

综述

运动介导microRNAs调控骨代谢的研究进展

元宇¹, 饶林振¹, 张士花^{1,2}, 徐洋¹, 李婷婷², 邹军², 翁锡全^{1,*}

¹广州体育学院运动与健康学院, 广州 510500; ²上海体育学院运动健康学院, 上海 200438

摘要: 运动改善骨代谢, 促进骨骼生长发育, 缓解骨量流失的作用已被广泛证实。在骨代谢中, 微小RNA (microRNAs, miRNAs)广泛参与骨髓间充质干细胞、成骨细胞及破骨细胞等骨组织细胞的增殖及分化, 通过靶向作用于相关成骨因子或骨吸收因子调控骨形成与骨吸收之间的平衡, 在骨代谢的调控中发挥重要作用。近年的研究表明, 调控miRNAs是运动或机械应力促进骨代谢正平衡的途径之一, 运动能够诱导骨骼中miRNAs差异表达, 进而调控相关成骨因子或骨吸收因子的表达, 进一步加强运动的促成骨效应。本综述总结了运动介导miRNAs调控骨代谢的相关研究进展, 为骨质疏松的运动防治提供理论基础。

关键词: 运动; microRNA; 机械应力; 骨形成; 骨吸收

Exercise regulates bone metabolism via microRNAs

YUAN Yu¹, RAO Lin-Zhen¹, ZHANG Shi-Hua^{1,2}, XU Yang¹, LI Ting-Ting², ZOU Jun², WENG Xi-Quan^{1,*}

¹*School of Exercise and Health, Guangzhou Sport University, Guangzhou 510500, China;* ²*School of Exercise and Health, Shanghai University of Sport, Shanghai 200438, China*

Abstract: It has been well documented that exercise can improve bone metabolism, promote bone growth and development, and alleviate bone loss. MicroRNAs (miRNAs) are widely involved in the proliferation and differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells, osteoblasts, osteoclasts and other bone tissue cells, and regulation of balance between bone formation and bone resorption by targeting osteogenic factors or bone resorption factors. Thus miRNAs play an important role in the regulation of bone metabolism. Recently, regulation of miRNAs are shown to be one of the ways by which exercise or mechanical stress promotes the positive balance of bone metabolism. Exercise induces changes of miRNAs expression in bone tissue and regulates the expression of related osteogenic factors or bone resorption factors, to further strengthen the osteogenic effect of exercise. This review summarizes relevant studies on the mechanism whereby exercise regulates bone metabolism via miRNAs, providing a theoretical basis for osteoporosis prevention and treatment with exercise.

Key words: exercise; microRNA; mechanical stress; bone formation; bone resorption

骨质疏松是一种全身性骨量减少、骨组织微观结构退化、骨脆性增加、骨强度降低的骨代谢性疾病。随着人口结构的老龄化, 骨质疏松症的发病率逐年上升, 已成为一个全球性的公共卫生健康问题^[1]。药物治疗虽能在一定程度上缓解骨量丢失,

但却有一定的毒副作用。大量研究表明, 运动能够改善骨代谢, 促进机体骨量增加、骨微结构强化以及骨强度提高, 延缓衰老或性激素缺乏所导致的骨质丢失, 但其确切机制尚未阐明^[2, 3]。

微小RNA (microRNAs, miRNAs) 能够特异性地

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81901430), the Natural Science Foundation of Guangdong Province, China (No. 2022A1515010379) and the Innovation Project from Department of Education of Guangdong Province, China (No. 2021KTSCX055).

*Correspond author. Tel: +86-20-38024222; E-mail: wengxq@gzsport.edu.cn

结合靶基因的 3'-UTR, 抑制蛋白翻译或对 mRNA 进行剪切降解, 抑制蛋白表达, 进而实现对细胞增殖、分化及凋亡的调控^[4]。越来越多的研究表明, miRNAs 能够通过靶向作用于相关成骨因子或骨吸收因子广泛参与骨髓间充质干细胞 (bone marrow mesenchymal stem cell, BMSC)、成骨细胞及破骨细胞等骨组织细胞增殖及分化的调控^[5, 6]。已有研究证实, 运动及机械应力能够诱导 BMSC 及成骨细胞中 miRNAs 差异表达并通过 miRNAs 参与成骨分化的调控^[7-9]。本研究组前期的研究也表明, 运动能够诱导骨骼中 miRNAs 差异表达, 抑制 miR-214 等 miRNAs 的表达, 且过表达 miR-214 能够削弱机械牵张力对成骨细胞的促成骨效应^[10], 提示调控 miRNAs 可能是运动或机械应力发挥促成骨效应的重要途径之一。目前, 国内尚未见运动介导 miRNAs 调控骨代谢的综述报道。鉴于此, 本文将就运动介导 miRNAs 调节骨代谢的研究作一综述, 为进一步研究运动影响骨代谢的 miRNAs 途径提供理论基础。

1 MiRNAs与骨代谢

1.1 MiRNAs的生物学功能

MiRNAs 是一类平均长度约为 22 个核苷酸 (nt) 的非编码 RNA, 由一段长度约为 70 nt 的单链 RNA 前体 (pre-miRNAs) 剪切后生成, 能特异性结合靶基因 3'-UTR, 抑制蛋白翻译或对 mRNA 进行剪切降解, 抑制蛋白的表达, 发挥对靶基因的调控作用^[11]。大量研究表明, miRNAs 广泛参与细胞增殖、分化、自噬及凋亡等生物学过程的调控, 在骨质疏松症等疾病的发生、发展中发挥着重要的调节作用, 目前一些 miRNAs 已成为疾病诊断与治疗的标志物和潜在靶点^[12, 13]。

1.2 MiRNAs在骨代谢中的调控作用

随着分子生物学与生物信息技术的发展, 越来越多的 miRNAs 被证实参与骨代谢的调控。Pre-miRNAs 需要经过 Dicer 酶的剪切才能成为成熟的 miRNAs^[14], Dicer 酶是合成 miRNAs 的关键酶, 敲除 Dicer 酶将降低碱性磷酸酶 (alkaline phosphatase, ALP) 及 Runt 相关转录因子 2 (Runt-related transcription factor 2, Runx2) 等成骨因子的表达, 导致成骨细胞分化障碍, 推迟围产期的骨形成, 条件性敲除小鼠骨祖细胞 Dicer 甚至导致胚胎死亡^[15]。Dicer 酶的敲除导致 miRNAs 合成障碍, 致使骨代谢紊乱, 提示 miRNAs 在骨代谢中发挥着不可或缺的调控作

用。骨代谢的平衡取决于成骨细胞主导的骨形成与破骨细胞主导的骨吸收之间的平衡。大量研究表明, miRNAs 能够靶向调控相关成骨因子、骨吸收因子及其它骨代谢关键调控因子的表达, 进而调控骨形成与骨吸收^[5, 16]。

