

MicroRNAs 通过 BMP/TGF- β 信号通路调节骨形成的研究进展

张静 龚逸明

(复旦大学附属中山医院口腔科, 上海 200032)

中图分类号 R783

文献标志码 A

The Progress of microRNAs in Osteogenesis by Regulating BMP/TGF- β Signaling Pathway ZHANG Jing
GONG Yiming Department of Stomatology, Zhongshan Hospital, Fudan University, Shanghai
200032, China

1 microRNAs 在骨形成中的作用

microRNAs(miRNAs)是一类内源性单链小分子(~ 22 nt)非编码 RNA 序列,通过抑制靶基因转录及下调蛋白表达在多种生理和病理过程中起到重要的调控作用^[1]。越来越多的研究表明,miRNAs 在干细胞工程中具有潜在的应用价值,同时参与并调节骨形成和骨重建^[2],如:miR-96 促进 MC3T3-E1 细胞成骨分化,而 miR-125 b 可以通过下调 Cbfb 表达抑制 C3H10T1/2 细胞增殖和成骨分化^[3-4],miR-21 过表达的骨髓间充质干细胞可以加速大鼠闭合性股骨骨折愈合^[5],转染 miR-26a 的脂肪来源干细胞结合羟基磷灰石(HA)支架能够显著促进大鼠胫骨骨缺损中的新骨形成,因此结合 miR-26a 的骨替代体在骨缺损修复中具有可观的治疗潜能^[6]。基质干细胞具有自我更新和多分化潜能,在不同条件下可以分化多种细胞,包括成骨细胞、软骨细胞和脂肪细胞^[5]。miRNAs 具有调节并决策基质干细胞分化方向的能力。过表达 miRNA-22 能够抑制靶基因 HDAC6,进而促进人脂肪来源基质干细胞成骨分化而抑制其成脂分化^[7]。miR-146a 过表达促进胎儿股骨干细胞成骨分化而抑制其成软骨分化^[8]。以上研究均表明,miRNAs 具有严格的调控机制,在成骨分化及骨形成方面发挥重要的调节作用。

2 骨形成蛋白/转化生长因子 β (BMP/TGF- β)信号通路调节骨形成

2.1 BMP/TGF- β 信号通路组成及作用机制

BMP/TGF- β 信号通路广泛参与多种生物学过程,在哺乳类动物骨形成中起到重要的调控作用^[9]。BMP/TGF- β 信号转导包括经典的 Smads 蛋白依赖的信号通路(包括 BMP/TGF- β 配体、受体和 Smads)及不依赖 Smads 的非经典通路(如 p38MAPKs)。经典的 BMP/TGF- β 信号通路首先与相应的 BMP 或 TGF 受体结合,分别激活 Smad 1/5/8 或 Smad 2/3,磷酸化的 Smad 1/5/8 或 Smad 2/3 与 Smad 4 蛋白结合形成复合体,该复合体进入细胞核以直接或间接方式活化成骨特异性转录因子如(Runx2),继而促进成骨分化和骨形成^[9-10]。此外,BMP/TGF- β 通路还可通过与其他成骨相关通路如 Wnt、MAPK、Notch、Hedgehog(Hh)等交互作用在骨组织代谢中发挥调节作用^[11]。

2.2 BMP/TGF- β 信号通路对骨形成的影响

BMP/TGF- β 信号通路参与并精细调节骨形成过程,同时任何干扰 BMP/TGF- β 信号通路及相关调节因子的因素都可能造成骨形成障碍及发育不全。已有研究^[12]表明,BMPs(BMP 2、BMP 4、BMP 6、BMP 7、BMP 9)能够诱导干细胞成骨分化,促进骨和软骨形成,在骨愈合、生物工程及再生医学方面具有重要的应用潜能。其中,BMP 2 和 BMP 4 缺失可导致小鼠四肢严重发育不全^[13]。而 TGF- β 受体(TGF β R1 和 TGF β R2)的缺失造成小鼠长骨、软

