

# 微小核糖核酸在骨重建中的作用

汪艳综述 黄慧审校

上海交通大学医学院附属第九人民医院口腔修复科; 上海市口腔医学重点实验室 上海 200011

**[摘要]** 微小核糖核酸(miRNA)广泛存在于各种动植物及微生物中,参与生物发生、细胞分化和程序性细胞死亡等多种生命进程,是基因表达关键的转录后调控因子。骨组织的发生、分化、增殖和重建与miRNA有着密切的联系。本文就miRNA的发现、生成机制、作用机制、生物学特性以及miRNA与成骨细胞、破骨细胞之间的关系等研究进展作一综述,以利于开发新的针对治疗骨丧失和促进骨愈合的治疗方法,同时为促进口腔种植治疗中的骨整合进而促进种植体的成功开拓新的视野。

**[关键词]** 微小核糖核酸; 骨; 骨重建

**[中图分类号]** Q 786 **[文献标志码]** A **[doi]** 10.7518/gjkq.2013.06.022

**Role of micro ribonucleic acid in bone remodeling** Wang Yan, Huang Hui. (Dept. of Prosthodontics, The Ninth People's Hospital, School of Medicine, Shanghai Jiao Tong University; Shanghai Key Laboratory of Stomatology, Shanghai 200011, China)

**[Abstract]** Micro ribonucleic acid(miRNA) is key post-transcriptional regulator of gene expression, which widely exists in all kinds of plants and animals and microorganisms and participates in the biology growth, cell differentiation, apoptosis and so many kinds of life processes. Hence, the formation, differentiation, proliferation and remodeling of bone are closely associated with miRNA. This review will highlight our current understanding of miRNA and mechanisms of action in bone remodeling. An in-depth understanding of the roles of the regulatory miRNA in bone remodeling will be crucial for the development of new therapeutics, which aim at treating bone loss and facilitating fracture repair. Meanwhile, this will raise a new sight of facilitating osseointegration and the success of implants.

**[Key words]** micro ribonucleic acid; bone; bone remodeling

目前,有关微小核糖核酸(micro ribonucleic acid, miRNA)的研究已取得了重要的进展,包括对miRNA生物学通路的研究、基因表达调控和miRNA在疾病治疗的应用等。其中,miRNA在骨重建方面的作用亦得到了研究人员的关注。

## 1 miRNA

### 1.1 miRNA的发现

miRNA是一类长度为19~25 nt的短小非编码的RNA,参与基因转录后水平的表达调控,与细

胞的增殖和分化关系十分密切<sup>[1]</sup>。随着生物信息学和分子克隆技术等学科的综合发展,研究人员经过不懈地努力又相继在线虫、果蝇以及人宫颈癌细胞中发现了数百种性质相似的小分子RNA,并将其统称为miRNA。

### 1.2 miRNA的生成机制

miRNA的生成过程包括转录,起始miRNA的加工、转运,母体miRNA的加工,选择单链,靶向输送和转录结束<sup>[2]</sup>。首先,细胞核内的miRNA基因在RNA聚合酶II或RNA聚合酶III的作用下被转录成起始产物;接着,该产物被Drosha(III型RNA核酸内切酶)和迪格奥尔格综合征临界区基因(DiGeorge syndrome critical region gene, DGCR)-8共同加工成母体miRNA;核内的转运蛋白-5再将该母体miRNA转运至细胞质;细胞质中的母体miRNA则被RNA结合蛋白复合体加工成双螺旋结

**[收稿日期]** 2013-02-16; **[修回日期]** 2013-06-15

**[基金项目]** 国家自然科学基金资助项目(81170988);上海市科学技术委员会基金资助项目(11ZR1420200)

**[作者简介]** 汪艳(1987—),女,江苏人,硕士

**[通讯作者]** 黄慧, Tel: 13764406863

构——成熟miRNA链和互补链；该双螺旋结构被解螺旋酶解链，其中的成熟单链与Dicer、Argonaute（AGO）蛋白等结合成RNA诱导沉默复合物（RNA-induced silencing complex, RISC），RISC可将互补单链miRNA降解，促使成熟单链miRNA与靶信使RNA（messenger RNA, mRNA）结合，继而发挥miRNA基因的调控作用。

