

doi:10.3969/j.issn.1005-3697.2021.05.02

❖ 基础研究 ❖

miR-338-3p 通过靶向 RUNX2 负调控人骨髓间充质干细胞成骨分化且促进骨质疏松

刘国樑, 秦明照

(首都医科大学附属北京同仁医院干部医疗/老年医学科, 北京 100730)

【摘要】目的: 探讨 miRNA-338-3p 在骨质疏松症进展中的作用及其对人骨髓间充质干细胞 (hBMSCs) 成骨分化的影响。**方法:** 选择 60 例骨质疏松症患者为研究对象, 另选同期 60 名非骨质疏松者作为对照组。检测两组血清 miR-338-3p 表达水平。采用 RT-qPCR 检测 miR-338-3p、骨钙素 (OCN)、骨桥蛋白 (OPN) 和 I 型胶原蛋白 (collagen I) 水平。Western blot 检测 miR-338-3p 对 RUNX2 蛋白表达的影响; 采用碱性磷酸酶 (ALP) 测定法和茜素红染色评估 miR-338-3p 和 RUNX2 对成骨分化和矿化能力的影响; 采用生物信息学和荧光素酶报告基因检测验证 miR-338-3p 和 RUNX2 之间的关系。**结果:** 骨质疏松患者血清 miR-338-3p 水平相对对照组表达量明显上升 ($P < 0.05$), 且其表达随着成骨诱导时间的延长而逐渐降低 ($P < 0.05$)。与对照组比较, miR-338-3p 表达情况影响 OCN、OPN 和 Collagen I mRNA 的水平 ($P < 0.05$)。与对照组相比, miR-338-3p 过表达削弱了 hBMSCs 矿化能力和 ALP 活性 ($P < 0.05$)。双荧光素酶报告基因检测证实, RUNX2 是 miR-338-3p 的直接靶点, miR-338-3p 过表达降低了 RUNX2 蛋白及其 mRNA 的表达水平 ($P < 0.05$)。RUNX2 过表达可逆转 miR-338-3p 对 hBMSCs 成骨分化的抑制作用。**结论:** miR-338-3p 通过靶向 RUNX2 负调控 hBMSCs 的成骨分化, 从而促进骨质疏松的进展。

【关键词】 骨质疏松; 成骨分化; 人骨髓间充质干细胞成骨分化; miRNA

【中图分类号】 R329.2 **【文献标志码】** A

miRNA-338-3p negatively regulates osteogenic differentiation of human bone marrow mesenchymal stem cells and promotes the progression of osteoporosis by targeting RUNX2

LIU Guo-liang, QIN Ming-zhao

(Department of Geriatrics, Beijing Tongren Hospital, Capital Medical University, Beijing 100730, China)

【Abstract】Objective: To investigate the role of miRNA-338-3p in the progression of osteoporosis and its effect on osteogenic differentiation of human bone marrow mesenchymal stem cells (hBMSCs). **Methods:** 60 patients with osteoporosis were selected as the study subjects, and another 60 patients without osteoporosis were selected as the control group. The expression level of miR-338-3p in serum of the two groups was detected. Levels of miR-338-3p, osteocalcin (OCN), osteopontin (OPN) and Collagen I were detected by RT-qPCR. The effect of miR-338-3p on RUNX2 protein expression was detected by Western blot. The effects of miR-338-3p and RUNX2 on osteogenic differentiation and mineralization were evaluated by alkaline phosphatase (ALP) assay and alizarin red staining. Bioinformatics and luciferase reporter assay were used to verify the functional relationship between miR-338-3p and RUNX2. **Results:** Compared with the control group, the expression level of miR-338-3p in the serum of patients with osteoporosis was significantly increased ($P < 0.05$), and it gradually decreased with the extension of osteogenic induction time ($P < 0.05$). Compared with the control group, the expression of miR-338-3p obviously affected the levels of OCN, OPN and Collagen I mRNA ($P < 0.05$). Compared with the control group, the overexpression of miR-338-3p notably impaired the mineralization ability and ALP activity of hBMSCs ($P < 0.05$). Double luciferase reporter assay confirmed that RUNX2 was a direct target of miR-338-3p. Overexpression of miR-338-3p significantly reduced the mRNA and protein expression levels of RUNX2 ($P < 0.05$). RUNX2 overexpression reversed the inhibition of miR-338-3p on osteogenic differentiation of hBMSCs. **Conclusion:** miR-338-3p negatively regulated osteogenic differentiation of hBMSCs by targeting RUNX2, thus promoting the development of osteoporosis.

