信息学分析和相关作用网络进行进一步分析和验证,以选择具有上调表达的两个 LncRNA ZBED3-AS1 和 CTA-641F9.9,并且在成软骨分化后 4 周内持续表达高。结果表明,与其分化有关的 LncRNAs 可能参与了 MSCs 分化为软骨细胞的整个过程。利用基因芯片技术在 BMSCs 的成骨分化过程中发现,与对照组相比,在 116 个有明显表达改变的 LncRNAs 中,59 个上调,57 个下调;其中,60% 位于基因的结构区域,21% 位于基因的编码区域;并且通过顺式调控机制找到 24 个 LncRNA 相邻编码基因来匹配。Zuo 等^[13]使用人骨形态发生蛋白-2(bone morphogenetic protein-2, BMP-2)诱导小鼠 MSCs 株 C3H10T1/2 向成骨分化,发现 LncRNAs ANR_027652 和 DLK1 表达均上调,LncRNAs0231 和表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)表达均下调。Wang 等^[14]分别诱导小鼠和人的 BMSCs 成骨分化,发现 CXCL13 可以正向调节 ak028326 基因表达,LncRNA XR-11050 过表达可促进 RUNX2 的表达。LncRNA ak028326 和 LncRNA XR-11 050 分别通过调控 CXCL13 和 RUNX2 表达,进而促进 BMSCs 的成骨分化。因此,LncRNAs 在 MSCs 细胞肿瘤发生中也具有一定的调节作用,这扩展了对 LncRNAs 对 MSCs 生物学功能影响的认识。

近年来,随着高通量技术发展及研究的深入,有关 LncRNAs 及 miRNA 协同调控成骨分化的研究日益增多。Wang 等^[15]在诱导卵巢切除的小鼠和绝经后骨质疏松症患者 BMSCs 的成骨分化过程中发现,LncRNA MEG3 和 miR-133a-3p 表达均增加,且两者呈正相关。当过表达 MEG3 时,miR-133a-3p 介导的成骨分化被下调,表明 LncRNA MEG3 促进 miR-133a-3p 的表达,抑制 SLC39A1 和成骨分化基因的表达,进而抑制成骨分化,加速骨质疏松症的发生。Shang 等^[16]上调 BMSCs 向成骨和成脂分化

中 LncRNA TCONS_00041960 的表达,发现 TCONS_00041960 通过与 miR-204-5 p 和 miR-125a-3p 内源性竞争,进而促进 RUNX2 及 GILZ (glucocorticoid-induced leucine zipper) 的表达。因此,该研究认为新的 LncRNA TCONS_00041960 通过 TCONS_00041960-miR-204-5p/ miR-125a-3p-RUNX2/ GILZ 调节 BMSCs 向成骨分化的重要作用。

3 力学调控 LncRNAs 对 MSCs 成骨分化的机制

Carrion 等^[17] 研究发现,人体动脉间质细胞 (aortic valve interstitial cell, AVIC) 暴露于力学拉伸刺激后, HOTAIR 水平降低,通过 siRNA 靶向 HOTAIR 导致两种成骨基因 ALP 和 BMP-2 的更高表达。另外, HOTAIR 的微阵列分析 siRNA 处理的 AVIC 显示出额外钙化的激活相关基因和途径,循环拉伸增加了 β -catenin 和 β -catenin 靶基因的表达,从而提示 Wnt/ β -catenin 信号传导对 AVIC 生物学刺激的反应有着重要作用。用 Wnt 激动剂可导致 ALP 和 BMP-2 表达增加而 HOTAIR 的水平降低。这些发现表明, HOTAIR 在抑制钙化相关基因中发挥重要作用。