1.2.1 MiRNAs在骨形成过程中的调控作用

在骨形成的过程中, miRNAs 主要通过靶向作用于 Runx2、Osterix (Osx) 以及骨形态发生蛋白 2 (bone morphogenetic protein 2, BMP2) 等成骨因子或骨代谢信号通路中的关键因子发挥对 BMSC 及成骨细胞增殖及分化的调控作用。如在 BMSC 中, miR-320a-5p 能够靶向抑制 Runx2 的表达, 过表达 miR-320a-5p 显著下调 Runx2、骨钙素 (osteocalcin, OCN) 及骨桥蛋白 (osteopontin, OPN) 等成骨因子的表达, 抑制 BMSC 向成骨分化^[17]。MiR-96 能够通过靶向抑制成骨因子 Osx 抑制 BMSC 向成骨分化^[18]。MiR-140-5p、miR-142-5p 以及 miR-214-5p 能够靶向抑制 BMP2 的表达, 进而抑制 BMSC 向成骨细胞分化^[19-21]。MiR-218-5p 能通过靶向调控 I 型胶原蛋白 $\alpha 1$ (collagen type I alpha1, COL1A1) 促进 BMSC 向成骨分化, 对骨质疏松小鼠注射 miR-218-5p 模拟物可提高小鼠骨密度, 改善骨微结构, 而注射 miR-218-5p 抑制剂的效果则与之相反, 该研究提取去卵巢骨质疏松小鼠 BMSC 进行体外培养, 并将 miR-218-5p 模拟物与 miR-218-5p 抑制剂转入 BMSC 中, 发现过表达 miR-218-5p 能上调 Runx2、Osx 及 OCN 等成骨因子的表达, 抑制 COL1A1 表达, 促进成骨分化, 而低表达 miR-218-5p 则与之相反, 这与在体实验的相关结果吻合, 提示 miR-218-5p 能促进 BMSC 向成骨分化, 增强骨形成, 进而缓解骨质疏松^[22]。

在成骨细胞中, miR-30 家族可通过下调 Runx2 抑制细胞分化^[23]。MiR-142 能够靶向调控 BMP2 的表达, 进而介导 BMP/Smad 信号通路抑制成骨细胞的分化与凋亡^[24]。MiRNA let-7i-3p 能够通过丙酮酸脱氢酶激酶 1 (pyruvate dehydrogenase kinase 1, PDK1) 抑制成骨细胞分化, 敲低 let-7i-3p 可上调 PDK1 表达, 减轻强直性脊柱炎小鼠滑膜组织的病理状况, 提高骨密度并改善骨生物力学特性^[25]。近年有研究发现, BMSC 来源的外泌体 miR-136-5p 能够通过靶向抑制低密度脂蛋白受体相关蛋白 4 (low-density lipoprotein receptor related protein 4, LRP4) 激活 Wnt/ β -catenin 信号通路, 促进成骨细胞增殖与分化, 进

而促进骨折愈合^[26]。

上述的研究表明,在成骨分化的过程中,miRNAs通过靶向调控相关成骨因子或骨代谢信号通路中的关键因子调控 BMSC 及成骨细胞的增殖及分化,进而发挥对骨形成的调控作用。

1.2.2 MiRNAs在骨吸收过程中的调控作用

在骨吸收的过程中,miRNAs 主要通过靶向作用于核因子- κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B) 及其受体活化因子配体 (receptor activator of nuclear factor- κ B ligand, RANKL) 等骨吸收因子调控破骨细胞的生成与功能,进而发挥对骨吸收的调控作用。如 miR-1276 的启动子区域能够与 NF- κ B 结合参与破骨细胞分化过程的调控。在破骨细胞中, NF- κ B 能够通过抑制 miR-1276 上调小眼畸形相关转录因子 (microphthalmia-associated transcription factor, MITF) 的表达,进而促进破骨细胞分化,而过表达 miR-1276 则能逆转 NF- κ B 的效应,抑制破骨细胞生成^[27]。MiR-20a 能够靶向抑制 RANKL 表达,进而抑制破骨细胞生成,缓解类风湿关节炎骨侵蚀^[28]。MiR-29a 也能通过 RANKL 抑制破骨细胞生成,缓解雌激素缺乏所诱发的过度骨吸收,进而发挥延缓骨量流失的作用^[29]。RANKL 需要与 RANK 结合才能发挥其促进破骨细胞生成及功能的生物学作用,而 miR-503 能够通过靶向作用于 RANK 调控丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinases, MAPK) 信号通路,进而抑制由 RANKL 诱导的破骨细胞分化^[30]。在破骨细胞分化的过程中, miR-143-3p 能够抑制骨吸收因子巨噬细胞集落刺激因子 (macrophage colony stimulating factor, M-CSF) 的表达,进而抑制破骨细胞的生成^[31]。

综上所述,在骨吸收的过程中,miRNAs 能够通过靶向作用骨吸收因子调控破骨细胞的生成与功能,进而发挥对骨吸收的调控作用。

2 运动介导miRNAs参与骨代谢的调控

2.1 运动介导miRNAs改善骨代谢

运动改善骨代谢,促进骨形成,防治骨质疏松的作用已被广泛证实。本研究组前期也通过在体与离体实验验证了运动改善骨代谢,促进骨形成的效应^[3,32]。近年的研究表明,运动能够诱导骨组织 miRNAs 差异表达^[33]。Lee 等对中年雄性小鼠进行 8 周的有氧运动干预后发现,运动能够改善中年雄性小鼠的骨微结构及骨膜神经纤维密度,上调股骨

