

长链非编码RNA调控成骨分化的研究现状及展望



扫码阅读电子版

李润泽 任剑寒 黄德兰 罗皓天 周晨 王伟财

中山大学附属口腔医院, 光华口腔医学院, 广东省口腔医学重点实验室, 广州 510055

通信作者: 王伟财; Email: wangwc3@mail.sysu.edu.cn



王伟财

【摘要】 颅颌面骨缺损或异常不仅会造成相应功能的障碍,还会影响患者的美观及心理健康。间充质干细胞向成骨细胞谱系分化是骨组织发生与形成的物质基础,也是维持骨稳态的重要因素。成骨分化异常既与多种骨相关疾病有着密切关系,也会对骨组织修复产生消极影响。长链非编码RNA作为近年来新发现的调控因子,在成骨分化过程中发挥着重要的作用。本文拟阐述目前在成骨分化方面起重要调控作用的lncRNA及其机制,并探讨目前研究存在的不足及未来的发展前景。

【关键词】 长链非编码RNA; 间充质干细胞; 成骨分化; 骨形成; 分子机制

基金项目: 国家重点研发计划(2016YFC20160905203); 国家自然科学基金(81600824); 广东省自然科学基金(2018A030310278); 广州市科技计划(201707010106、201804010459)

引用著录格式: 李润泽,任剑寒,黄德兰,等.长链非编码RNA调控成骨分化的研究现状及展望[J/CD].中华口腔医学研究杂志(电子版),2020,14(5):271-279.

DOI:10.3877/cma.j.issn.1674-1366.2020.05.001

Research progress and prospects of long non-coding RNA regulating osteogenic differentiation

Li Runze, Ren Jianhan, Huang Delan, Luo Haotian, Zhou Chen, Wang Weicai

Hospital of Stomatology, Guanghua School of Stomatology, Sun Yat-sen University, Guangdong Provincial Key Laboratory of Stomatology, Guangzhou 510055, China

Corresponding author: Wang Weicai, Email: wangwc3@mail.sysu.edu.cn

【Abstract】 Defect and abnormality of craniofacial bones not only cause corresponding functional disorders, but also affect the outlook and mental health of patients. The osteogenic differentiation from mesenchymal stem cells to

osteoblast lineage is not only the foundation of osteogenesis, but also one of the key factors maintaining bone homeostasis. Abnormal osteogenic differentiation is strongly relative to many bone diseases and has side effects on bone regeneration. As a newly discovered regulatory factor, long non-coding RNA plays an important role in osteogenic differentiation. This article focused on the long non-coding RNA that played important roles in regulating osteogenic differentiation, discussing the mechanisms, existing problems as well as prospects.

【Key words】 RNA, long noncoding; Mesenchymal stem cell; Osteogenic differentiation; Osteogenesis; Molecular mechanism

Fund programs: National Key Research & Development (R & D) Plan Program (2016YFC20160905203); National Natural Science Foundation of China(81600824); Natural Science Foundation of Guangdong Province(2018A030310278); Science and Technology Program of Guangzhou (201707010106, 201804010459)

DOI:10.3877/cma.j.issn.1674-1366.2020.05.001

颅颌面骨作为全身形态、结构最为复杂的骨骼,不仅维持了面部的形态与美观,更是咀嚼、呼吸、吞咽和言语等多项重要生理功能行使的基础。它们的损伤或异常既会造成患者相应功能的障碍,也会严重影响其心理健康。骨组织是全身最活跃的组织之一,骨吸收与骨形成间微妙的平衡既维持着骨组织的稳定,也可使其发生一定的适应性改建以应对外部条件的变化。多潜能的间充质干细胞(mesenchymal stem cell, MSC)向成骨细胞谱系分化(osteoblast lineage differentiation)是骨组织发生与形成的物质基础,也是维持骨稳态的重要因素。成骨分化过程的异常可能打破生理性的骨平衡,这与骨质疏松、骨肿瘤和骨关节炎等多种骨相关疾病有着密切联系,同时也对骨折愈合与骨组织缺损修复产生消极影响。探究成骨分化的过程及其调控因素,

一方面有助于深入认识骨发生、发育和改建等重要生理过程,理解骨相关疾病的致病机理;另一方面也可深化对骨组织工程(bone tissue engineering, BTE)的认知,为骨组织缺损的修复寻找有效的策略。长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA)作为胞内重要的调控因子,可参与细胞多种生物学过程,在调控成骨分化方面也发挥着重要作用。本文拟阐述目前在成骨分化方面起重要作用的lncRNA及其机制,并探讨目前研究存在的不足及未来的发展前景。

一、长链非编码RNA的概述

在哺乳动物基因组内,约有80%的基因能被转录,但其中仅有1%左右的转录本最终能被翻译为有功能蛋白质。在其余无成熟蛋白质编码功能的转录本中,长度大于200个核苷酸的被称lncRNA。随着研究的深入,人们发现这些曾被认为是基因组内“转录噪音”(transcriptional noise)的lncRNA可能在机体多项生命活动中发挥着重要的调控作用,这为理解细胞多种生物学过程提供了新的角度与方向^[1-2]。lncRNA在基因组上位置各异,剪接及修饰机制复杂,这给分类带来了诸多困难。目前,多位学者尝试从不同角度给lncRNA进行分类,暂时没有统一的标准^[3-5]。但可以肯定的是,lncRNA特殊的基因组定位是其发挥作用的重要基础。相较于微小RNA(microRNA, miRNA)等小片段非编码RNA,更长的片段及更复杂的结构赋予lncRNA更丰富的作用方式。有学者将lncRNA的作用机制归纳为信号(Signals)、诱骗(Decoys)、引导(Guides)和结构骨架(Scaffolds)这四种基本方式^[6]。从功能上来看,lncRNA可在基因表达水平、转录水平、转录后修饰及翻译等多个阶段发挥顺式或反式调控作用,进而影响细胞相应的生物学过程及机体各项生命活动^[7-8]。某些lncRNA也可通过编码小分子多肽调控相关基因表达从而发挥其生物学作用^[9]。而在骨生物学领域,lncRNA作为调控成骨分化的重要因子,正逐渐成为研究者关注的焦点。

二、成骨分化的过程及其调控因素

MSC向成骨谱系分化是一时序性极强的动态过程,受到微环境多种因素的调控。从整体的角度上看,成骨分化过程可分为谱系定向、细胞增殖、基质成熟及基质矿化这四个连续而无明显界限的阶段^[10-11]。从细胞的角度看,MSC将经历骨祖细胞(osteoprogenitor cells)、前体成骨细胞(pre-osteoblast)、