【Key words】 Osteoporosis; Osteogenic differentiation; human bone marrow mesenchymal stem cells (hBMSCs); miRNA

骨质疏松症是一种内分泌和代谢性疾病, 常伴随并发骨矿物质密度和骨质量的降低^[1-2]。导致患

基金项目: 北京市保健委员会科研项目 (京 17-9)

作者简介: 刘国樑 (1970 -), 男, 硕士, 副主任医师。E-mail: 113683266021@163.com

者易发生脆性骨折^[3]。人骨髓间充质干细胞(human bone marrow stromal cells, hBMSCs)的分化调控参与多种分子途径调控,在成骨性疾病的干细胞治疗中显示出较良好的潜力^[4]。微核糖核酸(micro ribonucleic acids, miRNAs)通过调控靶基因的表达参与生物学过程,在骨骼发育、骨质疏松症发病机制中发挥着重要作用,可作为治疗骨类疾病的新的潜在靶点^[5-6]。miRNA-153通过靶向II型骨形态发生蛋白受体抑制人间充质干细胞的成骨分化^[7]。在成骨细胞分化过程中,miRNA-214的上调增加了骨质疏松小鼠间充质干细胞的数量^[8]。RUNX2作为成骨细胞分化的关键调节因子,对正常骨骼发育和分化至关重要^[9-10]。本研究通过探讨miRNA-338-3p在hBMSCs成骨分化中的作用及其与RUNX2的相互关系,旨在为骨质疏松症的治疗提供新的思路。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2019年1月至2019年12月首都医科大学附属北京同仁医院收治的60例骨质疏松症患者为研究对象。其中,男性36例,女性24例;平均年龄(73.12±8.27)岁;所有患者均符合骨质疏松症的相关诊断标准^[11]。排除标准:(1)恶性肿瘤患者;(2)合并脑出血或颅内出血史;(3)合并严重心、肝等系统性疾病者;(4)合并感染、自身免疫类疾病者。另选60名同期非骨质疏松者作为对照组。两组性别、年龄等一般资料比较,差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性,见表1。

两组入院时,收集其病历资料,包括年龄、性别、体质指数、吸烟饮酒情况及合并基础病等。入院后清晨,采集两组静脉血8 mL,静置30 min后,4℃,3 000 g/min离心10 min。取上清(非溶血状态)在4℃再次离心,135 000 g/min,持续15 min。随后,将血清标本分装,每管200 μL, -80℃保存备用。

表1 两组一般资料比较($\bar{x} \pm s$)

指标	病例组(n=60)	对照组(n=60)	χ^2/t 值	P值
年龄(岁)	73.12±8.27	72.07±7.46	0.730	0.467
体质指数(kg/m ²)	22.07±2.46	23.14±3.07	1.483	0.141
性别(男/女)	36/24	29/31	1.645	0.200
吸烟(有/无)	31/29	33/27	0.134	0.714
饮酒(有/无)	26/34	23/37	0.310	0.577
高血压(有/无)	42/18	35/25	1.776	0.183
高血脂(有/无)	33/27	29/31	0.534	0.465
糖尿病(有/无)	22/38	19/41	0.333	0.564