miR-491-3p、miR-470-5p、miR-130b-5p、let-7a-5p、miR-137-3p、miR-130a-3p 及 miR-29b-3p 的表达,下调 miR-3064-5p、miR-574-5p、miR-1187、miR-154-5p、miR-210-3p、miR-297a-5p、miR-485-3p、let-7i-5p 及 miR-208a-3p 的表达^[34]。Chen 等通过人体实验、动物实验以及细胞实验在多个层面上研究了 miR-138-5p 在运动及机械应力调控骨代谢中的作用机制^[9],他们发现在长期卧床的老年患者与非长期卧床的骨折老年患者骨组织中,miR-138-5p 的表达与卧床时间及年龄成正比,与骨形成标志物 ALP 成反比;动物实验结果显示,尾部悬吊小鼠及衰老小鼠在骨密度降低及骨微结构退化的同时 miR-138-5p 表达上调,这与人体实验的相关结果相符,提示 miR-138-5p 可能与机械应力缺乏与衰老所诱发的骨量流失有关。MiR-138-5p 能够通过靶向作用于微管微丝交联因子 1 (microtubule actin crosslinking factor 1, MACF1) 抑制成骨细胞的分化,进而抑制骨形成。该研究团队采用微重力或机械牵张力干预成骨细胞后发现,微重力条件下成骨细胞 miR-138-5p 表达上调,成骨分化能力减弱,而牵张力刺激则与之相反;在成骨细胞高表达 miR-138-5p 能够抑制成骨分化,且削弱机械应力刺激的促成骨效应,而低表达则与之相反;运动能够促进野生型小鼠骨密度及改善骨微结构,抑制骨组织 miR-138-5p 表达,但这种促进效应对 miR-138-5p 转基因小鼠无效,而利用成骨细胞靶向药物递送系统将 miR-138-5p 拮抗剂注射至骨质疏松小鼠、miR-138-5p 转基因小鼠以及衰老小鼠体内能够改善骨密度及骨微结构,提高骨合成代谢对机械应力刺激的敏感性^[9]。以上这些结果表明,miR-138-5p 在运动及机械应力改善骨代谢的过程中发挥着重要的调控作用。最新的一项研究表明,糖尿病能够导致 miR-150 表达上调,进而抑制 miR-150 靶基因 III 型纤连蛋白结构域包含蛋白 5 (fibronectin type III domain-containing protein 5, FNDC5)/鸢尾素 (Irisin) 的表达,而 Irisin 水平的降低将诱发骨组织细胞焦亡,运动能够通过 miR-150 上调 FNDC5/Irisin 表达,减轻细胞焦亡,促进 BMSC 成骨分化的同时抑制破骨细胞的生成及骨吸收,进而减缓糖尿病骨质疏松小鼠的骨丢失^[35]。

本研究组近年的研究也显示,运动能诱导骨骼 miRNAs 差异表达,抑制 miR-214 等 miRNAs 的表达,且过表达 miR-214 能够削弱机械牵张力对成骨细胞的促成骨效应^[10],提示 miR-214 可能是运动或

机械应力发挥成骨效应的重要途径之一。上述研究表明,运动能够通过 miRNAs 改善骨代谢,促进骨形成,进而发挥防治骨质疏松的作用(表 1)。

2.2 机械应力介导 miRNAs 调控骨代谢

在机体运动的过程中,重力、地面反作用力及骨骼肌收缩会对骨骼产生各种形式的机械应力刺激,而机械应力刺激是维持骨骼系统稳定的必要条件之一。长期缺乏应力刺激(如长期卧床、石膏固定、微重力或失重环境等)将导致骨代谢紊乱,骨质流失,最终诱发骨质疏松。适宜的机械应力刺激能促进成骨细胞及 BMSC 的成骨分化^[8]。本研究组的研究显示,机械应力能够提高成骨细胞 ALP 活性,上调 OPN、OCN 及 *Osx* 等相关成骨因子的表达,进而促进成骨分化^[10, 36]。而调控 miRNAs 可能是机械应力发挥成骨效应的途径之一。近年来越来越多的研究表明,运动及机械应力能够介导 miRNAs 调控成骨因子、骨吸收因子及其他骨代谢相关因子,促进骨微环境血管生成,进而促进骨形成(图 1)。目前相关研究多为离体细胞研究,主要采用牵张应

力、压应力以及流体剪切力等形式的机械应力进行干预。

2.2.1 牵张应力介导 miRNAs 调控骨代谢

牵张应力是刺激骨骼的主要机械应力之一。在运动过程中,骨骼肌的收缩会对骨组织产生牵张应力,这种刺激是骨骼生长发育的关键。Zuo 等研究显示,miR-103a 在尾部悬吊骨质疏松小鼠股骨中高表达,且能够抑制成骨细胞的分化,而机械牵张力能够通过抑制 miR-103a 上调 *Runx2* 的表达,进而促进成骨细胞的分化。此外,在尾部悬吊骨质疏松小鼠中注射 miR-103a 拮抗剂(antagomir-103a)提高骨密度及促进骨微结构,缓解骨质疏松症^[37]。这些结果提示,牵张应力能够介导 miR-103a 改善骨代谢。本研究组前期研究显示,牵张应力能够促进成骨细胞分化的同时抑制 miR-214 的表达,而过表达 miR-214 不仅抑制成骨细胞的分化,且削弱机械牵张应力对成骨细胞的促成骨效应^[10],提示牵张应力能够通过 miR-214 促进成骨细胞分化。近年的研究表明,适宜的牵张应力能够通过长链非编码 RNA (long

表1. 运动诱导骨骼miRNAs差异表达

Table 1. Exercise induced changes in miRNAs in bone

Intervention	miRNAs	Sample resources	Function	References
Treadmill exercise	miR-190a-5p↑, miR-203-5p↑, miR-27a-5p↑, miR-5118↑, miR-449a-5p↑, miR-433-3p↑, miR-361-3p↑, miR-322-3p↑, miR-3103-3p↑,	Femurs from male BALB/c mice	Bone strength↑ ALP activity↑ OCN expression↑	[33]
Treadmill exercise	miR-491-3p↑, miR-470-5p↑, miR-130b-5p↑, let-7a-5p↑, miR-137-3p↑, miR-130a-3p↑, miR-29b-3p↑, miR-3064-5p↓, miR-574-5p↓, miR-1187↓, miR-154-5p↓, miR-210-3p↓, miR-297a-5p↓, miR-485-3p↓, let-7i-5p↓, miR-208a-3p↓	Femurs and tibias from male C57BL/6 mice	BMC↑ BMD↑ Bone formation↑ Skeletal nerve regeneration↑	[34]
Treadmill exercise	miR-138-5p↓	Femurs and tibias from WT, TG+AMO and AGE+AMO	BMD↑ Bone formation↑ Bone strength↑ Bone mechanosensitivity↑	[9]
Treadmill exercise	miR-214-3p↓, miR-30d-5p↓, miR-199a-3p↓, miR-31-5p↑	Tibias from male C57BL/6 mice	BMD↑ Bone formation↑	[10]
Treadmill exercise	miRNA-150↓	BMSC and bone tissue from T2DM mice	Bone formation↑ Bone strength↑ Bone resorption↓ Pyroptosis↓	[35]

ALP, alkaline phosphatase; OCN, osteocalcin; BMD: bone mineral density; BMC: bone mineral content; WT: wild type mice; TG+AMO: miR-138-5p transgenic mice with AMO (miR-138-5p antagonist) treatment; AGE+AMO: aged mice with AMO treatment; BMSC: bone marrow mesenchymal stem cell; T2DM: type 2 diabetes.