骨缺陷;Smads 蛋白如 Smad 1 敲除的小鼠则异位软骨形成,成骨细胞增殖、分化受损^[14-15]。

3 miRNAs 经 BMP/TGF- β 信号通路对骨形成的调控作用

3.1 调节 Smads 蛋白 Smads 蛋白在经典的 BMP/TGF- β 信号通路中发挥重要的功能。Wu 等^[16]研究发现,在 BMP 2 诱导的成骨分化中,miR-30 家族成员显著下调;进一步研究表明,miR-30 家族成员直接作用于 Smad 1 和 Runx2,进而抑制骨形成。同样,miR-199a 可通过显著抑制 Smad 1 的表达而抑制 C3H10T1/2 干细胞的早期软骨分化^[17]。而 Li 等^[18]在 BMP 2 诱导的 C2C12 细胞成骨分化中发现,miR-133 和 miR-135 表达下调,两者分别作用于 Runx2 和 Smad 5,协同抑制骨形成。miR-21 通过抑制 Smad 7(BMP 信号通路抑制剂),促进 BMP 9 诱导的小鼠多能细胞成骨分化^[12]。Cheung 等^[8]发现,miR-146a 过表达后,Smad 2/3 下调,而 Smad 2/3 的抑制促进 Smad 1/5/8 上调,进而上调转录因子 Runx2,促进胎儿股骨干细胞成骨分化,但软骨相关基因 SOX9 表达下调,导致软骨形成被抑制。

3.2 调节 BMPs 及其受体 miRNAs 可以通过调节 BMPs 及其受体调控骨形成。Liao 等^[19]研究发现,BMP-2 和 miR-148b 共表达的脂肪来源干细胞可以促进其自身成骨分化,加速裸鼠颅骨缺损(直径达 4 mm)的骨愈合和骨改建。在对 Satb 2 诱导小鼠骨髓基质干细胞成骨分化的研究中发现,miR-27 表达下降而其靶基因 BMP 2、BMPRI1A 等升高,过表达 miR-27 则显著抑制骨形成,说明 miR-27 可能通过 BMP/TGF- β 信号通路调节骨形成^[20]。同样,miR-140-5p 和 miR-654-5p 可通过直接抑制靶点 BMP-2 的表达而抑制基质干细胞的成骨分化^[21-22]。miR-542-3p 则可通过抑制 BMP 7 及其调控信号通路而抑制成骨细胞增殖和分化^[23]。

miRNAs 也可以通过调节 BMP 信号通路抑制因子调控骨形成。Zhang 等^[24]研究表明,miR-20a 能下调抑制剂 PPAR γ 、Bambi、crim 1,进而增强 BMP/Runx2 信号通路,促进人基质干细胞成骨分化。miR-15b 直接作用于 Smurf 1,通过抑制其降解成骨转录因子 Runx2 而促进成骨细胞分化^[25]。

3.3 调节 TGF- β 相关因子 Mizuno 等^[26]发现,miR-210 能够促进 BMP-4 诱导的成骨细胞分化。

其机制是:miR-210 通过抑制 ACVR1B 的表达而抑制 TGF- β /activin 信号通路,从而促进 ST2 细胞骨形成。miR-29b 能直接下调 TGF β -3、ACVR2A 等成骨抑制因子,进而促进 MC3T3 细胞成骨分化^[27]。miR-181a 能通过抑制 TGF- β I 和 T β R-I/Alk5 而促进 C2C12 和 MC3T3 细胞成骨分化^[28]。以上研究表明,多种 miRNAs 可以参与调节 BMP/TGF- β 信号通路而对骨形成起到重要的调控作用。

4 小 结

综上所述,在骨形成这一复杂、精细的调控网络中,miRNAs 发挥着不可或缺的重要调节作用。miRNAs 通过参与并调节 BMP/TGF- β 信号通路影响骨形成,但其仅限于细胞和动物实验研究中,而临床应用尚未得到证实。随着研究的不断深入,许多问题尚待解决:成骨相关 miRNAs 如何被启动并作用于骨相关特异性转录因子? LncRNAs 等非编码 RNAs 是否参与调控骨形成过程? 过表达或沉默的相关 miRNAs 对成骨调节的起效时间和维持时间及其在临床骨缺损或发育异常上的应用如何? 总之,miRNAs 的研究还处于起步阶段,其在骨形成方面及其他领域都需要进行更深入的研究和探索,进而更好地服务于临床。

参考文献

- [1] Xu JF, Yang Gh, Pan XH, et al. Altered microRNA expression profile in exosomes during osteogenic differentiation of human bone marrow-derived mesenchymal stem cells[J]. PloS One, 2014, 9(12): e114627.
- [2] Arfat Y, Xiao WZ, Ahmad M, et al. Role of micrnas in osteoblasts differentiation and bone disorders[J]. Curr Med Chem, 2015, 22(6): 748-758.
- [3] Huang K, Fu J, Zhou W, et al. MicroRNA-125b regulates osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells by targeting Cbfb in vitro[J]. Biochimie, 2014, 102: 47-55.
- [4] 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.
- [5] Sun Y, Xu L, Huang S, et al. Mir-21 overexpressing mesenchymal stem cells accelerate fracture healing in a rat closed femur fracture model [J]. Biomed Res Int, 2015: 412327.
- [6] Wang Z, Zhang D, Hu Z, et al. MicroRNA-26a-modified adipose-derived stem cells incorporated with a porous hydroxyapatite scaffold improve the repair of bone defects [J]. Mol Med Rep, 2015, 12: 3345-3350.
- [7] Huang S, Wang S, Bian C, et al. Upregulation of miR-22 promotes osteogenic differentiation and inhibits adipogenic