成熟成骨细胞(osteoblast)及终末阶段的骨细胞/骨衬里细胞(osteocyte/bone lining cells)几个重要时期^[12-13]。而从基因表达的角度看,特定的基因在成骨分化过程的不同时期,不同阶段受控地表达是整个过程顺利进行的关键。参与成骨分化的基因数量众多,其中编码RUNX家族转录因子2(RUNX family transcription factor 2, RUNX2)、成骨相关转录因子抗体(ostrix, OSX)、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)、骨钙素(osteocalcin, OCN)等重要成骨相关蛋白的基因均显示出明显的时序性表达特征^[14-16]。从调控的角度看,成骨分化是一多因素参与的精密过程。细胞通过细胞膜或胞质内的特定受体接受外界的信号,进而通过复杂的信号转导过程将信息传递到基因层面,保证成骨相关基因,尤其是一些关键基因的正确表达。同时,不同调控因子间可通过信号通路网络组成复杂的调控网络,共同维持着成骨分化的平衡。骨形成蛋白(bone formation protein, BMP)、转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β)、甲状旁腺激素(parathyroid hormone, PTH)、前列腺素E2(prostaglandin E2, PGE2)、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)等多种调控因子及Wnt/ β -Catenin、TGF- β /BMP、Notch等多条信号通路在成骨分化中的作用机制已有了较为深入的研究^[10,17],而以miRNA为代表的非编码RNA在成骨分化过程中的作用也逐步被揭示^[18]。lncRNA作为成骨分化调控网络中的重要一员也逐渐受到研究者们关注。

三、成骨分化相关的长链非编码RNA

如前所述,由MSC向成骨谱系定向分化是一多时期、多阶段的动态过程。不同来源的MSC,成骨分化不同的时期与阶段间,基因的表达情况可能完全不同,作用的方式也可能存在差异。随着基因测序技术的不断发展,利用高通量测序配合生物信息学分析已成为大规模筛选与成骨分化相关lncRNA的重要手段。例如,Zhang等^[19]利用高通量测序手段对正常及成骨诱导分化后的人骨髓间充质干细胞(human bone marrow-derived mesenchymal stem cell, hBMSC)进行基因测序,配合生物信息学手段对比两者之间表达存在明显差异基因,发现hBMSC成骨向分化后,有785个lncRNA表达显著升高,有623个显著下降。接下来其又进一步筛选出6个可能的关键lncRNA,并通过细胞学实验验证了其中的lncRNA XR_111050对hBMSC成骨分化的影响。又

表1 与间充质干细胞成骨分化相关的长链非编码RNA

研究模型	LncRNA 表达谱	注释	参考文献	年份
hBMSC	785个上调;623个下调	成骨诱导分化-未成骨诱导分化对比	[19]	2017
hBMSC	318个上调;732个下调	成骨诱导分化-未成骨诱导分化对比	[21]	2019
hBMSC	208个上调;131个下调	与hAMSC共培养后成骨诱导分化-未共培养后成骨诱导分化对比	[22]	2017
hBMSC	433个上调,233个下调	成骨诱导分化-未成骨诱导分化对比	[23]	2017
hBMSC	1392个上调,641个下调	经葡萄糖菌A蛋白(SpA)处理后成骨诱导分化-未处理后成骨诱导分化对比	[24]	2016
hASC	478个上调;507个下调	成骨诱导分化-未成骨诱导分化对比	[25]	2018
hASC	1460个上调,1112个下调	成骨诱导分化-未成骨诱导分化对比	[26]	2017
hPDLSC	777个上调;183个下调	成骨诱导分化-未成骨诱导分化对比	[27]	2017
mBMSC	16个上调;24个下调	成骨诱导分化-未成骨诱导分化对比	[28]	2018
mBMSC	140个上调;151个下调	成骨诱导分化-未成骨诱导分化对比	[29]	2018
rMSC	281个上调;14个下调	经4-胆甾烯-3-酮诱导成骨向分化-未经诱导对比	[30]	2018
iMSC	574个差异性表达	成骨诱导分化-未成骨诱导分化对比	[31]	2015
Mouse calvarial preosteoclast cells	3948个差异性表达	成骨诱导分化前期(2~8 d)与后期(10~18 d)对比	[32]	2018
C3H10T1/2 cells	59个上调;57个下调	骨形成蛋白2(BMP-2)处理前后对比	[33]	2013

注:hAMSC为人羊膜来源间充质干细胞;hPDLSC为人牙周膜干细胞;mBMSC为小鼠骨髓间充质干细胞;rMSC为小鼠间充质干细胞;iMSC为永生间充质干细胞;Mouse calvarial preosteoclast cells为小鼠颅骨前成骨细胞;C3H10T1/2 cells为小鼠胚胎间充质干细胞株

如,Yu等^[20]通过类似方式筛选人脂肪间充质干细胞(human adipose tissue-derived mesenchymal stem cell, hASC)成骨诱导分化过程中差异性表达的lncRNA,最终明确了在hASC成骨分化中特异性高表达的lncRNA PCAT1,并进一步探究其可能的调控机制。本文总结了近年来不同研究与成骨分化相关的lncRNA表达谱,具体内容可参见表1。

四、长链非编码RNA调控成骨分化的机制

1. LncRNA在基因表观遗传水平的调控:表观遗传修饰是基因特异性表达的重要分子机制,主要包括DNA甲基化、组蛋白修饰及染色质重构等^[34]。LncRNA可通过与相关修饰蛋白相互作用,在表观遗传水平调控成骨分化。例如,抑制成骨分化长链非编码RNA 1(osteogenic differentiation inhibitory lncRNA 1, ODIR1)可通过募集簇集蛋白3(clusterin 3, CUL3),介导F盒单蛋白25(F-box only protein 25, FBXO25)的降解,抑制FBXO25对OSX启动子区域的组蛋白第二亚基120号赖氨酸泛素化(H2BK120ub)和组蛋白第三亚基四号赖氨酸的三甲基化(H3K4me3)修饰,进而降低OSX的表达,最终显著抑制人脐带间充质干细胞(human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells, hUC-MSC)成骨向的分化^[35](图1A)。在人经血源性子宫内膜干细胞(human menstrual blood-derived stem cell, hMenSC)与hUC-MSC中HOXA转录本反义RNA 1(HOXA transcript

antisense RNA myeloid-specific 1, HOTAIRM1)可通过级联激活JNK/AP-1通路(包括JNK蛋白与C-JUN蛋白的磷酸化),促使磷酸化的C-JUN蛋白募集P300蛋白至RUNX2基因附近,介导此区域组蛋白第三亚基27号赖氨酸乙酰化(H3K27ac)修饰,进而促进RUNX2的表达及成骨向分化^[36]。有趣的是,在人牙滤泡干细胞(human dental follicle derived stem cell, hDFSC)中,HOTAIRM1通过调控DNA甲基转移酶1(DNA methyltransferase 1, DNMT1)的表达水平及DNMT1在HOXA2启动子区的富集程度,进而在表观遗传水平发挥成骨分化的调控作用^[37]。提示,lncRNA的调控机制远比想象中复杂,在不同细胞中、不同条件下,其发挥作用的机制和效果都可能存在差异。