### 1.3 miRNA的作用机制

RISC将成熟单链miRNA释放至靶mRNA，miRNA与之结合并开始配对。大部分配对位点位于3'端非翻译区（miRNA与靶基因的结合位点也可位于5'端非翻译区），配对的关键在于miRNA种子区（第2~8个核苷酸）与3'端非翻译区的相互作用。miRNA对靶基因转录后水平进行调控，即通过对靶基因转录体剪切或对其翻译抑制两种机制调靶基因的表达。这两种基因调控机制的选择，主要取决于miRNA与其靶基因之间配对的完全程度。1）在大多数植物、病毒以及部分动物中，miRNA与靶序列完全配对，直接介导RISC剪切靶mRNA，即与miRNA相关的核糖核苷酸与miRNA诱导的RISC联合作用下降解靶mRNA；此外，通过RNA干扰途径降解靶mRNA。该过程在P小体中进行。2）在大多数动物中，miRNA与靶序列不完全配对（通常使得miRNA的第9~11个核苷酸形成一个凸起），使其翻译后受抑制；即通过阻断翻译链延长或者迅速降解新合成的肽链，抑制蛋白质合成。在此过程中，靶mRNA的稳定性不受影响，翻译起始后受抑制。

### 1.4 miRNA的生物学特性

miRNA生物学特性主要表现为高度保守性、时序表达特异性和组织表达特异性三个方面。

miRNA在各个物种间具有的高度进化保守性，尤其体现在与靶基因配对的种子区序列上。有研究者证实，*let-7*基因在脊椎动物、节肢动物和线虫中均存在保守。甚至有报道指出，所有的miRNA在其他物种中都有直向同源物。

miRNA具有的时序表达特异性，即在生物发育的不同阶段，表达不同的miRNA。例如，*lin-4*基因在线虫幼虫L1、L2期均有表达，而*let-7*基因在L1期和L2期均不表达，到L3早期才开始表达，并于L4期和成虫期高度表达。

miRNA的表达还具有细胞和组织特异性，即在不同的细胞和组织中表达不同类型的miRNA。miR17~20在斑马鱼细胞中表达，但在鼠肾和蛙卵

巢细胞中并未检测到该基因的表达。

## 2 miRNA与骨重建

骨组织不断地进行着动态的重建，并由成骨细胞和破骨细胞及其活性共同维持骨重建的平衡。研究显示，miRNA参与调控成骨细胞与破骨细胞的分化，进而调控骨重建。

### 2.1 miRNA与成骨细胞

敲除miRNA成熟所必须的Dicer基因，导致所有的miRNA形成缺陷，可导致小鼠胚胎死亡，成熟胚胎表现为软骨畸形和骨形成的减少。这表明，由Dicer基因介导的miRNA的成熟对于骨形成有重要的作用<sup>[1]</sup>。

核心结合因子- $\alpha 1$ （core binding factor  $\alpha 1$ , CBFA1）又称之为Runx2，可参与干细胞向成骨细胞的分化。干细胞首先转变为前成骨细胞，前成骨细胞受CBFA1、成骨细胞特异性转录因子（osterix, Osx）调控转化为成骨细胞。其中，CBFA1又受Smad家族蛋白、远端较小的同源异形盒（distal-less homeobox, Dlx）-3/5的调控。

骨形态发生蛋白（bone morphogenetic protein, BMP）也能通过影响Smad家族蛋白的表达而调控干细胞的分化。BMP信号通路对骨分化和骨形成有着重要的作用。近来，研究者将由BMP信号调节的miRNA作为理解miRNA在成骨中作用的方法。这些研究明确地表明，受BMP调节的miRNA对于骨分化有着重要的调节作用。

一些miRNA可发生共表达或共调节行为，BMP干预成纤维细胞系C2C12细胞成骨分化后，miR-133和miR-135明显下调<sup>[4]</sup>。miR-133和miR-135的过表达，导致BMP诱导的碱性磷酸酶（alkaline phosphatase, AKP）和骨钙蛋白等成骨分化标志物减少。研究还发现，CBFA1和Smad5分别是miR-133和miR-135的靶标，二者均在成骨分化过程中起重要作用。

同样，miR-206在BMP干预C2C12细胞后，表达水平下降<sup>[5]</sup>，其过表达会导致AKP活性降低。连接蛋白（connexin, CX）-43是miR-206的靶标。成熟的miR-141和miR-200a序列相似，二者在BMP干预的MC3T3-E1成骨细胞分化中，表达水平下降。其过表达导致成骨分化抑制，被认定为成骨分化的负性调控因子。Dlx-5是其靶标。此外，BMP-2也会导致miR-208表达水平降低<sup>[6]</sup>，后者的