- differentiation of human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells by repressing HDAC6 protein expression[J]. *Stem Cells Dev*, 2012, 21(13): 2531-2540.
- [8] Cheung KS, Sposito N, Stumpf PS, et al. MicroRNA-146a regulates human foetal femur derived skeletal stem cell differentiation by down-regulating SMAD2 and SMAD3[J]. *PloS One*, 2014, 9(6): e98063.
- [9] Chen G, Deng C, Li YP. TGF- β and BMP signaling in osteoblast differentiation and bone formation[J]. *Int J Biol Sci*, 2012, 8(2): 272.
- [10] Rahman MS, Akhtar N, Jamil HM, et al. TGF- β /BMP signaling and other molecular events: regulation of osteoblastogenesis and bone formation[J]. *Bone Res*, 2015, 3: 15005.
- [11] Lin GL, Hankenson KD. Integration of BMP, Wnt, and notch signaling pathways in osteoblast differentiation[J]. *J Cell Biochem*, 2011, 112(12): 3491-3501.
- [12] Song Q, Zhong L, Chen C, et al. miR-21 synergizes with BMP9 in osteogenic differentiation by activating the BMP9/Smad signaling pathway in murine multilineage cells[J]. *Int J Mol Med*, 2015, 36(6): 1497-1506.
- [13] Bandyopadhyay A, Tsuji K, Cox K, et al. Genetic analysis of the roles of BMP2, BMP4, and BMP7 in limb patterning and skeletogenesis[J]. *PLoS Genet*, 2006, 2(12): e216.
- [14] Matsunobu T, Torigoe K, Ishikawa M, et al. Critical roles of the TGF- β type I receptor ALK5 in perichondrial formation and function, cartilage integrity, and osteoblast differentiation during growth plate development[J]. *Dev Biol*, 2009, 332(2): 325-338.
- [15] Wang M, Jin H, Tang D, et al. Smad1 plays an essential role in bone development and postnatal bone formation[J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2011, 19(6): 751-762.
- [16] 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.
- [17] Lin EA, Kong L, Bai XH, et al. miR-199a, a bone morphogenic protein 2-responsive microRNA, regulates chondrogenesis via direct targeting to Smad1[J]. *J Biol Chem*, 2009, 284(17): 11326-11335.
- [18] Li Z, Hassan MQ, Volinia S, et al. A microRNA signature for a BMP2-induced osteoblast lineage commitment program[J]. *PNatl Acad Sci USA*, 2008, 105(37): 13906-13911.
- [19] Liao YH, Chang YH, Sung LY, et al. Osteogenic differentiation of adipose-derived stem cells and calvarial defect repair using baculovirus-mediated co-expression of BMP-2 and miR-148b[J]. *Biomaterials*, 2014, 35(18): 4901-4910.
- [20] Gong Y, Xu F, Zhang L, et al. MicroRNA expression signature for Satb2-induced osteogenic differentiation in bone marrow stromal cells[J]. *Mol Cell Biochem*, 2014, 387(1-2): 227-239.
- [21] Hwang S, Park SK, Lee HY, et al. miR-140-5p suppresses BMP2-mediated osteogenesis in undifferentiated human mesenchymal stem cells[J]. *FEBS Lett*, 2014, 588(17): 2957-2963.
- [22] Wei JQ, Chen H, Zheng XF, et al. Hsa-miR-654-5p regulates osteogenic differentiation of human bone marrow mesenchymal stem cells by repressing bone morphogenetic protein 2[J]. *Journal of Southern Medical University*, 2012, 32(3): 291-295.
- [23] Kureel J, Dixit M, Tyagi AM, et al. miR-542-3p suppresses osteoblast cell proliferation and differentiation, targets BMP-7 signaling and inhibits bone formation[J]. *Cell Death Dis*, 2014, 5(2): e1050.
- [24] Zhang JF, Fu WM, He ML, et al. MiRNA-20a promotes osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells by co-regulating BMP signaling[J]. *RNA Biol*, 2011, 8(5): 829-838.
- [25] 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.
- [26] 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.
- [27] 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.
- [28] Bhushan R, Grünhagen J, Becker J, et al. miR-181a promotes osteoblastic differentiation through repression of TGF- β signaling molecules[J]. *Int J Biochem Cell B*, 2013, 45(3): 696-705.