随着人们对非编码 RNA、RNA-DNA、RNA-蛋白、RNA-RNA 的认识不断深入,诸如 RNA 的调节方法逐渐被人类识别,形成涉及 LncRNA 的复杂而精确的基因表达调控网络。目前普遍认为, LncRNAs 的功能主要通过顺式 (cis) 或反式 (trans) 方式作用于靶基因来实现。顺式作用靶基因预测基本原理认为, LncRNAs 的功能与其坐标临近的蛋白编码基因相关,故将 LncRNAs 邻近的 mRNA 筛选出来作为其靶基因。而反式调控则不依赖于位置关系,可通过计算结合能的方法进行预测。若 LncRNAs 与靶基因存在重叠,通过对重叠的情况进行细致的分类,从而更好了解顺式调控的细节。通过上述规定,形成涵盖转录阶段,转录后阶段和表观遗传形成的调控网络。

3.1 转录阶段的调控

转录期的水平调节, SOX2 可以通过与 BMP-4 启动子结合来抑制启动子活性, MEG3 充当辅因子以结合转录因子 SOX2 并将其与 BMP-4 启动子分离,从而促进 BMP-4 转录并促进 MSC 成骨分化^[18]。

因此, LncRNAs 可能通过作用于靶基因的启动子, 干扰转录因子与启动子的结合, 从而实现对靶基因的转录进行调节。最近的研究表明, Lnc00961 编码一种长度为 90 个氨基酸的 SPAR 多肽, 它可以特异性阻断 mTORC1 和抑制 mTORC1 蛋白复合物活性, 有助于调节肌肉再生和受伤后的修复^[19]。

3.2 转录后阶段调控机制

转录后调控主要包括对基因组中的微小 RNA、反义 RNA、非编码 RNA、ceRNA、内含子以及核糖体的开关等进行调控。Liang 等^[20] 研究表明, LncRNA H19 充当 miR-141 和 miR-22 的海绵, 抑制其表达, 从而促进骨形成和 Wnt/ β -catenin 途径的表达。此外, 研究还发现了 LncRNA H19 和 miR-675-5p 之间新的负反馈调节。LncRNA H19 是 miR-675-5p 的直接靶向基因, 抑制成骨细胞分化并抑制 MSC 的成骨分化, 从而通过调节增强子的表达影响 BMSCs 的成骨分化。Zhao 等^[21] 研究发现, 当 LncRNA H19 表达受到抑制时, miR-675 表达减少, NOMO1 蛋白表达受到抑制, 从而抑制 BMSCs 的成骨分化。LncRNAs 在转录后调控可以影响 mRNA 转录; LncRNAs 作为内源性竞争性 RNA (competing endogenous RNA, ceRNA) 与 miRNA 相互调控, 作为小 RNA 分子的前体参与调控。

3.3 表观遗传 (蛋白形成阶段) 调控

在表观遗传调控方面, 目前研究主要集中在 LncRNAs 通过 DNA 甲基化、组蛋白修饰、染色质重塑和其他形式的 RNA 干扰等方式调节 LncRNAs 的表达和功能, 以及形成的复杂的网络关系调节相关蛋白质的发生和发展。

3.3.1 DNA 甲基化 Mattick 等^[22] 研究表明, CpG 岛可转录出长度在 600~20 000 个核苷酸的多种 LncRNAs, Khpsla LncRNA 是由 1 290 个核苷酸构成, 结合位点区域 GG 可调甲基化 CpG 岛的 5' 帽结构, 3' 聚 A 尾和 CC(A/T)T-DMR, 在 CpG 岛的甲基化水平抑制后, 鞘氨醇激酶 1 的表达上调。该研究还发现, Khpsla LncRNA 可转运到细胞质中, 可预测此 LncRNAs 可以在细胞质中通过直接或对其他 RNA 的间接作用与转录后期相关蛋白表达的调节相结合, 进而调节下游靶基因的表达。

3.3.2 组蛋白修饰 组蛋白修饰有多种形式, 包括甲基化、乙酰化和泛素化; Zhu 等^[23] 研究表明, 大约

20种哺乳动物 LncRNA 与 PRC2 结合,作为 PRC2 的一个组成部分,EZH2 可诱导 H3K27 甲基化以抑制基因转录;Xu 等^[24]研究表明,下调 SIRT1 可上调 LncRNA-HIF1 α -AS1, LncRNA-HIF1 α -AS1 促进 HoxD10 启动子区 H3 和 H4 组蛋白的乙酰化,从而促进 HoxD10 基因的表达。Li 等^[25]研究发现,小鼠 BMSCs 成骨分化后,LncRNA-AK141205 表达上调,LncRNA-AK141205 可通过促进 CXCL13 启动子区 H4 组蛋白的乙酰化作用,从而促进 CXCL13 基因的表达。