2. LncRNA在基因转录水平的调控:已有足量证据显示,lncRNA可通过调控反式因子或者顺式元件,进而在转录水平影响相关基因的表达^[38]。目前的研究结果提示lncRNA也可在基因转录水平调控成骨分化。例如,长链非编码RNA牛磺酸上调基因1(taurine up-regulated gene 1, TUG1)可显著抑制hBMSC成骨向的分化。具体机制为TUG1在胞质中结合SMAD5蛋白,抑制磷酸化SMAD5蛋白(p-SMAD5)的核转位,从而抑制其后续的生物作用(图1B)。众所周知,SMAD蛋白作为一经典的转录因子,可激活多种成骨关键基因的表达而促进成骨向分化^[39]。LncRNA AK045490对成骨分化也有明显

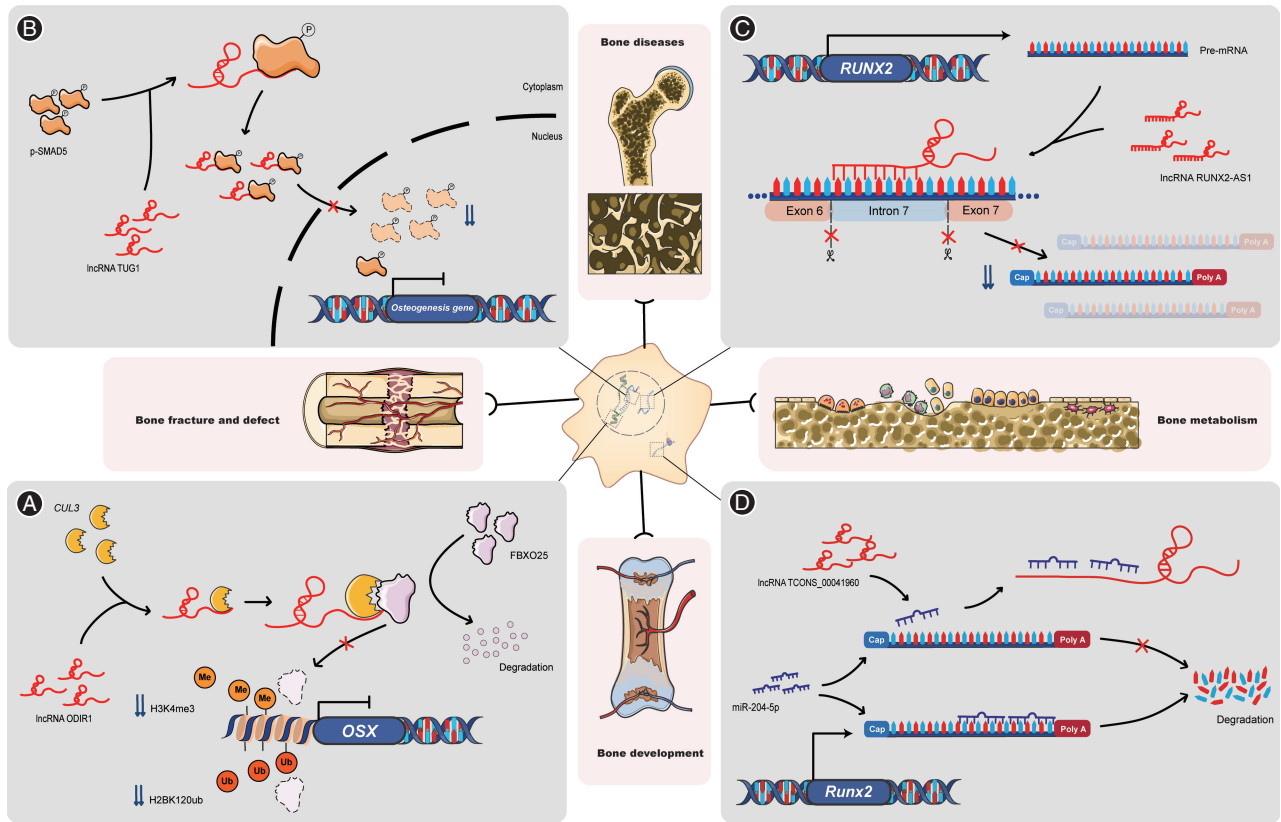


图1 长链非编码RNA(lncRNA)调控成骨分化的相关机制 lncRNA可在基因表达表观遗传水平、转录水平、转录后水平等发挥调控成骨分化的作用,参与骨多种生理及病理过程。A:lncRNA在基因表观遗传水平的调控:lncRNA ODIR1通过募集CUL3,介导FBXO25的降解,从而抑制FBXO25对OSX启动子区域H2BK120ub与H3K4me3修饰,进而抑制OSX的表达,最终抑制hUC-MSC成骨向的分化;B:lncRNA在基因转录水平的调控:lncRNA TUG1可在胞质结合p-SMAD5蛋白,抑制其核转位,从而显著抑制hBMSC的成骨分化;C:lncRNA调控pre-mRNA的选择性剪接:lncRNA RUNX2-AS1可通过特异性结合RUNX2 pre-mRNA的第七号内含子,从而阻止其后续的选择性剪接,进而抑制RUNX2的表达及hBMSC的成骨向分化;D:lncRNA调控miRNA的功能:lncRNA TCONS_00041960可通过ceRNA机制,富集miR-204-5p,解除其对Runx2的表达抑制,进而促进rBMSC成骨向分化