过表达通过抑制骨转录因子而抑制MC3T3-E1细胞的成骨分化。

在经BMP-4作用的ST2间质细胞中, miR-125b的表达水平降低。miR-125b对成骨分化起负性调控作用, 其过表达会导致AKP的活性降低, 而剔除该基因则增加AKP活性。目前, 尚未发现miR-125b的靶基因<sup>[7]</sup>; 与此相反, miR-210在经BMP-4作用的ST2间质细胞中表达上调, 被证明是成骨分化的正性调节因子, 活化素A受体1B (activin A receptor type 1B, AcvR1b) 是其作用的靶基因<sup>[8]</sup>。

miR-29蛋白家族是成骨分化中的重要正性调节因子, miR-29b可以直接下调组蛋白脱乙酰酶 (histone deacetylase, HDAC)、转化生长因子-8等蛋白 (均为成骨细胞分化抑制物) 生成量, 促进成骨细胞分化。同时, miR-29b可减少或抑制胶原的合成, 促进骨质矿化和骨质生成<sup>[9]</sup>。miR-27则是另一个成骨过程中的正性调节因子, 它通过与结肠腺瘤性息肉杆菌 (adenomatous polyposis coli, APC) 的靶向结合而发挥其正性调节作用<sup>[10]</sup>。

miR-2861在成骨细胞中高表达。敲除该基因, 小鼠的骨体积、骨形成率和骨表面积均减少; 相反, 体外增加该基因的表达, 则促进小鼠的成骨分化。HDAC-5抗体为其靶基因, HDAC-5可介导CBFA1脱乙酰化, 最终促进骨分化<sup>[11]</sup>。miR-3960与miR-2861有着相同的起始转录产物, 可以负性调控同源盒 (homeobox, HOX)  $\alpha 2$ 靶基因, 从而使CBFA1的表达增加, 促进成骨<sup>[12]</sup>。

此外, miR-138可直接下调黏着斑激酶 (focal adhesion kinase, FAK) 靶基因, 抑制成骨分化。miR-637亦可抑制成骨分化, 它主要通过调控*Osx*发挥作用。miR-93在成骨细胞矿化过程中明显下调, miR-93通过Sp7抑制成骨。miR-30 (a、b、c、d) 家族被证明参与调控成骨, 其作用的靶基因为*Smad1*和*CBFA1*<sup>[13]</sup>。miR-204通过作用*CBFA1*基因抑制成骨, miR-23a/27a/24-2则通过下调*CBFA1*及富含AT碱基序列特异结合蛋白 (special AT-rich sequench binding protein, SATB) -2基因, 最终抑制成骨分化。

综上, miRNA在成骨分化中起着重要的作用, 随着研究的不断深入, 与miRNA相关的CBFA1和AKP等有望成为成骨分化的标志物而用以成骨研究。

## 2.2 miRNA与破骨细胞

目前, miRNA在破骨中的研究和应用较局

限。有研究者<sup>[14]</sup>尝试敲除鼠成熟破骨细胞的*Dicer*基因, 结果导致骨的增加。该研究者认为, 这主要缘于破骨细胞的数量和表面积减少, 是细胞的一种自发现象。在破骨细胞前体分化过程之中, *Dgcr8*、*Dicer1*、*Ago2*基因对miRNA的生物合成起重要的作用; 因此, 沉默相关基因后, 破骨细胞转录因子表达受抑制, 破骨细胞形成减少, 最终骨吸收减少 (成骨相对增加)。此外, 成熟破骨细胞*Dicer*基因的敲除也会使得骨形成率降低, 整体削弱骨重建过程。

miR-223基因在破骨细胞前体中表达, 敲除小鼠RAW264.7细胞中的miR-223基因, 导致核因子- $\kappa$ B受体活化因子配体 (receptor activator of nuclear factor- $\kappa$ B ligand, RANKL) 诱导的类破骨细胞减少<sup>[15]</sup>。有趣的是, miR-223过表达时也会导致相似的结果, 因此, miR-223的适度表达有利于正常的破骨分化。miR-155可抑制破骨细胞的形成, 其在破骨细胞中表达下调, 敲除该基因, 可观察到破骨增加<sup>[16]</sup>。