1.2 hBMSCs的分离和培养

首先,采用骨髓粘连法从骨质疏松症患者和对照组中提取10 mL新鲜骨髓置于无菌离心管中,采用密度梯度离心法分离hBMSCs细胞,倒置显微镜

下观察hBMSCs细胞生长情况及形态,选用第3代对数生长期细胞用于实验研究^[12]。分离的hBMSCs培养在phenol red-free α -minimum Eagle's培养基中(α -MEM;HyClone, Logan, UT, USA),含10%胎牛血清(FBS-HI)(Gibco, Grand Island, NY, USA),100 U/mL青霉素和100 μg/mL链霉素(Gibco, Grand Island, NY, USA)。培养基每两天更换1次,细胞传代至90%融合度。然后,将hBMSCs在phenol red-free α -minimum Eagle's培养基中培养(α -MEM;HyClone, Logan, UT, USA),含1%胎牛血清(fetal bovine serum, FBS-HI)(Gibco, Grand Island, NY, USA),100 U/mL青霉素和100 μg/mL链霉素(Gibco, Grand Island, NY, USA),抗坏血酸50 μg/mL(Gibco, Grand Island, NY, USA),10 mM甘油磷酸酯和0.1 μg/mL地塞米松(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA),进行成骨诱导。每3 d更换1次成骨诱导培养基。

1.3 细胞转染

miRNA-338-3p模拟物(miRNA-338-3p mimics, 5'-GGGTCCAGCATCAGTGATT-3')、miRNA-338-3p抑制剂(miRNA-338-3p inhibitor, 5'-CCCAGGTCGTAGTCACTAA-3')、RUNX2过表达质粒(RUNX2)或阴性对照(miR-NC)均购自上海基因制药有限公司(中国上海)。按照Lipofectamine RNAiMAX转染试剂盒(Invitrogen公司,美国)的说明书,将miRNA-338-3p模拟物、miRNA-338-3p抑制剂、RUNX2过表达质粒或阴性对照转染到hBMSCs细胞系中。转染前24 h,将融合度为75%的细胞接种于6孔板中培养;转染当天将Lipofectamine RNAiMAX转染试剂与opti-MEM培养液及合成的miRNA-338-3p模拟物、miRNA-338-3p抑制剂、RUNX2或阴性对照均匀混合,室温孵育5~10 min后加入细胞培养液中;转染48 h后,胰酶消化细胞,磷酸缓冲盐溶液(phosphate buffer saline, PBS)冲洗1次,保存备用。

1.4 RNA提取和实时定量PCR

严格按照TRIzol试剂操作说明(Invitrogen, Carlsbad, CA, USA)提取骨质疏松患者、对照组血清和hBMSCs中的总RNA。采用Nanodrop光谱仪(Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA)检测RNA纯度和浓度。随后,使用逆转录系统将RNA反向转录为cDNA(Thermo Scientific, CA, USA)。采用ABI PRISM 7500序列检测系统(ABI),采用实时荧光定量PCR 2 x SYBR qPCR Mix(北京中曼生物技术有限公司,中国)检测miR-338-3p的水平。扩增体系如下:PCR反应包含2 μL cDNA、0.4 μL正向引物、0.4 μL反向引物、7.2 μL H₂O₂和10 μL SYBR;扩增条件为25℃,10 min,48℃,30 min,95℃,5 min,U6作为实验内参。SYBR Green检测RUNX2蛋白、骨钙素(osteocalcin, OCN)、骨桥蛋白