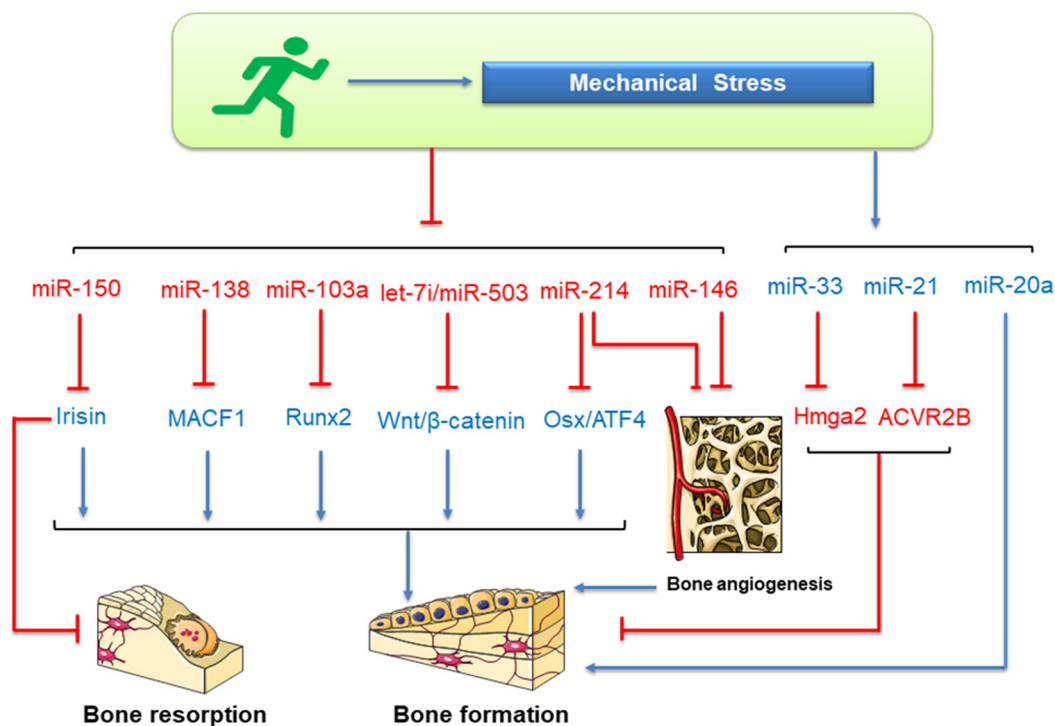


图 1. 运动及机械应力介导miRNAs调控骨代谢相关因子

Fig. 1. Exercise and mechanical stress regulate bone metabolic factors via miRNAs. Exercise and mechanical stress can promote expression of osteogenic factors, activate Wnt/ β -catenin pathway and enhance bone angiogenesis via miRNAs, thus to promote bone formation. MACF1, microtubule actin crosslinking factor 1; Runx2, Runt-related transcription factor 2; Osx, Osterix; ATF4, activating transcription factor 4; Hmga2, high mobility group protein A2; ACVR2B, activin receptor type 2B.

non-coding RNA, lncRNA) MEG3 抑制 miR-140-5p 的表达, 进而促进 BMSC 向成骨细胞分化, 抑制 BMSC 向脂肪细胞分化^[38]。Luo 等围绕牵张应力、miRNAs 与人脂肪干细胞 (human adipose-derived stem cells, hASCs) 展开了一系列的研究, 发现 miRNA let-7i-3p 能够参与牵张应力促进 hASCs 成骨分化过程的调控。Let-7i-3p 通过靶向抑制淋巴样增强因子 1 (lymphoid enhancer factor 1, LEF1) 抑制 Wnt/ β -catenin 通路, 而牵张应力通过抑制 let-7i-3p 激活 Wnt/ β -catenin 信号通路, 进而促进成骨分化^[39]。Luo 等的另一项研究显示, miR-503-3p 能够靶向抑制 hASCs 中 Wnt2 及 Wnt7b 的表达, 抑制 Wnt/ β -catenin 信号通路, 进而抑制 hASCs 向成骨分化。而牵张应力能够通过抑制 miR-503-3p 激活 Wnt/ β -catenin 信号通路, 促进 hASCs 向成骨分化。此外, 过表达 miR-503-3p 还能抑制 BMSC 向成骨分化, 削弱牵张应力促成骨分化的效应, 而低表达 miR-503-3p 则与之相反^[40], 提示牵张应力能够通过抑制 miR-503-3p 促进 BMSC 向成骨分化。

上述研究表明, 适宜的牵张应力能够介导 miRNAs 参与成骨细胞、BMSC 及 hASC 成骨分化的调控, 进而改善骨代谢, 促进骨形成。

2.2.2 压应力介导miRNAs调控骨代谢

压应力是刺激骨骼的主要机械应力之一。在运动过程中, 重力及地面的反作用力主要以压应力的形式刺激骨骼, 促使骨骼生长。本研究组此前的研究证实, 压应力能够通过激活 Wnt/ β -catenin 信号通路促进成骨细胞的分化^[36]。早期也有研究报道, 压应力能够诱导成骨细胞系 MC3T3-E1 中 miR-494-3p 表达上调, miR-494-3p 能够下调其靶基因成纤维细胞生长因子受体 2 (fibroblast growth factor receptor 2, FGFR2) 及 Rho 相关卷曲蛋白激酶 1 (Rho-associated coiled-coil-containing protein kinase 1, ROCK1) 的表达, 进而抑制 MC3T3-E1 细胞的增殖, 但该研究并没有呈现成骨细胞分化的相关结果^[41]。

近年, Wang 等对去卵巢骨质疏松小鼠的膝关节内外侧进行压应力刺激, 结果发现压应力能够改善去卵巢骨质疏松小鼠股骨的骨微结构、骨密度及

骨量, 促进骨血管生成, 且 BMSC 外泌体能够促进内皮细胞血管化, 外泌体中 miR-214-3p 表达下调; 该研究团队在外泌体中过表达或低表达 miR-214-3p 后干预内皮细胞, 结果显示压应力能够通过抑制 BMSC 外泌体 miR-214-3p 增强 H 型血管形成, 进而促进骨血管生成^[42]。该研究结果提示, 压应力对骨形成的促进作用也可能与骨血管生成能力的增强有关。而骨血管生成与骨代谢的相关研究也是近年来骨生物学领域的研究热点之一。近期国内另一项相关研究也表明, 破骨细胞来源的外泌体能够促进人脐静脉内皮细胞 (human umbilical vein endothelial cells, HUVECs) 的增殖、迁移及血管生成, 压应力作用下破骨细胞外泌体对 HUVECs 的促进效应更为明显。该研究团队进一步分析压应力干预后破骨细胞 miRNAs 转录组后发现, 压应力能够抑制破骨细胞中 miR-146-5p 的表达, 在促进破骨细胞生成的过程中降低外泌体中 miR-146-5p 的水平; 而 miR-146-5p 能够靶向抑制脂联素 (adiponectin, ADP) 的表达, 进而抑制血管生成。ADP 是 miR-146-5p 的靶基因, 能够促进血管生成^[43], 提示压应力能够介导破骨细胞外泌体 miR-146-5p 调控血管内皮细胞的增殖及分化, 在调控破骨细胞生成的同时调控血管生成, 参与破骨细胞 - 血管内皮细胞耦联的调控。目前, 压应力介导 miRNAs 调控骨代谢的研究仍较少, 而上述这两项研究均聚焦于研究机械应力作用下外泌体 miRNAs 在骨组织细胞与内皮细胞通讯中的作用机制, 为运动防治骨质疏松的机制研究提供了新思路。