抑制作用。体外实验表明AK045490可通过抑制 β -CATENIN蛋白的核转位,抑制T细胞转录因子1(T cell transcription factor 1, TCF1)的激活,减少Runx2的表达进而抑制MC3T3-E1细胞的成骨分化;而体内实验则表明敲低AK045490的表达可部分逆转卵巢去势小鼠中骨质疏松的表型^[40]。

3. lncRNA在基因转录后水平的调控:lncRNA可通过参与mRNA的剪接、修饰等多个环节,在基因转录后水平调控成骨分化。例如,位于胞核的RUNX2反义转录本1(RUNX2 antisense transcript 1, RUNX2-AS1)可通过特异性结合RUNX2前体mRNA(pre-mRNA)的第七号内含子,从而阻止其后续的选择性剪接,进而抑制RUNX2的表达及hBMSC的成骨向分化^[41](图1C)。在多发骨髓瘤患者来源的间充质干细胞(multiple myeloma-derived mesenchymal stem cell, MM-MSC)中,位于胞质的HOXC反义转录本3(HOXC antisense transcript 3,

HOXC-AS3)作为HOXC10的天然反义lncRNA,可通过与HOXC10 mRNA碱基互补的部分与之结合,增加HOXC10 mRNA的稳定性,进而增加HOXC10的表达,削弱MM-MSC的成骨向分化性能。而在正常人来源的间充质干细胞(normal donor-derived mesenchymal stem cell, ND-MSC)中选择性敲低HOXC-AS3,则会能提高其成骨分化的能力^[42]。综上,lncRNA在pre-mRNA的选择性剪接及mRNA的后续修饰中均起到了重要的作用,这可能是其调控MSC成骨向分化的重要机制。

值得注意的是,lncRNA与miRNA组成调控网络也是其发挥作用的重要方式。例如,胞质内的基因间长链非编码RNA-重编程调控因子(long intergenic noncoding RNA-regulator of reprogramming, Linc-ROR)可通过竞争内源性RNA(competing endogenous, ceRNA)机制,富集miR-138与miR-145两种miRNA,从而解除两者对于E盒结合锌指蛋白2(zinc finger

E-box protein 2, ZEB2)的表达抑制作用。ZEB2又进一步促进 β -CATENIN的表达,进而通过Wnt/ β -Catenin通路促进hBMSC的成骨向分化^[43]。又如lncRNA TCONS_00041960可通过ceRNA机制,富集miR-204-5p,解除其对*Runx2*的表达抑制,进而促进大鼠骨髓间充质干细胞(rat bone marrow-derived mesenchymal stem cells, rBMSC)成骨向分化(图1D);同时,通过富集miR-125a-3p,解除其对亮氨酸拉链蛋白(glucocorticoid-induced leucine zipper, *Gilz*)的表达抑制,*GILZ*蛋白又进一步抑制成脂关键因子过氧化物酶体增殖剂激活受体 γ (peroxisome proliferators-activated receptors gamma, *Ppar γ*)的表达,最终削弱rBMSC的成脂分化性能。由此可见,lncRNA TCONS_00041960在MSC成骨-成脂平衡中起到了重要的调控作用^[44]。

4. 从lncRNA与成骨相关信号通路的联系:Wnt/ β -Catenin通路作为细胞信号转导的重要途径,参与众多生物学过程。 β -CATENIN可激活众多成骨关键因子,如*RUNX2*或者*OSX*等的转录,进而促进成骨向分化^[45]。例如,白藜芦醇(RSV)可上调长链非编码RNA *KCNQ1*重叠转录本1(lncRNA *KCNQ1OT1*)的表达,进而通过Wnt/ β -Catenin通路促进小鼠间充质干细胞(mice mesenchymal stem cell, mMSC)的成骨分化^[46]。而*TWIST1*同系物1相关长链非编码RNA(lncRNA *TWIST1*)可抑制与其在基因组上反向毗邻的编码基因*TWIST1*的表达,进而激活Wnt/ β -Catenin通路,促进hPDLSC的成骨向分化^[47]。TGF- β 通路在细胞的增殖、分化、凋亡,胚胎发育,器官的形成等方面有重要的调控作用;而BMP蛋白作为TGF- β 超家族的成员,可有效激活MSC成骨分化的潜能^[48-49]。例如,lncRNA *LOC10369133*可通过竞争性结合miR-138-5p,解除其对骨形成蛋白受体2(bone morphogenetic protein receptor type 2, *Bmpr2*)的表达抑制作用,进而激活BMP通路促进rBMSC的成骨向分化^[50]。而前文所述的Zhang等^[39]的研究显示,lncRNA *TUG1*可通过抑制p-SMAD5蛋白的核转位,进而抑制TGF- β 通路,显著抑制hBMSC的成骨分化能力。核转录因子 κ B(nuclear transcription factor-kappa B, NF- κ B)通过调控多种关键基因的表达,参与机体免疫反应、炎症反应、细胞凋亡、肿瘤发生等多种生物学过程^[51]。NF- κ B通路作为机体炎症的重要中介分子,是理解炎症微环境对于成骨分化影响的重要切入点。在hMenSC与hUS-MSC中,

NF- κ B可通过募集组蛋白去乙酰化酶抑制剂2(histone deacetylase 2, HDAC2)至成骨关键基因特异性磷酸酶7(specificity phosphatase 7, *SP7*),也就是*OSX*的启动子附近,促进此区域组蛋白第三亚基27号赖氨酸乙酰化(H3K27ac),进而抑制*SP7*的表达,抑制MSC成骨向分化;而*HOXA*反义转录本2(*HOXA antisense transcript 2*, *HOXA-AS2*)则可通过阻止RELA蛋白310号赖氨酸乙酰化,抑制NF- κ B的功能,进而解除其对*SP7*的转录抑制作用,促进MSC的成骨向分化^[52]。同时也有研究显示,lncRNA可通过其他途径,如PI3K/Akt通路^[25],p38 MAPK通路^[53]等参与成骨分化过程的调控。

总的来说,lncRNA复杂的结构及其在基因组上位置的多样性暗示了其调控机制的复杂。目前来看,lncRNA作为调控成骨向分化的重要因子,在基因表达水平、转录水平及转录后修饰等多各方面均发挥着重要的作用。同时,lncRNA可与各成骨相关信号通路间组成复杂的交联网络。在不同细胞、不同条件下,lncRNA可通过不同的信号通路调控成骨分化性能。