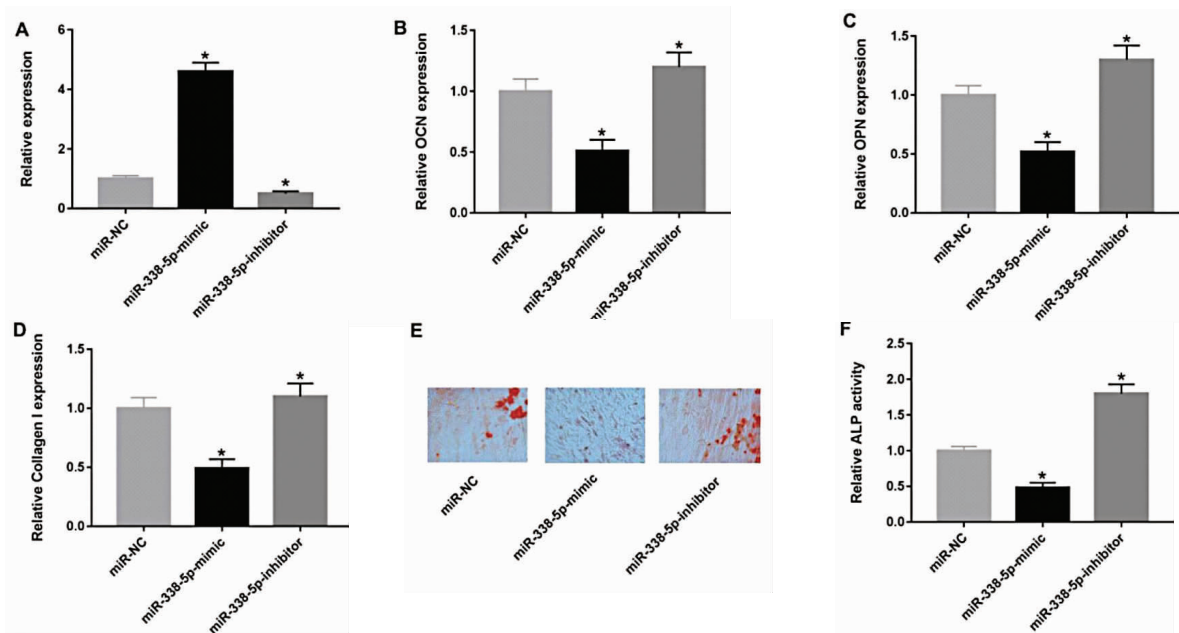


图 2 miR-338-3p 过表达对成骨分化相关标志物表达的影响

A. RT-qPCR 检测 miR-338-3p 模拟物和抑制剂转染 hBMSCs 后的效果; B-D. miR-338-3p 过表达对 OCN、OPN 和 Collagen I mRNA 表达的影响; E. 过表达 miR-338-3p 对 hBMSCs 的矿化能力的影响(x40); F. 过表达 miR-338-3p 对 hBMSCs 中 ALP 活性的影响。*P<0.05

2.3 RUNX2 是 miR-338-3p 的直接作用靶基因

生物信息学预测显示, RUNX2 基因的 3' 端非编码区(3'UTR) 包含了一个 miR-338-3p 的靶序列(图 3A)。在 hBMSCs 细胞系中, 双荧光素酶报告基因检测进一步证实了 RUNX2 是 miR-338-3p 的直接靶点(WT: miR-NC(1.10 ± 0.22), miR-338-5p-mimic(0.45 ± 0.05); MT: miR-NC(0.98 ± 0.16), miR-338-5p-mimic(1.01 ± 0.18))(图 3B)。此外, western blot 和 RT-qPCR 分析表明, 与对照组相比, miR-338-3p 过表达降低了 RUNX2 的 mRNA 和蛋白表达水平(图 3C-D); 相反, miR-338-3p 敲低上调了 RUNX2 的 mRNA 和蛋白表达水平(图 3C-D)。

2.4 miR-338-3p 通过抑制 RUNX2 的表达抑制成骨分化

为进一步探讨 miR-338-3p 在成骨分化中的作用机制, 在 hBMSCs 细胞系中分别转染 miR-NC、miR-338-3p 模拟物和 miR-338-3p 模拟物 + RUNX2。结果表明, 过表达 miR-338-3p 可显著降低 ALP 活性, 而 RUNX2 过表达可以逆转这一现象(图 4A)。同样, 茜素红染色显示, 过表达 miR-338-3p 的 hBMSCs 细胞系矿化能力明显受到抑制, 而通过共转染 miR-338-3p 模拟物和 RUNX2, 矿化程度进一步升高(图 4B)。过表达 miR-338-3p, OCN、OPN 和 collagen I mRNA 的相对表达水平下调。而在 RUNX2 过表达后, OCN、OPN 和 collagen I mRNA 水平升高(图 4C-E)。