## 3 结束语

本文主要阐述了miRNA的相关知识, 包括其发现、生成以及作用机制和生物学特性等, 既概括了特定的miRNA在成骨与破骨过程中的调控作用, 又揭示了miRNA在整个骨重建过程中的重要作用。未来有关miRNA的研究有望进一步理解miRNA的作用机制, 最终将其应用到临床, 为骨缺损、骨折修复和种植体修复等骨性疾病提供行之有效的基因治疗方法。加快研究特定miRNA的作用, 加深理解miRNA的作用机制, 开发更好的体内应用载体, 研制最佳的基因治疗方法, 将成为相关研究者们迫切而艰巨的任务。

## 4 参考文献

- [1] Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*[J]. *Cell*, 1993, 75(5):843-854.
- [2] Kapinas K, Delany AM. MicroRNA biogenesis and regulation of bone remodeling[J]. *Arthritis Res Ther*, 2011, 13(3):220.
- [3] Gaur T, Hussain S, Mudhasani R, et al. *Dicer*

- inactivation in osteoprogenitor cells compromises fetal survival and bone formation, while excision in differentiated osteoblasts increases bone mass in the adult mouse[J]. *Dev Biol*, 2010, 340(1):10-21.
- [4] Li Z, Hassan MQ, Volinia S, et al. A microRNA signature for a BMP2-induced osteoblast lineage commitment program[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008, 105(37):13906-13911.
- [5] Inose H, Ochi H, Kimura A, et al. A microRNA regulatory mechanism of osteoblast differentiation[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009, 106(49):20794-20799.
- [6] Itoh T, Takeda S, Akao Y. MicroRNA-208 modulates BMP-2-stimulated mouse preosteoblast differentiation by directly targeting V-ets erythroblastosis virus E26 oncogene homolog 1[J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(36):27745-27752.
- [7] Mizuno Y, Yagi K, Tokuzawa Y, et al. miR-125b inhibits osteoblastic differentiation by down-regulation of cell proliferation[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, 368(2):267-272.
- [8] Mizuno Y, Tokuzawa Y, Ninomiya Y, et al. miR-210 promotes osteoblastic differentiation through inhibition of AcvR1b[J]. *FEBS Lett*, 2009, 583(13):2263-2268.
- [9] Li Z, Hassan MQ, Jafferji M, et al. Biological functions of miR-29b contribute to positive regulation of osteoblast differentiation[J]. *J Biol Chem*, 2009, 284(23):15676-15684.
- [10] Wang T, Xu Z. miR-27 promotes osteoblast differentiation by modulating Wnt signaling[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 402(2):186-189.
- [11] Jeon EJ, Lee KY, Choi NS, et al. Bone morphogenetic protein-2 stimulates Runx2 acetylation[J]. *J Biol Chem*, 2006, 281(24):16502-16511.
- [12] Hu R, Liu W, Li H, et al. A Runx2/miR-3960/miR-2861 regulatory feedback loop during mouse osteoblast differentiation[J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(14):12328-12339.
- [13] Wu T, Zhou H, Hong Y, et al. miR-30 family members negatively regulate osteoblast differentiation[J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(10):7503-7511.
- [14] Mizoguchi F, Izu Y, Hayata T, et al. Osteoclast-specific Dicer gene deficiency suppresses osteoclastic bone resorption[J]. *J Cell Biochem*, 2010, 109(5):866-875.
- [15] Sugatani T, Hruska KA. Impaired micro-RNA pathways diminish osteoclast differentiation and function[J]. *J Biol Chem*, 2009, 284(7):4667-4678.
- [16] Mann M, Barad O, Agami R, et al. miRNA-based mechanism for the commitment of multipotent progenitors to a single cellular fate[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107(36):15804-15809.
- (本文采编 王晴)

---

## 敬告读者作者 II

《国际口腔医学杂志》自2013年第4期起开设“争鸣”栏目，目的是对口腔医学领域的新理论、新方法、典型病例等展开学术讨论，活跃学术氛围，为广大同行答疑解惑。

欢迎广大读者、作者踊跃投稿，总结在临床上遇到的经验教训、特殊病例以及大家关注的研究热点难点，由作者本人撰写“题目”或者“题目加观点”。一经采用，本刊还会专门为来稿邀请相应的知名专家参与讨论，答疑解惑。

来稿要求：病例内容详实、讨论观点鲜明，表达活泼，视角独特，字数500~1 000字，病例请附图片。

投稿方式：请投稿至邮箱gjkqyx@163.com，并注明“争鸣栏目投稿”。