2.2.3 流体剪切力介导 miRNAs 调控骨代谢

在运动的过程中, 机体骨组织细胞周围间隙液压力梯度发生变化, 间隙液流动产生的流体剪切力对骨组织细胞产生一定的应力刺激。已有研究证实, 流体剪切力能够介导 miRNAs 调控成骨细胞的增殖、分化及凋亡, 例如 Wang 等研究显示, 流体剪切力能够上调成骨细胞 miR-33-5p 的表达, 进而抑制 miR-33-5p 的靶基因高迁移率族蛋白 A2 (high mobility group protein A2, Hmga2) 的表达, 从而促进成骨细胞分化^[44]。近期有研究显示, 流体剪切力能够抑制成骨细胞中 miR-140-5p 的表达, 进而激活 VEGFA/ERK5 信号通路, 进而促进成骨细胞的增殖^[45]。此外, 流体剪切力能够在促进成骨细胞增殖并抑制成骨细胞凋亡的同时抑制 miR-34a 的表达, 在成骨细胞中过表达 miR-34a 则削弱流体剪切力对

成骨细胞的促进效应, 提示流体剪切力能够通过 miR-34a 调控成骨细胞的增殖与凋亡。进一步研究显示, miR-34a 能够靶向抑制成纤维细胞生长因子受体 1 (fibroblast growth factor receptor 1, FGFR1) 调控细胞增殖与凋亡, 而 lncRNA TUG1 能够作为竞争性内源性 RNA (competing endogenous RNA, ceRNA) 与 miR-34a 相互作用, 上调 FGFR1 表达, 进而促进成骨细胞增殖, 缓解成骨细胞凋亡^[46]。这些结果表明, 流体剪切力能够通过 lncRNA TUG1/miR-34a/FGFR1 轴参与成骨细胞增殖与凋亡的调控。

综上所述, 牵张应力、压应力及流体剪切力等形式的机械应力均能介导 miRNAs 参与骨代谢的调控 (表 2)。此外, 调控 miRNAs 不仅是机械应力调节骨代谢的可能途径, 也能加强机械应力的促成骨效应。例如 Wei 等研究显示, miR-21 能够通过调节激活素受体 2B (activin receptor type 2B, ACVR2B) 的蛋白表达提高牵张力对牙周膜干细胞的促成骨作用^[47]。而 miR-132 也能够通过 PI3K/AKT/mTOR 信号通路调节流体剪切力对牙周膜细胞增殖及分化的促进作用^[48]。

除此之外, miRNAs 还能缓解缺乏机械应力刺激所导致的骨量流失。Zhou 等利用成骨细胞靶向药物递送系统将 miR-133a 激活剂 (agomir-miR-133a) 及阴性对照剂 (agomir-nc) 静脉注射至 6 月龄雄性 C57BL/6J 小鼠体内, 而后对小鼠进行为期 21 天的尾部悬吊, 结果显示 miR-133a 能够明显改善尾部悬吊小鼠的骨形成能力、骨量及骨生物力学特性, 在成骨细胞中过表达 miR-133a 能够提高 ALP 活性, 上调 OCN 及 COL1 等成骨因子的表达, 促进成骨分化, 而低表达 miR-133a 的作用则与之相反^[49]。这些结果表明, miR-133a 能够缓解缺乏机械应力刺激所导致的骨量流失。而当某些 miRNAs 缺失时, 骨组织细胞对机械应力刺激的应答将减弱。例如 Mohan 等研究显示, 成骨细胞条件性敲除 miR-17-92 基因簇可导致骨膜对机械牵张力的应答显著减弱, 致使小鼠骨密度、骨强度显著降低, 骨膜骨形成率、矿化沉积率显著下降, 骨膜蛋白、Elk3 及 Runx2 的 mRNA 表达下调 25%~30%^[50]。

3 总结与展望

在骨代谢中, miRNAs 通过靶向调控成骨因子、骨吸收因子或相关骨代谢关键调控因子的表达参与对骨形成及骨吸收过程的调控, 在骨代谢的平衡中

表2. 机械应力介导miRNAs调控骨代谢

Table 2. Mechanical stress regulates bone metabolism via miRNAs

Intervention	MiRNAs	Sample resources	Function	References
Strain	miR-214-3p↓	Osteoblasts from C57BL/6 mice	Osteogenesis↑	[10]
Strain	miR-140-5p↓	BMSCs from SD rats	Osteogenesis↑	[38]
Strain	miR-138-5p↓	Osteoblasts from WT and TG mice	Osteogenesis↑	[9]
Strain	let-7i-3p↓	hASCs	Osteogenesis↑	[39]
Strain	miR-503-3p↓	hASCs	Osteogenesis↑	[40]
Strain	miR-103a↓	hFOB 1.19 cells	Osteogenesis↑	[37]
Strain	miR-21↑	hPDLSCs	Osteogenesis↑	[47]
Strain	miR-20a↑	Femurs and tibias from WT and cKO mice	BMD↑	[50]
	miR-92a↑		BMC↑	
			Bone formation↑	
			Bone strength↑	
Compression	miR-494-3p↑	MC3T3-E1 cells	Osteoblast proliferation↓	[41]
Compression	miR-214-3p↓	BMSC-derived exosomes from C57BL/6 mice, HUVECs	BMD↑	[42]
			BMC↑	
			Bone angiogenesis↑	
Compression	miR-146-5p↓	Exosomes from THP-1 cells, HUVECs	Angiogenesis↑	[43]
			Osteoclastogenesis↑	
Fluid shear stress	miR-140-5p↓	MC3T3-E1 cells	Osteoblast proliferation↑	[45]
Fluid shear stress	miR-34a↓	MC3T3-E1 cells	Osteoblast proliferation↑	[46]
			Osteoblast apoptosis↓	
Fluid shear stress	miR-33-5p↑	MC3T3-E1 cells	Osteogenesis↑	[44]
Fluid shear stress	miR-132↑	PDL	Osteogenesis↑	[48]

BMSCs, bone marrow mesenchymal stem cells; SD rat: Sprague-Dawley rat; WT: wild type mice; TG: miR-138-5p transgenic mice; hASCs: human adipose-derived stem cells; hPDLSCs: human periodontal ligament stem cells; cKO: osteoblast-specific miR17-92 cluster conditional knockout mice; BMD: bone mineral density; BMC: bone mineral content; HUVECs: human umbilical vein endothelial cells; PDL: periodontal ligament cells.