3 讨论

骨质疏松症是一种常见的复杂疾病, 其主要表

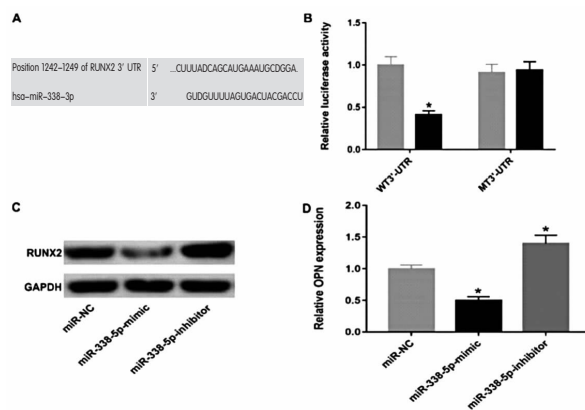


图 3 RUNX2 是 miR-338-3p 的直接作用靶基因

A. 生物信息学预测 RUNX2 基因 3'UTR 包含了一个 miR-338-3p 的靶序列; B. 双荧光素酶报告基因检测证实了 RUNX2 是 miR-338-3p 的直接靶点; C-D. miR-338-3p 过表达对 RUNX2 的 mRNA 和蛋白表达水平的影响。*P<0.05

现为骨骼微结构恶化, 强度受损, 使之更易发生脆性骨折^[13]。据估计, 全球骨质疏松症的患病人数超过 7 500 万人, 每年与骨质疏松症相关的骨折超过 150 万人, 到 2050 年髌部骨折预计将达到 630 万人^[14-15]。骨骼的微观结构由矿化的细胞外基质和骨重塑单元组成, 包括骨细胞, 成骨细胞, 破骨细胞等^[16]。破骨细胞和成骨细胞对于骨骼的维持和重塑至关重要。骨形成和骨吸收之间的不平衡会导致代谢性骨疾病, 如骨吸收的过程快于新骨的形成, 骨质疏松症将会发生^[17]。本研究发现, 骨质疏松患者血清 miR-338-3p 水平相比对照组表达量明显上升, miR-338-3p 过表达影响 OCN、OPN 和 Collagen I mRNA 的水平, 且明显削弱了 hBMSCs 矿化能力和

ALP 活性。双荧光素酶报告基因检测证实, RUNX2 是 miR-338-3p 的直接靶点。RUNX2 过表达可逆转 miR-338-3p 对 hBMSCs 成骨分化的抑制作用。可