本文试从细胞模型、体内验证、调控机制、相关信号通路及作用效果几个方面对近年来lncRNA调控成骨向分化相关的研究做一总结,具体内容可参见表2。

五、问题与展望

随着研究的不断深入,lncRNA在多种生物学过程中的调控作用正被逐步地揭示。可目前来看,lncRNA对成骨分化调控的相关研究仍存在着不少的盲点与不足。

首先,对于调控机制的研究仍需进一步深入。不同的lncRNA因来源、剪接、修饰等的不同,其结构、定位、功能可能产生巨大差异,这提示lncRNA的作用机理可能远比想象中复杂。如果能从lncRNA在基因组的位置及其与毗邻基因的联系,或者从lncRNA的结构、修饰、亚细胞分布与功能的联系等角度思考其对基因信息传递的影响,可能更有助于进一步理解其中复杂的调控网络。同时也需要注意,成骨分化是精确而又具有很强时序性的过程,同一个lncRNA在不同时间段对成骨分化的影响可能不同,对其机制的研究有必要考虑时间这一重要维度。

其次,MSC的命运决定和成骨谱系分化受到微环境多种因素的影响,故研究成骨分化的调控不应

表2 长链非编码RNA(lncRNA)调控MSC成骨分化的研究总结

LncRNA	细胞模型	体内验证	调控机制	相关信号通路	作用效果	参考文献	年份
NKILA	hMenSC & hUC-MSC	无	NF- κ B/HDAC2/RUNX2;RXFP1/Akt	NF- κ B通路;PI3K-Akt通路	促成骨	[54]	2020
FER1L4	hPDLSC	有	miR-874-3p/VEGFA	未明确	促成骨	[55]	2020
LINC00707	hBMSC	无	miR-145/LRP5/ β -catenin	Wnt/ β -catenin通路	促成骨	[56]	2020
HOXA-AS2	hUC-MSC	无	NF- κ B/HDAC2/SP7	NF- κ B通路	促成骨	[52]	2019
XIXT	hBMSC	无	miR-30a-5p/RUNX2	未明确	促成骨	[57]	2019
MSC-AS1	BMSC	无	miR-140-5p/BMP2/Smad	BMP通路	促成骨	[58]	2019
AK045490	MC3T3-E1	有	β -Catenin/TCF1/Runx2	Wnt/ β -Catenin通路	抑制成骨	[40]	2019
LncRNA-OG	hBMSC	有	hnRNPK/ LncRNA-OG/BMP family	BMP通路	促成骨	[21]	2019
HOXC-AS3	hBMSC;U266 cell line	有	提高HOXC10 mRNA稳定性	未明确	抑制成骨	[42]	2019
LOC103691336	rBMSC	有	miR-138-5p/BMP2	BMP通路	促成骨	[50]	2019
ODIR1	hUC-MSC	有	CUL3/FBXO25/OSX	未明确	抑制成骨	[35]	2019
HOTAIRM1	hMenSC;hUC-MSC	无	JNK/c-Jun/P300/RUNX2	JNK/AP-1通路	抑制成骨	[36]	2019
	hDFSC	无	DNMT1/HOXA2	未明确	促成骨	[37]	2020
SNHG1	mBMSC	无	Nedd4/p38	P38 MAPK通路	抑制成骨	[59]	2019
PCAT1	hASC	无	miR-145-5p/TLR4	TLR通路	促成骨	[20]	2018
HIF1A-AS2	hADSC	无	miR-665/IL6/PI3K/Akt	PI3K/Akt通路	促成骨	[25]	2018
RUNX2-AS1	hBMSC	有	抑制RUNX2 pre-mRNA选择性剪接	未明确	抑制成骨	[41]	2018
DANCR	hBMSC	无	抑制p38磷酸化	P38 MAPK通路	抑制成骨	[53]	2018
H19	mBMSC	无	miR-188/LCoR	不明	促成骨	[29]	2018
	hBMSC	无	miR-138/PTK2	PTK通路	促成骨	[60]	2018
KCNQ10T1	mMSC	无	与Wnt/ β -catenin通路相关	Wnt/ β -catenin通路	促成骨	[46]	2018
Linc-ROR	hBMSC	无	miR-138 & miR-145/ZEB2/ β -catenin	Wnt/ β -catenin通路	促成骨	[43]	2018
MEG3	hBMSC	无	miR-133a-3p/SLC39A1	未明确	抑制成骨	[61]	2017
	hDFSC	无	EZH2/ β -catenin	Wnt/ β -catenin通路	抑制成骨	[62]	2018
TUG1	hPDLSC	无	募集LIN28A	未明确	促成骨	[63]	2018
	hBMSC	无	抑制p-SMAD5核转位	未明确	抑制成骨	[39]	2019
TCONS_00041960	rBMSC	无	miR-204-5p/RUNX2	未明确	促成骨	[56]	2020
	hBMSC	无	miR-143/OSX	未明确	促成骨	[64]	2018
MALAT1	hASC	无	miR-30/RUNX2	未明确	促成骨	[65]	2019
	hBMSC & hFOB1.19	有	miR-34c/SATB2	未明确	促成骨	[66]	2019

注:hDFSC为人牙滤泡干细胞;hFOB1.19为人成骨细胞系;U266为人骨髓瘤细胞系

忽略细胞与细胞、细胞与微环境间的信息交流。有趣的是,有文献指出lncRNA可被包裹入外泌体内,由一个细胞内传递到另一个细胞内,进而发挥其调控功能^[41,67-68]。这提示,lncRNA不仅是胞内信息传递的重要因子,也可能是细胞与细胞、细胞与微环境间信息交流的重要媒介。这也为深入理解lncRNA对成骨分化调控的机制提供了新的思路。

最后,目前的研究与临床应用间仍存在着不小的差距。目前已有大量研究揭示了lncRNA在成骨分化过程中的重要作用,但遗憾的是,其中大多数的研究仅集中于细胞水平,缺乏稳定可靠的动物模型加以确证。这说明目前对lncRNA的研究仍处于起步阶段,将lncRNA应用于骨相关疾病的治疗或者促进骨组织再生修复的靶点也只停留在理论阶