3.3.3 染色质重构 目前主要认为,LncRNAs 可以通过两种方式对染色质进行调节:一种通过自身发挥作用调节染色质的结构,第二种通过与多种染色质修饰的复合物结合调节染色质重构。研究表明,目前发现的人类中有近 20% LncRNAs 的可与染色质重构蛋白复合物 PRC 或其他的染色质修饰的复合物结合,X(染色体)失活特异性转录物(X chromosome inactive specific transcript, Xist) LncRNAs 可以通过募集染色体修饰复合物 PRC2 结合在特异的基因组位点,抑制 X 染色体的基因表达,从而介导表观遗传调控^[26]。

在 LncRNAs 调节染色质修饰的过程中仍有许多不清楚的领域。例如:LncRNAs 如何向染色质传递修饰信号,是 RNA 本身直接和目的基因结合募集染色质修饰复合物,或 RNA 与其他蛋白质结合形成核糖核蛋白复合物,有待进一步探究。LncRNAs 有多个靶位点,其可能通过不同的调节方式共同完成,或者通过更加复杂的机制与目的基因结合,来实现对染色质进行修饰。

除了上述 LncRNAs 研究之外,尚未完全阐明参与成骨分化的 LncRNAs 的一些机制。此外,Tong 等^[27]研究发现,绝经后骨质疏松症患者的血液单核细胞,LncRNA-DANCR 表达上调并通过上调 IL-6 和 TNF- α 的 mRNA 和蛋白水平促进骨吸收,最终导致骨丢失,但 LncRNA-DANCR 上调 IL-6、TNF- α 的作用机制仍未阐明。

4 结论与展望

随着组织工程学以及再生医学的发展,使得人类有可能在体外将干细胞进行诱导分化后,建立具有三维结构的组织或器官,解决目前移植器官的难

题。BMSCs 细胞提取过程繁琐在骨髓中仅占有核细胞的万分之一,表面抗原尚未完全明确,给 BMSCs 的大规模使用造成一定限制^[28]。因此,选择最佳的力学刺激条件刺激 MSCs 分化以及明确成骨分化过程中的信号通路,从而代替 BMSCs 用于骨组织工程,将有利于指导临床上骨损伤的成骨和改建的过程。研究 MSCs 成骨分化相关通路,关注其上游调控因子及下游靶基因,可以为骨质疏松症、骨肿瘤及骨折等提供新的治疗靶点,为相关疾病的治疗提供新思路。MSCs 所处的生物力学微环境对其生物活性具有不可缺少的影响。力学载荷可以影响体外培养的 MSCs 骨架、增殖以及分化,尤其是向成骨细胞方向的分化。体外培养获得的 MSCs 具有多向分化潜能,具有广泛的科研和临床应用价值。探讨 MSCs 体外培养最佳组合条件一直是国内外研究的热点,利用适当的机械力学载荷结合各种生物化学因子等使 MSCs 定向分化,不仅对组织工程具有重要的意义,还可为机械应力刺激的临床应用提供理论依据。目前可以肯定的是,力学载荷在干细胞的分化过程中发挥着一定作用,但仍需进一步深入研究力学影响干细胞生命活动的力学生物学耦合规律,寻找最佳机械力学条件,探讨力学在调控 MSCs 成骨分化中具体的调控机制,对进一步的组织工程以及再生医学发展有着至关重要的作用。