见, miR-338-3p 通过靶向 RUNX2 负调控 hBMSCs 的成骨分化, 从而促进骨质疏松的进展。

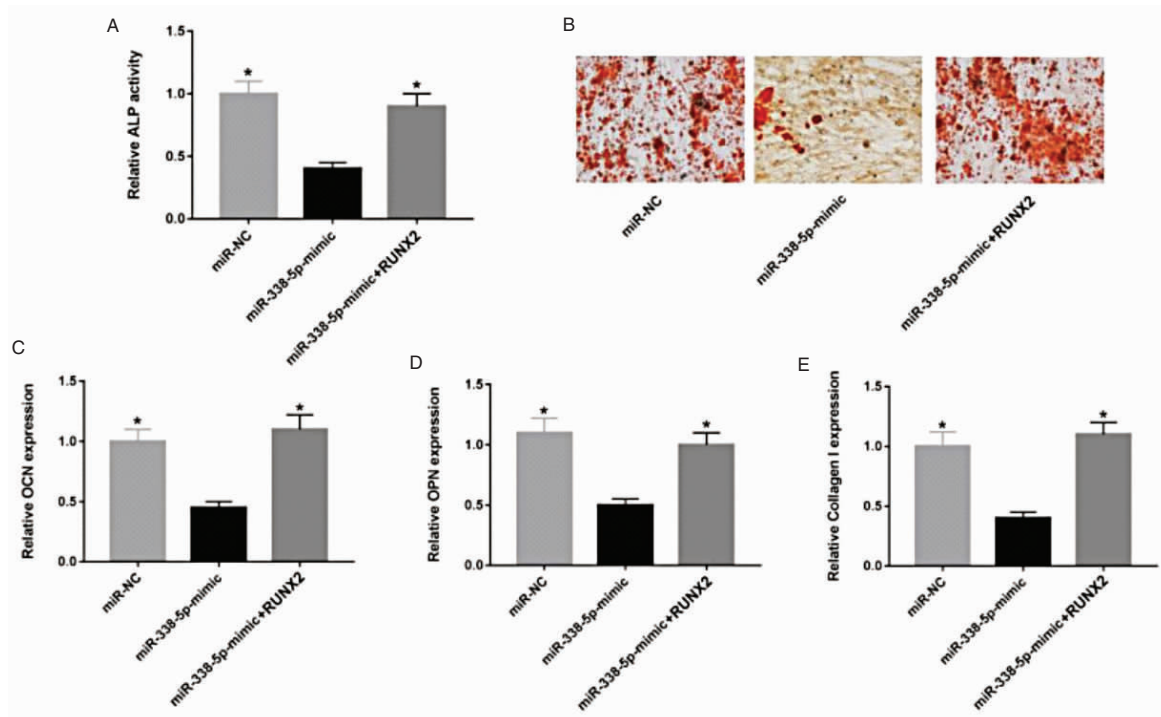


图4 miR-338-3p 通过抑制 RUNX2 的表达抑制成骨分化

A. 过表达 miR-338-3p 可降低 ALP 活性, 而 RUNX2 过表达可逆转这一现象; B. 过表达 miR-338-3p 的 hBMSCs 细胞系矿化能力受到抑制, 共转染 miR-338-3p 模拟物和 RUNX2, 矿化程度进一步升高($\times 40$); C-E. 过表达 miR-338-3p 导致 OCN、OPN 和 collagen I mRNA 的相对表达水平下调。而 RUNX2 过表达后, OCN、OPN 和 collagen I mRNA 水平升高。* $P < 0.05$

miRNA 是长度为 20 ~ 22 个碱基的小型非编码 RNA, 被认为是一种重要的表观遗传修饰分子, 可通过影响细胞分化和凋亡来介导目标基因的转录后调控^[18]。miRNA 在破骨细胞和成骨细胞生长和分化中的作用已得到广泛的研究^[19]。其中成骨细胞的分化是骨稳态的重要过程, miRNA 可以调节成骨细胞分化的生物学过程^[20]。有研究^[21]表明, miR-375 通过靶向 RUNX2 抑制成骨细胞分化, 同时降低了一些关键的成骨细胞标志物的活性。miR-96 通过抑制成骨细胞中 HB-EGF/EGF 受体信号传导来促进成骨细胞分化^[22]。本研究发现, 骨质疏松患者血清中 miRNA-338-3p 水平相比健康对照组表达量明显上升, 此外, 分别在 0、7、14 和 21 d 测定 hBMSCs 成骨分化中 miR-338-3p 的表达数据显示, miR-338-3p 的表达随着成骨诱导时间的延长而逐渐降低。可见, miR-338-3p 可能通过抑制成骨分化, 进而影响骨质疏松症的进展。

miR-338-3p 通过下调 WNT2B 蛋白增强卵巢癌细胞对顺铂的敏感性^[23], 通过抑制 MACC1 基因阻碍结肠癌的进展^[24], 通过靶向蛋白磷酸酶 4 调节亚单位 1 (protein phosphatase 4 regulator subunit 1, PP4R1) 调节蛋白磷酸酶 4 (protein phosphatase 4, PP4) 表达来介导肝细胞核因子 4 α (hepatic nuclear factor 4 α , HNF-4 α)^[25]。miR-338-3p 的过表达还可

抑制成骨细胞分化标记物的表达, 从而减少成骨细胞分化^[26]。可见, miR-338-3p 有可能成为治疗多种疾病的潜在靶点, 且与骨质疏松症的发生及发展密切相关。ALP、Collagen I 是早期成骨分化的标志物, 而 OCN 和 OPN 是其晚期分化的标志物^[27]。本研究发现, miR-338-3p 过表达显著下调了 OCN、OPN 和 Collagen I mRNA 的表达, 相反, miR-338-3p 敲低上调了 OCN、OPN 和 Collagen I mRNA 表达水平。此外, miR-338-3p 过表达削弱了 hBMSCs 矿化能力和 ALP 活性, 表明 miR-338-3p 对成骨分化具有较明显的抑制作用。