段,临床应用条件仍不成熟。

近年来,蓬勃发展生物信息学成为研究者从“大数据”视角探究基因信息传递相关调控网络的重要工具;基因编辑技术,尤其是CRISPR/Cas9系统的飞速发展,让研究者看到了对特定细胞进行安全、精准、高效基因编辑的希望^[69];而生物材料学等新兴交叉学科的不断进展,则为组织工程学提供了更多的可能性^[70]。相信随着基础研究的不断进展,lncRNA调控成骨向分化的更多机制将被揭示,我们将对骨发生、发育、改建等生理过程及多种骨相关疾病的致病机理有更深入的理解,也终将寻找到安全、有效的策略实现骨相关疾病的治疗及骨缺损的再生与修复。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] Lee H, Zhang Z, Krause HM. Long Noncoding RNAs and Repetitive Elements: Junk or Intimate Evolutionary Partners? [J]. Trends Genet, 2019, 35(12): 892-902. DOI: 10.1016/j.tig.2019.09.006.
- [2] Uszczyńska-Ratajczak B, Lagarde J, Frankish A, et al. Towards a complete map of the human long non-coding RNA transcriptome [J]. Nat Rev Genet, 2018, 19(9): 535-548. DOI: 10.1038/s41576-018-0017-y.
- [3] Yao RW, Wang Y, Chen LL. Cellular functions of long noncoding RNAs [J]. Nat Cell Biol, 2019, 21(5): 542-551. DOI: 10.1038/s41556-019-0311-8.
- [4] Sun Q, Hao Q, Prasanth KV. Nuclear Long Noncoding RNAs: Key Regulators of Gene Expression [J]. Trends Genet, 2018, 34(2): 142-157. DOI: 10.1016/j.tig.2017.11.005.
- [5] Wu H, Yang L, Chen LL. The Diversity of Long Noncoding RNAs and Their Generation [J]. Trends Genet, 2017, 33(8): 540-552. DOI: 10.1016/j.tig.2017.05.004.
- [6] Wang KC, Chang HY. Molecular Mechanisms of Long Noncoding RNAs [J]. Mol Cell, 2011, 43(6): 904-914. DOI: 10.1016/j.molcel.2011.08.018.
- [7] Marchese FP, Raimondi I, Huarte M. The multidimensional mechanisms of long noncoding RNA function [J]. Genome Biol, 2017, 18(1): 206. DOI: 10.1186/s13059-017-1348-2.
- [8] Kaikkonen MU, Adelman K. Emerging Roles of Non-Coding RNA Transcription [J]. Trends Biochem Sci, 2018, 43(9): 654-667. DOI: 10.1016/j.tibs.2018.06.002.
- [9] Huang JZ, Chen M, Chen D, et al. A Peptide Encoded by a Putative LncRNA HOXB-AS3 Suppresses Colon Cancer Growth [J]. Molecular Cell, 2017, 68(1): 171-184.e6. DOI: 10.1016/j.molcel.2017.09.015.
- [10] Hankenson KD, Gagne K, Shaughnessy M. Extracellular signaling molecules to promote fracture healing and bone regeneration [J]. Adv Drug Deliv Rev, 2015, 94: 3-12. DOI: 10.1016/j.addr.2015.09.008.
- [11] Murshed M. Mechanism of Bone Mineralization [J]. Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine, 2018, 8(12): a031229. DOI: 10.1101/cshperspect.a031229.
- [12] Lopes D, Martins-Cruz C, Oliveira MB, et al. Bone physiology as inspiration for tissue regenerative therapies [J]. Biomaterials, 2018, 185: 240-275. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2018.09.028.
- [13] Wu M, Wang Y, Shao JZ, et al. Cbfb Governs osteoblast-adipocyte lineage commitment through enhancing β -catenin signaling and suppressing adipogenesis gene expression [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2017, 114(38): 10119-10124. DOI: 10.1073/pnas.1619294114.
- [14] Vimalraj S, Arumugam B, Miranda PJ, et al. Runx2: Structure, function, and phosphorylation in osteoblast differentiation [J]. Int J Biol Macromol, 2015, 78: 202-208. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2015.04.008.
- [15] An J, Yang H, Zhang Q, et al. Natural products for treatment of osteoporosis: The effects and mechanisms on promoting osteoblast-mediated bone formation [J]. Life Sci, 2016, 147: 46-58. DOI: 10.1016/j.lfs.2016.01.024.
- [16] Sinha KM, Zhou X. Genetic and molecular control of osterix in skeletal formation [J]. J Cell Biochem, 2013, 114(5): 975-984. DOI: 10.1002/jcb.24439.
- [17] Majidinia M, Sadeghpour A, Yousefi B. The Roles of Signaling Pathways in Bone Repair and Regeneration [J]. J Cell Physiol, 2018, 233(4): 2937-2948. DOI: 10.1002/jcp.26042.
- [18] Wang J, Liu S, Li J, et al. Roles for miRNAs in osteogenic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells [J]. Stem Cell Res Ther, 2019, 10(1): 197. DOI: 10.1186/s13287-019-1309-7.
- [19] Zhang W, Dong R, Diao S, et al. Differential long noncoding RNA/mRNA expression profiling and functional network analysis during osteogenic differentiation of human bone marrow mesenchymal stem cells [J]. Stem Cell Res Ther, 2017, 8(1): 30. DOI: 10.1186/s13287-017-0485-6.
- [20] Yu L, Qu H, Yu Y, et al. LncRNA-PCAT1 targeting miR-145-5p promotes TLR4-associated osteogenic differentiation of adipose-derived stem cells [J]. J Cell Mol Med, 2018, 22(12): 6134-6147. DOI: 10.1111/jcmm.13892.
- [21] Tang S, Xie Z, Wang P, et al. LncRNA-OG Promotes the Osteogenic Differentiation of Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells Under the Regulation of HnRNPK [J]. Stem Cells, 2019, 37(2): 270-283. DOI: 10.1002/stem.2937.
- [22] Wang J, Miao J, Meng X, et al. Expression of long non-coding RNAs in human bone marrow mesenchymal stem cells co-cultured with human amnion-derived mesenchymal stem cells [J]. Molecular Medicine Reports, 2017, 16(5): 6683-6689. DOI: 10.3892/mmr.2017.7465.
- [23] Qiu X, Jia B, Sun X, et al. The Critical Role of Long Noncoding RNA in Osteogenic Differentiation of Human Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells [J]. Biomed Res Int, 2017, 2017: 5045827. DOI: 10.1155/2017/5045827.
- [24] Cui Y, Lu S, Tan H, et al. Silencing of Long Non-Coding RNA NONHSAT009968 Ameliorates the Staphylococcal Protein A-Inhibited Osteogenic Differentiation in Human Bone Mesenchymal Stem Cells [J]. Cell Physiol Biochem, 2016, 39(4): 1347-1359. DOI: 10.1159/000447839.
- [25] Wu R, Ruan J, Sun Y, et al. Long non-coding RNA HIF1A-AS2 facilitates adipose-derived stem cells (ASCs) osteogenic differentiation through miR-665/IL6 axis via PI3K/Akt signaling pathway [J]. Stem Cell Res Ther, 2018, 9(1): 348. DOI: 10.1186/s13287-018-1082-z.
- [26] Huang G, Kang Y, Huang Z, et al. Identification and Characterization of Long Non-Coding RNAs in Osteogenic Differentiation of Human Adipose-Derived Stem Cells [J]. Cell Physiol Biochem, 2017, 42(3): 1037-1050. DOI: 10.1159/000478751.