综上所述,在力学调控 MSCs 成骨分化中,LncRNAs 参与 BMSCs 的骨向分化过程。LncRNAs 可能作为力学响应分子参与 BMSCs 成骨分化以及骨重建。LncRNAs 可以通过直接作用于干细胞促进成骨分化;也可以通过调节下游 miRNA 表达来调节,消除部分 miRNA 对某些基因表达的抑制,并且还可以抑制内源 miRNA 的表达。目前主要认为 LncRNAs 可通过两种不同的方式调节成骨分化过程,即 LncRNA-miRNA-mRNA 和内源性竞争假说;它还可以直接作用于成骨分化基因。此外,它还可调节骨形成和骨吸收组成的骨代谢稳态,维持恒定的骨量或加速骨疾病的发作。目前 LncRNAs 调节干细胞成骨分化的信号通路主要集中在 Wnt/ β -连环蛋白、NF- κ B、TGF- β 1/Smad 和 TNF 等信号通路。然而,LncRNAs 调节干细胞成骨分化的功能和机制中,目前还没有找到确切的 LncRNAs 以及相应的靶基因。

作为最近发现的基因“富矿石”,LncRNAs 是一类非编码 RNA 转录本,它们的长度超过 200 个核苷酸,并且不太保守。到目前为止,只有几条功能性 LncRNAs 已经得到很好的表征,它们被证明在多种细胞过程中起重要的调控作用。虽然有关 LncRNAs 对 MSCs 调控的报道也越来越多,但 LncRNAs 在细胞分化的调节和骨吸收的骨代谢中的具体机制尚不完全明确,关于 LncRNAs 调节干细胞成骨分化的功能和机制有待更加深入的研究。鉴于 LncRNAs 功能的确切机制仍有待于发现,对于其他调控蛋白而言,LncRNAs 可能发挥信号、诱饵、指导或支架的作用。LncRNAs 对骨代谢的调控及其相关机制将会是未来的热门研究方向。

参考文献:

- [1] GIAI AV, MCCARTHY MB, DE LG, *et al.* Making them commit: Strategies to influence phenotypic differentiation in mesenchymal stem cell [J]. *Sports Med Arthrosc Rev*, 2018, 26(2): 64-69.
- [2] RINN JL, CHANG HY. Genome regulation by long noncoding RNAs [J]. *Annu Rev Biochem*, 2012, 81(1): 145-166.
- [3] CAI B, ZHENG Y, MA S, *et al.* Long noncoding RNA regulates hair follicle stem cell proliferation and differentiation through PI3K/AKT signal pathway [J]. *Mol Med Rep*, 2018, 17(4): 5477-5483.
- [4] VERONESI F, TORRICELLI P, BORSARI V, *et al.* Mesenchymal stem cells in the aging and osteoporotic population [J]. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr*, 2011, 21(4): 363-377.
- [5] FROST HM. Bone mass and the mechanostat: A proposal [J]. *Anat Rec*, 2010, 219(1): 1-9.
- [6] SAVAG SA, ALTER BP. The role of telomere biology in bone marrow failure and other disorders [J]. *Mech Ageing Dev*, 2008, 129(1): 35-47.
- [7] WANG L, ZHANG X, GUO Y, *et al.* Involvement of BMPs/Smad signaling pathway in mechanical response in osteoblasts [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2010, 26(6): 1093-1102.
- [8] RIDDLE RC, DONAHUE HJ. From streaming-potentials to shear stress: 25 years of bone cell mechanotransduction [J]. *J Orthop Res*, 2010, 27(2): 143-149.
- [9] SIMMONS CA, MATLIS S, THORNTON AJ, *et al.* Cyclic strain enhances matrix mineralization by adult human mesenchymal stem cells via the extracellular signal-regulated Kinase (ERK1/2) signaling pathway [J]. *J Biomech*, 2003, 36(8): 1087-1096.
- [10] ARNSDORF EJ, TUMMALA P, KWON RY, *et al.* Mechanically induced osteogenic differentiation: The role of RhoA, ROCKII and cytoskeletal dynamics [J]. *J Cell Sci*, 2009, 122(4): 546-53.
- [11] GUTTMAN M. How a lncRNA shapes chromatin structure to control gene expression [J]. *Biophys J*, 2017, 112(3): 158a.
- [12] SUI J, XU SY, HAN J, *et al.* Integrated analysis of competing endogenous RNA network revealing LncRNAs as potential prognostic biomarkers in human lung squamous cell carcinoma [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(39): 65997-66018.
- [13] ZUO C, WANG Z, LU H, *et al.* Expression profiling of LncRNAs in C3H10T1/2 mesenchymal stem cells undergoing early osteoblast differentiation [J]. *Mol Med Rep*, 2013, 8(2): 463-467.
- [14] WANG Q, YANG Q, CHEN G, *et al.* LncRNA expression profiling of BMSCs in osteonecrosis of the femoral head associated with increased adipogenic and decreased osteogenic differentiation [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 9127-9140.
- [15] 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]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 89: 1178-1186.
- [16] SHANG G, WANG Y, XU Y, *et al.* Long non-coding RNA TCONS_00041960 enhances osteogenesis and inhibits adipogenesis of rat bone marrow mesenchymal stem cell by targeting miR-204-5p and miR-125a-3p [J]. *J Cell Physiol*, 2018, 233(8): 6041-6051.
- [17] CARRION K, DYO J, Patel V, *et al.* The Long non-coding hotair is modulated by cyclic stretch and WNT/[beta]-catenin in human aortic valve cells and is a novel repressor of calcification genes[J]. *Plos One*, 2014, 9(5): e96577.
- [18] FANG WT, FAN CC, LI SM, *et al.* Downregulation of a putative tumor suppressor BMP4 by SOX2 promotes growth of lung squamous cell carcinoma [J]. *Int J Cancer*, 2014, 135(4): 809-819.
- [19] MATSUMOTO A, PASUTt A, MATSUMOTO M, *et al.* mTORC1 and muscle regeneration are regulated by the LINC00961-encoded SPAR polypeptide [J]. *Nature*, 2017, 541(7636):228-232.
- [20] LIANG WC, FU WM, WANG YB, *et al.* H19 activates Wnt signaling and promotes osteoblast differentiation by functioning as a competing endogenous RNA [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 20121.
- [21] ZHAO N, ZENG L, LIU Y, *et al.* DLX3 promotes bone marrow mesenchymal stem cells proliferation through H19/miR-675 axis [J]. *Clin Sci*, 2017, 131(22): 2721-2735.

- [22] MATTICK JS. The genetic signatures of noncoding RNAs [J]. PLoS Genet, 2009, 5(4): e1000459.
- [23] ZHU L, XU PC. Downregulated LncRNA-ANCR promotes osteoblast differentiation by targeting EZH2 and regulating Runx2 expression [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2013, 432(4): 612-617.
- [24] XU Y, WANG S, TANG C, *et al.* Upregulation of long non-coding RNA HIF 1 α -anti-sense 1 induced by transforming growth factor- β -mediated targeting of sirtuin 1 promotes osteoblastic differentiation of human bone marrow stromal cells [J]. Mol Med Rep, 2015, 12(5): 7233-7238.
- [25] LI H, ZHANG Z, CHEN Z, *et al.* Osteogenic growth peptide promotes osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells mediated by LncRNA AK141205-induced upregulation of CXCL13 [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2015, 466(1): 82-88.
- [26] KHALIL AM, GUTTMAN M, HUARTE M, *et al.* Many human large intergenic noncoding RNAs associate with chromatin-modifying complexes and affect gene expression [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2009, 106(28): 11667-11672.
- [27] TONG X, GU PC, XU SZ, *et al.* Long non-coding RNA-DANCR in human circulating monocytes: A potential biomarker associated with postmenopausal osteoporosis [J]. Biosci Biotechnol Biochem, 2015, 79(5): 732-737.
- [28] CHEN M, QU Q, SHEN T, *et al.* Expression of cell surface antigens during the differentiation of osteoblast by human bone marrow-derived mesenchymal stem cells [J]. Acta Academiae Medicinae Sinicae, 2007, 29(1): 62-66.