hBMSCs 在成骨分化的过程中有多种转录因子参与调节, 如 RUNX2/Cbfa1/Osx 等^[28]。其中 RUNX2 对于成骨细胞分化和软骨细胞成熟至关重要。RUNX2 在成骨细胞和软骨细胞中均有表达, 在敲除 RUNX2 的小鼠中, 成骨细胞和骨形成, 软骨细胞成熟均明显受到抑制^[29]。近年来, 有研究^[30]发现, miRNA 通过调控 RUNX2 的表达来影响成骨分化。如, miR-133 通过靶向 RUNX2 抑制小鼠 C2C12 细胞分化为成骨细胞。Kim 等^[31]发现, 上调小鼠 C3H10T1/2 细胞中的 miR-433, 可直接抑制 RUNX2 和 BMP-2 的转录后水平。Vimalraj 等^[32]证明了 Smurf1 通过蛋白酶体途径降解 RUNX2。而在 BMSCs 中, miR-15b 通过下调 Smurf1 可上调 RUNX2 水平。可见, RUNX2 与上

下游分子相互作用,进一步影响骨骼的生长发育,在骨质疏松症中起重要作用。本研究通过生物信息学预测显示,RUNX2基因的3'UTR包含了一个miR-338-3p的靶序列,双荧光素酶报告基因检测进一步证实了RUNX2是miR-338-3p的直接靶点。miR-338-3p过表达降低了RUNX2的mRNA和蛋白表达水平。而RUNX2过表达可以逆转miR-338-3p对成骨分化的抑制作用。可见,RUNX2在骨质疏松症中至关重要。

综上所述,miR-338-3p在骨质疏松中高表达,随着成骨分化时间的延长其表达逐渐减少。此外,miR-338-3p通过靶向RUNX2负调控hBMSCs的成骨分化,从而促进骨质疏松的进展。