- [27] Gu X, Li M, Jin Y, et al. Identification and integrated analysis of differentially expressed lncRNAs and circRNAs reveal the potential ceRNA networks during PDLSC osteogenic differentiation [J]. *BMC Genet*, 2017, 18: 100. DOI: 10.1186/s12863-017-0569-4.
- [28] Sun X, Yuan Y, Xiao Y, et al. Long non-coding RNA, Bmcb, regulates osteoblastic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 506(3):536-542. DOI:10.1016/j.bbrc.2018.09.142.
- [29] Wang Y, Liu W, Liu Y, et al. Long noncoding RNA H19 mediates LCoR to impact the osteogenic and adipogenic differentiation of MBMSCs in mice through sponging MiR-188 [J]. *J Cell Physiol*, 2018, 233(9): 7435-7446. DOI: 10.1002/jcp.26589.
- [30] Hou Q, Huang Y, Liu Y, et al. Profiling the miRNA-mRNA-lncRNA interaction network in MSC osteoblast differentiation induced by (+)-cholesten-3-one [J]. *BMC Genomics*, 2018, 19: 783. DOI: 10.1186/s12864-018-5155-2.
- [31] Song WQ, Gu WQ, Qian YB, et al. Identification of long non-coding RNA involved in osteogenic differentiation from mesenchymal stem cells using RNA-Seq data [J]. *Genet Mol Res*, 2015, 14(4): 18268-18279. DOI: 10.4238/2015.December.23.14.
- [32] Kim M, Yu Y, Moon JH, et al. Differential Expression Profiling of Long Noncoding RNA and mRNA during Osteoblast Differentiation in Mouse [J]. *Int J Genomics*, 2018: 7691794. DOI:10.1155/2018/7691794.
- [33] 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. DOI: 10.3892/mmr.2013.1540.
- [34] Cavalli G, Heard E. Advances in epigenetics link genetics to the environment and disease [J]. *Nature*, 2019, 571(7766): 489-499. DOI: 10.1038/s41586-019-1411-0.
- [35] He S, Yang S, Zhang Y, et al. LncRNA ODIR1 Inhibits Osteogenic Differentiation of HUC-MSCs through the FBXO25/H2BK120ub/H3K4me3/OSX Axis [J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10(12):947. DOI:10.1038/s41419-019-2148-2.
- [36] Fu L, Peng S, Wu W, et al. LncRNA HOTAIRM1 promotes osteogenesis by controlling JNK/AP-1 signalling-mediated RUNX2 expression [J]. *J Cell Mol Med*, 2019, 23(11): 7517-7524. DOI: 10.1111/jcmm.14620.
- [37] Chen Z, Zheng J, Hong H, et al. LncRNA HOTAIRM1 promotes osteogenesis of HDFSCs by epigenetically regulating HOXA2 via DNMT1 in vitro [J]. *J Cell Physiol*, 2020: 1-13. DOI: 10.1002/jcp.29695.
- [38] Batista PJ, Chang HY. Long noncoding RNAs: cellular address codes in development and disease [J]. *Cell*, 2013, 152(6): 1298-1307. DOI: 10.1016/j.cell.2013.02.012.
- [39] Zhang W, Chen L, Wu J, et al. Long noncoding RNA TUG1 inhibits osteogenesis of bone marrow mesenchymal stem cells via Smad5 after irradiation [J]. *Theranostics*, 2019, 9(8): 2198-2208. DOI: 10.7150/thno.30798.
- [40] Li D, Yu K, Xiao T, et al. LOC103691336/MiR-138-5p/BMP2 axis modulates Mg-mediated osteogenic differentiation in rat femoral fracture model and rat primary bone marrow stromal cells [J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(11): 21316-21330. DOI: 10.1002/jcp.28736.
- [41] Li B, Xu H, Han H, et al. Exosome-mediated transfer of lncRUNX2-AS1 from multiple myeloma cells to MSCs contributes to osteogenesis [J]. *Oncogene*, 2018, 37(41): 5508-5519. DOI: 10.1038/s41388-018-0359-0.
- [42] Li B, Han H, Song S, et al. HOXC10 Regulates Osteogenesis of Mesenchymal Stromal Cells Through Interaction with Its Natural Antisense Transcript LncHOXC-AS3 [J]. *Stem Cells*, 2019, 37(2): 247-256. DOI: 10.1002/stem.2925.
- [43] Feng L, Shi L, Lu Y, et al. Linc-ROR Promotes Osteogenic Differentiation of Mesenchymal Stem Cells by Functioning as a Competing Endogenous RNA for miR-138 and miR-145 [J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2018, 11: 345-353. DOI: 10.1016/j.omtn.2018.03.004.
- [44] 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. DOI: 10.1002/jcp.26424.
- [45] Huang P, Yan R, Zhang X, et al. Activating Wnt/ β -catenin signaling pathway for disease therapy: Challenges and opportunities [J]. *Pharmacol Ther*, 2019, 196: 79-90. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2018.11.008.
- [46] Gao X, Ge J, Li W, et al. LncRNA KCNQ10T1 promotes osteogenic differentiation to relieve osteolysis via Wnt/ β -catenin activation [J/O]. *Cell Biosci*, 2018, 8: 19. DOI: 10.1186/s13578-018-0216-4.
- [47] Xu Y, Qin W, Guo D, et al. LncRNA-TWIST1 Promoted Osteogenic Differentiation Both in PPDLSCs and in HPDLSCs by Inhibiting TWIST1 Expression [J]. *Biomed Res Int*, 2019, 2019: 8735952. DOI: 10.1155/2019/8735952.
- [48] Shi Y, Massagué J. Mechanisms of TGF- β signaling from cell membrane to the nucleus [J]. *Cell*, 2003, 113(6): 685-700. DOI: 10.1016/S0092-8674(03)00432-X.
- [49] Budi EH, Duan D, Derynck R. Transforming Growth Factor- β Receptors and Smads: Regulatory Complexity and Functional Versatility [J]. *Trends Cell Biol*, 2017, 27(9): 658-672. DOI: 10.1016/j.tcb.2017.04.005.
- [50] Li D, Yu K, Xiao T, et al. LOC103691336/MiR-138-5p/BMP2 axis modulates Mg-mediated osteogenic differentiation in rat femoral fracture model and rat primary bone marrow stromal cells [J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(11): 21316-21330. DOI: 10.1002/jcp.28736.
- [51] Mulero MC, Wang VYF, Huxford T, et al. Genome reading by the NF-KB transcription factors [J]. *Nucleic Acids Research*,