发挥着重要的调节作用。运动改善骨代谢的作用已被广泛证实，运动及机械应力能够介导 miRNAs 靶向调控相关的成骨因子或骨吸收因子，促进骨形成，抑制骨吸收，进而改善骨代谢，这可能是运动发挥促成骨效应的途径之一（图 2）。

目前运动介导 miRNAs 调控骨代谢的研究多以细胞实验为主，动物研究仍较为少见，且尚未见有条件性敲除小鼠模型的研究报道。细胞实验主要采用牵张应力、压应力以及流体剪切力等机械应力对 BMSC、成骨细胞及破骨细胞等骨组织细胞进行干预。然而，一个 miRNA 能够靶向作用于多个基因，而一个基因又受多个 miRNAs 调控，不同的 miRNAs 与其靶基因之间的相互作用，共同形成复杂的调控网络。基于 miRNAs 调控骨代谢的复杂性，运动介导 miRNAs 调节骨代谢的确切机制仍有待更深入研究。尤其是在动物实验方面，随着基因编辑技术的应用逐渐成熟及普遍化，更多的条件性敲除动

物模型将被应用于相关研究中，这有利于进一步揭示 miRNAs 在运动改善骨代谢中的作用机制。

此外，运动过程中外泌体 miRNAs 在骨组织细胞与其他组织细胞通讯中的作用机制不仅是目前与未来运动改善骨代谢机制研究的一个重要方向，也将成为骨生物学领域的研究热点。

参考文献

1 Wang L, Yu W, Yin X, Cui L, Tang S, Jiang N, Cui L, Zhao N, Lin Q, Chen L, Lin H, Jin X, Dong Z, Ren Z, Hou Z, Zhang Y, Zhong J, Cai S, Liu Y, Meng R, Deng Y, Ding X, Ma J, Xie Z, Shen L, Wu W, Zhang M, Ying Q, Zeng Y, Dong J, Cummings SR, Li Z, Xia W. Prevalence of osteoporosis and fracture in China: The China osteoporosis prevalence study. JAMA Netw Open 2021; 4(8): e2121106.

2 Zhang L, Yuan Y, Wu W, Sun Z, Lei L, Fan J, Gao B, Zou J. Medium-intensity treadmill exercise exerts beneficial effects on bone modeling through bone marrow mesenchymal stromal

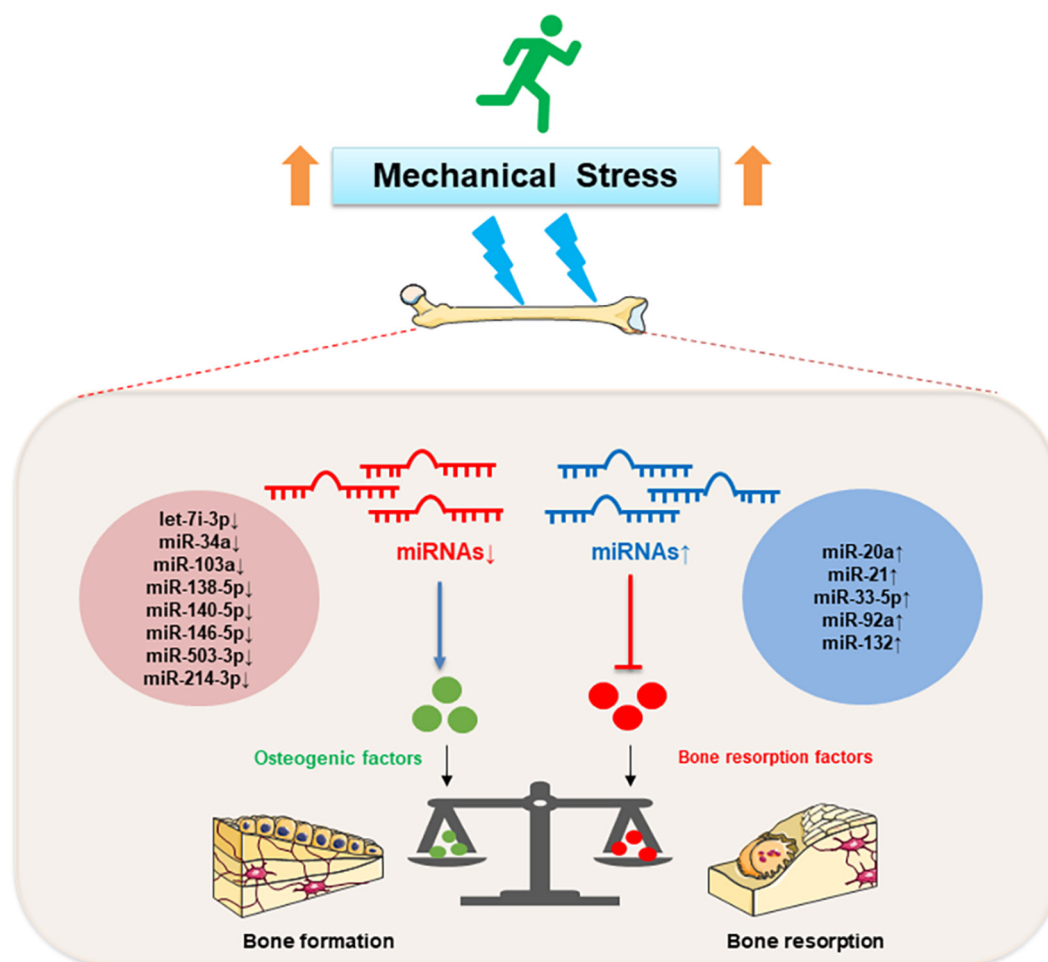


图 2. 运动及机械应力介导miRNAs调控骨代谢示意图

Fig. 2. Exercise and mechanical stress regulate bone metabolism via miRNAs. Exercise and mechanical stress promote bone formation through down-regulated expression of miRNAs that inhibit bone formation and through up-regulated expression of miRNAs which inhibit bone resorption.