参考文献

- [1] Compston JE, McClung MR, Leslie WD. Osteoporosis[J]. Lancet, 2019,393(10169):364-376.
- [2] Cosman F, de Beur SJ, LeBoff MS, et al. Clinician's Guide to Prevention and Treatment of Osteoporosis[J]. Osteoporos Int, 2014, 25(10):2359-2381.
- [3] Li X, Jiang Y, Huo L, et al. Nonremission and Recurrent Tumor-Induced Osteomalacia: A Retrospective Study[J]. J Bone Miner Res, 2020, 35(3):469-477.
- [4] Li L, Fang J, Liu Y, et al. LncRNA LOC100506178 promotes osteogenic differentiation via regulating miR-214-5p-BMP2 axis in human bone marrow mesenchymal stem cells[J]. PeerJ, 2020, 8:e8909.
- [5] Sasaki Y, Gross C, Xing L, et al. Identification of axon-enriched microRNAs localized to growth cones of cortical neurons[J]. Dev Neurobiol, 2014, 74(3):397-406.
- [6] Shi X, Jiang F, Wen J, et al. Overexpression of Solanum habrochaites microRNA319d (sha-miR319d) confers chilling and heat stress tolerance in tomato (S. lycopersicum)[J]. BMC Plant Biol, 2019, 19(1):214.
- [7] Cao Y, Lv Q, Lv C. MicroRNA-153 suppresses the osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells by targeting bone morphogenetic protein receptor type II[J]. Int J Mol Med, 2015, 36(3):760-766.
- [8] Yang L, Ge D, Cao X, et al. MiR-214 Attenuates Osteogenic Differentiation of Mesenchymal Stem Cells via Targeting FGFR1[J]. Cell Physiol Biochem, 2016, 38(2):809-820.
- [9] 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.
- [10] Botega II, Zamarioli A, Guedes PMSG, et al. Bone callus formation is highly disrupted by dietary restriction in growing rats sustaining a femoral fracture I[J]. Acta Cir Bras, 2019, 34(1):e20190010000002.
- [11] Camacho PM, Petak SM, Binkley N, et al. American Association of Clinical Endocrinologists and American College of Endocrinology clinical practice guidelines for the diagnosis and treatment of postmenopausal osteoporosis-2016[J]. Endocr Pract, 2016, 22(Suppl 4):1-42.
- [12] Zha JP, Wang XQ, Di J. MiR-920 promotes osteogenic differentiation of human bone mesenchymal stem cells by targeting HOXA7[J]. J Orthop Surg Res, 2020, 15(1):254.
- [13] Chen B, Wang L, Li L, et al. Fructus Ligustri Lucidi in Osteoporosis: A Review of its Pharmacology, Phytochemistry, Pharmacokinetics and Safety[J]. Molecules, 2017, 22(9):1469.
- [14] Nogués X, Martínez-Laguna D. Update on osteoporosis treatment. Tratamiento de la osteoporosis[J]. Med Clin (Barc), 2018, 150(12):479-486.
- [15] Lane NE. Epidemiology, etiology, and diagnosis of osteoporosis[J]. Am J Obstet Gynecol, 2006, 194(Suppl 2):S3-S11.
- [16] Kovvuru K, Kanduri SR, Vaitla P, et al. Risk Factors and Management of Osteoporosis Post-Transplant[J]. Medicina (Kaunas), 2020, 56(6):302.
- [17] Jolly JJ, Chin KY, Farhana MFN, et al. Optimization of the Static Human Osteoblast/Osteoclast Co-culture System[J]. Iran J Med Sci, 2018, 43(2):208-213.
- [18] Feng Q, Zheng S, Zheng J. The emerging role of microRNAs in bone remodeling and its therapeutic implications for osteoporosis[J]. Biosci Rep, 2018, 38(3):BSR20180453.
- [19] Ge DW, Wang WW, Chen HT, et al. Functions of microRNAs in osteoporosis[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2017, 21(21):4784-4789.
- [20] Husain A, Jeffries MA. Epigenetics and Bone Remodeling[J]. Curr Osteoporos Rep, 2017, 15(5):450-458.
- [21] DU F, Wu H, Zhou Z, et al. microRNA-375 inhibits osteogenic differentiation by targeting runt-related transcription factor 2[J]. Exp Ther Med, 2015, 10(1):207-212.
- [22] Yang M, Pan Y, Zhou Y. miR-96 promotes osteogenic differentiation by suppressing HBEGF-EGFR signaling in osteoblastic cells[J]. FEBS Lett, 2014, 588(24):4761-4768.
- [23] Niu Q, Liu Z, Gao J, et al. MiR-338-3p Enhances Ovarian Cancer Cell Sensitivity to Cisplatin by Downregulating WNT2B[J]. Yonsei Med J, 2019, 60(12):1146-1156.
- [24] Zou T, Duan J, Liang J, et al. miR-338-3p suppresses colorectal cancer proliferation and progression by inhibiting MACC1[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2018, 11(4):2256-2267.
- [25] Dou L, Wang S, Sun L, et al. MiR-338-3p Mediates Tnf- α -Induced Hepatic Insulin Resistance by Targeting PP4r1 to Regulate PP4 Expression[J]. Cell Physiol Biochem, 2017, 41(6):2419-2431.
- [26] Liu H, Sun Q, Wan C, et al. MicroRNA-338-3p regulates osteogenic differentiation of mouse bone marrow stromal stem cells by targeting Runx2 and Fgfr2[J]. J Cell Physiol, 2014, 229(10):1494-1502.
- [27] Li W, Chen Z, Cai C, et al. MicroRNA-505 is involved in the regulation of osteogenic differentiation of MC3T3-E1 cells partially by targeting RUNX2[J]. J Orthop Surg Res, 2020, 15(1):143.
- [28] Melguizo-Rodríguez L, Manzano-Moreno FJ, Illescas-Montes R, et al. Bone Protective Effect of Extra-Virgin Olive Oil Phenolic Compounds by Modulating Osteoblast Gene Expression[J]. Nutrients, 2019, 11(8):1722.
- [29] Komori T. Regulation of Proliferation, Differentiation and Functions of Osteoblasts by Runx2[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(7):1694.
- [30] 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.
- [31] Kim EJ, Kang IH, Lee JW, et al. MiR-433 mediates ERR γ -suppressed osteoblast differentiation via direct targeting to Runx2 mRNA in C3H10T1/2 cells[J]. Life Sci, 2013, 92(10):562-568.
- [32] Vimalraj S, Partridge NC, Selvamurugan N. A positive role of microRNA-15b on regulation of osteoblast differentiation[J]. J Cell Physiol, 2014, 229(9):1236-1244.

(收稿日期:2020-08-11)

修回日期:2020-09-19)