- 2019,47(19):9967-9989. DOI:10.1093/nar/gkz739.
- [52] Zhu X, Yu J, Du J, et al. LncRNA HOXA - AS2 positively regulates osteogenesis of mesenchymal stem cells through inactivating NF- κ B signalling[J]. J Cell Mol Med, 2019,23(2):1325-1332. DOI:10.1111/jcmm.14034.
- [53] Zhang J, Tao Z, Wang Y. Long non - coding RNA DANCR regulates the proliferation and osteogenic differentiation of human bone-derived marrow mesenchymal stem cells via the p38 MAPK pathway [J]. Int J Mol Med, 2018, 41(1):213-219. DOI:10.3892/ijmm.2017.3215.
- [54] Zhang Y, Cao X, Li P, et al. LncRNA NKILA integrates RXFP1/AKT and NF- κ B signalling to regulate osteogenesis of mesenchymal stem cells[J]. J Cell Mol Med, 2020,24(1):521-529. DOI:10.1111/jcmm.14759.
- [55] Huang Y, Han Y, Guo R, et al. Long non-coding RNA FER1L4 promotes osteogenic differentiation of human periodontal ligament stromal cells via miR - 874 - 3p and vascular endothelial growth factor A[J]. Stem Cell Res Ther, 2020,11(1):5. DOI:10.1186/s13287-019-1519-z.
- [56] Cai WL, Zeng W, Liu HH, et al. LncRNA LINC00707 promotes osteogenic differentiation of hBMSCs through the Wnt/ β -catenin pathway activated by LINC00707/miR - 145/LRP5 axis [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2020, 24(1):18-28. DOI:10.26355/eurrev_202001_19891.
- [57] Zhang HL, Du XY, Dong QR. LncRNA XIXT promotes osteogenic differentiation of bone mesenchymal stem cells and alleviates osteoporosis progression by targeting miRNA - 30a - 5p [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2019, 23(20):8721-8729. DOI:10.26355/eurrev_201910_19266.
- [58] Zhang N, Hu X, He S, et al. LncRNA MSC - AS1 promotes osteogenic differentiation and alleviates osteoporosis through sponging microRNA - 140 - 5p to upregulate BMP2 [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2019, 519(4):790-796. DOI:10.1016/j.bbrc.2019.09.058.
- [59] Jiang Y, Wu W, Jiao G, et al. LncRNA SNHG1 modulates p38 MAPK pathway through Nedd4 and thus inhibits osteogenic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells [J]. Life Sci, 2019,228:208-214. DOI:10.1016/j.lfs.2019.05.002.
- [60] Wu J, Zhao J, Sun L, et al. Long non-coding RNA H19 mediates mechanical tension - induced osteogenesis of bone marrow mesenchymal stem cells via FAK by sponging miR - 138 [J]. Bone, 2018,108:62-70. DOI:10.1016/j.bone.2017.12.013.
- [61] 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. DOI:10.1016/j.biopha.2017.02.090.
- [62] Deng L, Hong H, Zhang X, et al. Down - regulated lncRNA MEG3 promotes osteogenic differentiation of human dental follicle stem cells by epigenetically regulating Wnt pathway [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2018,503(3):2061-2067. DOI:10.1016/j.bbrc.2018.07.160.
- [63] He Q, Yang S, Gu X, et al. Long noncoding RNA TUG1 facilitates osteogenic differentiation of periodontal ligament stem cells via interacting with Lin28A [J]. Cell Death & Disease, 2018,9(5):455. DOI:10.1038/s41419-018-0484-2.
- [64] Gao Y, Xiao F, Wang C, et al. Long noncoding RNA MALAT1 promotes osterix expression to regulate osteogenic differentiation by targeting miRNA - 143 in human bone marrow - derived mesenchymal stem cells[J]. J Cell Biochem, 2018,119(8):6986-6996. DOI:10.1002/jcb.26907.
- [65] Yi J, Liu D, Xiao J. LncRNA MALAT1 sponges miR - 30 to promote osteoblast differentiation of adipose-derived mesenchymal stem cells by promotion of Runx2 expression [J]. Cell Tissue Res, 2019,376(1):113-121. DOI:10.1007/s00441-018-2963-2.
- [66] Yang X, Yang J, Lei P, et al. LncRNA MALAT1 shuttled by bone marrow-derived mesenchymal stem cells-secreted exosomes alleviates osteoporosis through mediating microRNA - 34c/SATB2 axis [J]. Aging (Albany NY), 2019, 11(20):8777-8791. DOI:10.18632/aging.102264.
- [67] Cui Y, Fu S, Sun D, et al. EPC - derived exosomes promote osteoclastogenesis through LncRNA - MALAT1 [J]. J Cell Mol Med, 2019,23(6):3843-3854. DOI:10.1111/jcmm.14228.
- [68] Sun Z, Yang S, Zhou Q, et al. Emerging role of exosome-derived long non-coding RNAs in tumor microenvironment [J]. Molecular Cancer, 2018,17(1):82. DOI:10.1186/s12943-018-0831-z.
- [69] Li Y, Glass Z, Huang M, et al. Ex vivo cell-based CRISPR/Cas9 genome editing for therapeutic applications [J]. Biomaterials, 2020,234:119711. DOI:10.1016/j.biomaterials.2019.119711.
- [70] Ma C, Kuzma ML, Bai X, et al. Biomaterial - Based Metabolic Regulation in Regenerative Engineering [J]. Advanced Sci, 2019,6(19):1900819. DOI:10.1002/advs.201900819.

(收稿日期:2020-02-05)

(本文编辑:王嫒)