- cells. *Front Cell Dev Biol* 2020; 8: 600639.
- 3 Yuan Y, Chen X, Zhang L, Wu J, Guo J, Zou D, Chen B, Sun Z, Shen C, Zou J. The roles of exercise in bone remodeling and in prevention and treatment of osteoporosis. *Prog Biophys Mol Biol* 2016; 122(2): 122–130.
 - 4 Matsuyama H, Suzuki HI. Systems and synthetic microRNA biology: From biogenesis to disease pathogenesis. *Int J Mol Sci* 2019; 21(1): 132.
 - 5 Ji L, Li X, He S, Chen S. Regulation of osteoclast-mediated bone resorption by microRNA. *Cell Mol Life Sci* 2022; 79(6): 287.
 - 6 Qiu M, Zhai S, Fu Q, Liu D. Bone marrow mesenchymal stem cells-derived exosomal microRNA-150-3p promotes osteoblast proliferation and differentiation in osteoporosis. *Hum Gene Ther* 2021; 32(13–14): 717–729.
 - 7 Guo Y, Wang Y, Liu Y, Liu Y, Zeng Q, Zhao Y, Zhang X, Zhang X. MicroRNA-218, microRNA-191*, microRNA-3070a and microRNA-33 are responsive to mechanical strain exerted on osteoblastic cells. *Mol Med Rep* 2015; 12(2): 3033–3038.
 - 8 Yuan Y, Zhang L, Tong X, Zhang M, Zhao Y, Guo J, Lei L, Chen X, Tickner J, Xu J, Zou J. Mechanical stress regulates bone metabolism through microRNAs. *J Cell Physiol* 2017; 232(6): 1239–1245.
 - 9 Chen Z, Zhao F, Liang C, Hu L, Li D, Zhang Y, Yin C, Chen L, Wang L, Lin X, Su P, Ma J, Yang C, Tian Y, Zhang W, Li Y, Peng S, Chen W, Zhang G, Qian A. Silencing of miR-138-5p sensitizes bone anabolic action to mechanical stimuli. *Theranostics* 2020; 10(26): 12263–12278.
 - 10 Yuan Y, Guo J, Zhang L, Tong X, Zhang S, Zhou X, Zhang M, Chen X, Lei L, Li H, Liu TCY, Xu J, Zou J. MiR-214 attenuates the osteogenic effects of mechanical loading on osteoblasts. *Int J Sports Med* 2019; 40(14): 931–940.
 - 11 Luna C, Li G, Qiu J, Epstein DL, Gonzalez P. MicroRNA-24

- regulates the processing of latent TGF β 1 during cyclic mechanical stress in human trabecular meshwork cells through direct targeting of *FURIN*. *J Cell Physiol* 2011; 226(5): 1407–1414.
- 12 Jones TL, Esa MS, Li KHC, Krishnan SRG, Elgallab GM, Pearce MS, Young DA, Birrell FN. Osteoporosis, fracture, osteoarthritis & sarcopenia: A systematic review of circulating microRNA association. *Bone* 2021; 152: 116068.
 - 13 Shao JL, Li H, Zhang XR, Zhang X, Li ZZ, Jiao GL, Sun GD. Identification of serum exosomal microRNA expression profiling in menopausal females with osteoporosis by high-throughput sequencing. *Curr Med Sci* 2020; 40(6): 1161–1169.
 - 14 Wilson RC, Tambe A, Kidwell MA, Noland CL, Schneider CP, Doudna JA. Dicer-TRBP complex formation ensures accurate mammalian microRNA biogenesis. *Mol Cell* 2015; 57(3): 397–407.
 - 15 Gaur T, Hussain S, Mudhasani R, Parulkar I, Colby JL, Frederick D, Kream BE, van Wijnen AJ, Stein JL, Stein GS, Jones SN, Lian JB. Dicer inactivation in osteoprogenitor cells compromises fetal survival and bone formation, while excision in differentiated osteoblasts increases bone mass in the adult mouse. *Dev Biol* 2010; 340(1): 10–21.
 - 16 Hong L, Sun H, Amendt BA. MicroRNA function in craniofacial bone formation, regeneration and repair. *Bone* 2021; 144: 115789.
 - 17 Zhang Y, Zhang N, Wei Q, Dong Y, Liu Y, Yuan Q, He W, Jing Z, Hong Z, Zhang L, Wang H, Li W. MiRNA-320a-5p contributes to the homeostasis of osteogenesis and adipogenesis in bone marrow mesenchymal stem cell. *Regen Ther* 2022; 20: 32–40.
 - 18 Zang LY, Yang XL, Li WJ, Liu GL. Long noncoding RNA metastasis-associated lung adenocarcinoma transcript 1 promotes the osteoblast differentiation of human bone marrow-derived mesenchymal stem cells by targeting the microRNA-96/osterix axis. *J Craniofac Surg* 2021; 33(3): 956–961.
 - 19 Zhou R, Miao S, Xu J, Sun L, Chen Y. Circular RNA circ_0000020 promotes osteogenic differentiation to reduce osteoporosis via sponging microRNA miR-142-5p to up-regulate bone morphogenetic protein BMP2. *Bioengineered* 2021; 12(1): 3824–3836.
 - 20 Li L, Fang J, Liu Y, Xiao L. LncRNA LOC100506178 promotes osteogenic differentiation via regulating miR-214-5p-BMP2 axis in human bone marrow mesenchymal stem cells. *PeerJ* 2020; 8: e8909.
 - 21 Zhang N, Hu X, He S, Ding W, Wang F, Zhao Y, Huang Z. LncRNA MSC-AS1 promotes osteogenic differentiation and alleviates osteoporosis through sponging microRNA-140-5p to upregulate BMP2. *Biochem Biophys Res Commun* 2019; 519(4): 790–796.
 - 22 Kou J, Zheng X, Guo J, Liu Y, Liu X. MicroRNA-218-5p relieves postmenopausal osteoporosis through promoting the osteoblast differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells. *J Cell Biochem* 2020; 121(2): 1216–1226.
 - 23 Zhang L, Li G, Wang K, Wang Y, Dong J, Wang H, Xu L, Shi F, Cao X, Hu Z, Zhang S. MiR-30 family members inhibit osteoblast differentiation by suppressing Runx2 under unloading conditions in MC3T3-E1 cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2020; 522(1): 164–170.
 - 24 Luo B, Yang J, Yuan Y, Hao P, Cheng X. MicroRNA-142 regulates osteoblast differentiation and apoptosis of mouse pre-osteoblast cells by targeting bone morphogenetic protein 2. *FEBS Open Bio* 2020; 10(9): 1793–1801.
 - 25 Sun S, Xu Y, Zhu Z, Kong D, Liu H, Zhou Z, Wang L. MicroRNA let-7i-3p affects osteoblast differentiation in ankylosing spondylitis via targeting PDK1. *Cell Cycle* 2021; 20(12): 1209–1219.
 - 26 Yu H, Zhang J, Liu X, Li Y. microRNA-136-5p from bone marrow mesenchymal stem cell-derived exosomes facilitates fracture healing by targeting LRP4 to activate the Wnt/ β -catenin pathway. *Bone Joint Res* 2021; 10(12): 744–758.
 - 27 Zhang Y, Ma C, Liu C, Wu W. NF- κ B promotes osteoclast differentiation by overexpressing MITF via down regulating microRNA-1276 expression. *Life Sci* 2020; 258: 118093.
 - 28 Kong XH, Shi SF, Hu HJ, Wang JX. MicroRNA-20a suppresses RANKL-modulated osteoclastogenesis and prevents bone erosion in mice with rheumatoid arthritis through the TLR4/p38 pathway. *J Biol Regul Homeost Agents* 2021; 35(3): 921–931.
 - 29 Lian WS, Ko JY, Chen YS, Ke HJ, Hsieh CK, Kuo CW, Wang SY, Huang BW, Tseng JG, Wang FS. MicroRNA-29a represses osteoclast formation and protects against osteoporosis by regulating PCAF-mediated RANKL and CXCL12. *Cell Death Dis* 2019; 10(10): 705.
 - 30 Huang MZ, Zhuang Y, Ning X, Zhang H, Shen ZM, Shang XW. Artesunate inhibits osteoclastogenesis through the miR-503/RANK axis. *Biosci Rep* 2020; 40(7): BSR20194387.
 - 31 Jiang B, Yuan C, Han J, Shen M, Zhou X, Zhou L. miR-143-3p inhibits the differentiation of osteoclast induced by synovial fibroblast and monocyte coculture in adjuvant-induced arthritic rats. *Biomed Res Int* 2021; 2021: 5565973.
 - 32 Guo J, Yuan Y, Zhang L, Wang M, Tong X, Liu L, Zhang M, Li H, Chen X, Zou J. Effects of exercise on the expression of long non-coding RNAs in the bone of mice with osteoporosis. *Exp Ther Med* 2022; 23(1): 70.
 - 33 Yang H, Cao Z, Wang Y, Wang J, Gao J, Han B, Yu F, Qin Y,

- Guo Y. Treadmill exercise influences the microRNA profiles in the bone tissues of mice. *Exp Ther Med* 2021; 22(3): 1035.
- 34 Lee S, Shin YA, Cho J, Park DH, Kim C. Trabecular bone microarchitecture improvement is associated with skeletal nerve increase following aerobic exercise training in middle-aged mice. *Front Physiol* 2021; 12: 800301.
 - 35 Behera J, Ison J, Voor MJ, Tyagi N. Exercise-linked skeletal irisin ameliorates diabetes-associated osteoporosis by inhibiting the oxidative damage-dependent miR-150-FNDC5/pyroptosis axis. *Diabetes* 2022; 71(12): 2777–2792.
 - 36 Chen X, Guo J, Yuan Y, Sun Z, Chen B, Tong X, Zhang L, Shen C, Zou J. Cyclic compression stimulates osteoblast differentiation via activation of the Wnt/beta-catenin signaling pathway. *Mol Med Rep* 2017; 15(5): 2890–2896.
 - 37 Zuo B, Zhu J, Li J, Wang C, Zhao X, Cai G, Li Z, Peng J, Wang P, Shen C, Huang Y, Xu J, Zhang X, Chen X. microRNA-103a functions as a mechanosensitive microRNA to inhibit bone formation through targeting Runx2. *J Bone Miner Res* 2015; 30(2): 330–345.
 - 38 Zhu G, Zeng C, Qian Y, Yuan S, Ye Z, Zhao S, Li R. Tensile strain promotes osteogenic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells through upregulating lncRNA-MEG3. *Histol Histopathol* 2021; 36(9): 939–946.
 - 39 Luo Y, Ge R, Wu H, Ding X, Song H, Ji H, Li M, Ma Y, Li S, Wang C, Du H. The osteogenic differentiation of human adipose-derived stem cells is regulated through the let-7i-3p/LEF1/beta-catenin axis under cyclic strain. *Stem Cell Res Ther* 2019; 10(1): 339.
 - 40 Luo Y, Ding X, Ji H, Li M, Song H, Li S, Wang C, Wu H, Du H. MicroRNA-503-3p affects osteogenic differentiation of human adipose-derived stem cells by regulation of Wnt2 and Wnt7b under cyclic strain. *Stem Cell Res Ther* 2020; 11(1): 318.
 - 41 Iwawaki Y, Mizusawa N, Iwata T, Higaki N, Goto T, Watanabe M, Tomotake Y, Ichikawa T, Yoshimoto K. MiR-494-3p induced by compressive force inhibits cell proliferation in MC3T3-E1 cells. *J Biosci Bioeng* 2015; 120(4): 456–462.
 - 42 Wang X, Li X, Li J, Zhai L, Liu D, Abdurahman A, Zhang Y, Yokota H, Zhang P. Mechanical loading stimulates bone angiogenesis through enhancing type H vessel formation and downregulating exosomal miR-214-3p from bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *FASEB J* 2021; 35(1): e21150.
 - 43 Wang Y, Zheng Y, Li W. Compression loading of osteoclasts attenuated microRNA-146a-5p expression, which promotes angiogenesis by targeting adiponectin. *Sci China Life Sci* 2022; 65(1): 151–166.
 - 44 Wang H, Sun Z, Wang Y, Hu Z, Zhou H, Zhang L, Hong B, Zhang S, Cao X. miR-33-5p, a novel mechano-sensitive microRNA promotes osteoblast differentiation by targeting Hmga2. *Sci Rep* 2016; 6: 23170.
 - 45 Wang X, Geng B, Wang H, Wang S, Zhao D, He J, Lu F, An J, Wang C, Xia Y. Fluid shear stress-induced down-regulation of microRNA-140-5p promotes osteoblast proliferation by targeting VEGFA via the ERK5 pathway. *Connect Tissue Res* 2022; 63(2): 156–168.
 - 46 Wang X, He J, Wang H, Zhao D, Geng B, Wang S, An J, Wang C, Han H, Xia Y. Fluid shear stress regulates osteoblast proliferation and apoptosis via the lncRNA TUG1/miR-34a/FGFR1 axis. *J Cell Mol Med* 2021; 25(18): 8734–8747.
 - 47 Wei F, Liu D, Feng C, Zhang F, Yang S, Hu Y, Ding G, Wang S. microRNA-21 mediates stretch-induced osteogenic differentiation in human periodontal ligament stem cells. *Stem Cells Dev* 2015; 24(3): 312–319.
 - 48 Qi L, Zhang Y. The microRNA 132 regulates fluid shear stress-induced differentiation in periodontal ligament cells through mTOR signaling pathway. *Cell Physiol Biochem* 2014; 33(2): 433–445.
 - 49 Zhou Y, Chen X, Zhu Z, Bi D, Ma S. MiR-133a delivery to osteoblasts ameliorates mechanical unloading-triggered osteopenia progression *in vitro* and *in vivo*. *Int Immunopharmacol* 2021; 97: 107613.
 - 50 Mohan S, Wergedal JE, Das S, Kesavan C. Conditional disruption of miR17-92 cluster in collagen type I-producing osteoblasts results in reduced periosteal bone formation and bone anabolic response to exercise. *Physiol Genomics* 2015; 47(2): 33–43.