

非编码 RNA 调控骨质疏松症骨重建机制及补肾壮骨类中医药治疗机制研究进展

王霞霞¹, 安方玉^{1,2}, 颜春鲁^{1,2,3*}, 孙柏¹, 汪春梅¹, 柳颖¹, 石瑶¹, 袁灵青¹, 吕栋辉¹, 赵延真¹
(1.甘肃中医药大学, 兰州 730000; 2.甘肃省中医药防治慢性疾病重点实验室, 兰州 730000; 3.甘肃省中医药研究中心, 兰州 730000)

摘要: 非编码 RNA(non-coding RNAs, ncRNAs)是一种缺乏蛋白编码功能但可以影响染色体结构、基因转录及参与表观遗传调控的特殊 RNA, 主要包括长链非编码 RNA、微小 RNA 等。近年来研究发现, 这些 ncRNAs 主要通过影响骨质疏松(osteoporosis, OP)的骨吸收与骨形成来维持其骨重建。明确 ncRNAs 在 OP 发生发展中的调控机制可能是未来治疗 OP 药物药效筛选的关键靶点。由于中医将 OP 归属于“骨痹”范畴, 根据中医的“肾主骨生髓”理论, 临床主要采用补肾壮骨类方药来治疗 OP, 且疗效显著。已有研究发现, 补肾壮骨类方药可通过上调或下调 ncRNA 的表达来增强成骨细胞增殖或抑制破骨细胞分化, 最终维持了 OP 骨稳态, 从而发挥疗效, 但其具体分子机制仍处于探索阶段。故本文通过总结近年来补肾壮骨类方药通过调控 ncRNAs 治疗 OP 的分子机制, 以期治疗 OP 药物药效关键靶点的筛选和中医药防治 OP 提供新思路。

关键词: 中医药; 补肾壮骨; 骨质疏松; 非编码 RNA; 骨重建

中图分类号: R966 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2023)17-2462-11

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.20222021

引用本文: 王霞霞, 安方玉, 颜春鲁, 等. 非编码 RNA 调控骨质疏松症骨重建机制及补肾壮骨类中医药治疗机制研究进展[J]. 中国现代应用药学, 2023, 40(17): 2462-2472.

Research Progress on the Mechanism of Non-coding RNA Regulation of Bone Reconstruction in Osteoporosis and the Therapeutic Mechanism of Traditional Chinese Medicine for Tonifying Kidney and Strengthening Bone

WANG Xiaxia¹, AN Fangyu^{1,2}, YAN Chunlu^{1,2,3*}, SUN Bai¹, WANG Chunmei¹, LIU Ying¹, SHI Yao¹, YUAN Lingqing¹, LYU Donghui¹, ZHAO Yanzhen¹(1.Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China; 2.Key Laboratory of Chronic Diseases for Prevention and Treatment of Traditional Chinese Medicine of Gansu Province, Lanzhou 730000, China; 3.Research Center of Traditional Chinese Medicine of Gansu Province, Lanzhou 730000, China)

ABSTRACT: Non-coding RNAs(ncRNAs) are special RNAs that they don't have protein coding function, but they can affect chromosome structure, gene transcription and participate in the processes of epigenetic modifications. ncRNAs include long non-coding RNAs, microRNA, etc. In recent years, it has been found that these ncRNAs can maintain bone remodeling by adjusting bone resorption and formation in osteoporosis(OP). In the future, it may be a key target of the drug action screening which is clarifying the regulatory mechanism of ncRNAs in the occurrence and development of OP. OP belongs to bone rheumatism category in traditional Chinese medicine, according to the theory of "the kidney generating marrow and dominating bone" in traditional Chinese medicine, kidney tonifying and bone strengthening formulas are used to treat the OP in clinic, and the curative effect is remarkable. It has been found that kidney tonifying and bone strengthening prescriptions can enhance the proliferation of osteoblasts or inhibit the differentiation of osteoclasts by up-regulating or down-regulating the expression of ncRNA, and finally maintain OP bone homeostasis, thus exerting therapeutic effect. However, the specific molecular mechanism is still in its exploratory stage. Therefore, this paper summarized the molecular mechanism of kidney tonifying and bone strengthening prescriptions regulating ncRNAs in the treatment of OP in recent years, in order to provide the new ideas for the screening of the key therapeutic targets of OP drugs and the prevention and treatment of OP with traditional Chinese medicine.

KEYWORDS: traditional Chinese medicine; tonifying kidney and strengthening bone; osteoporosis; non-coding RNA; bone remodeling

基金项目: 国家自然科学基金项目(82060872); 甘肃省自然科学基金项目(20JR5RA185, 21JR11RA138); 兰州市卫生健康科技发展项目(2021004); 甘肃省“双一流”科研重点项目(GSSYLXM-05)

作者简介: 王霞霞, 女, 硕士 E-mail: wxw15002543662@163.com

***通信作者:** 颜春鲁, 男, 博士, 教授 E-mail: yanchl1979@126.com

骨质疏松(osteoporosis, OP)是一种危害机体健康且能造成患者产生心理创伤的全身代谢性骨骼疾病。在正常生理状态下,人体骨骼的新陈代谢分别通过破骨细胞(osteoclast, OC)来吸收旧骨组织和成骨细胞(osteoblast, OB)来形成新骨组织,从而完成个体的一次骨重建,进而维持机体的骨稳态^[1]。在骨重建的调控中,不同的非编码RNA(non-coding RNAs, ncRNAs)对 OC 和 OB 的功能发挥可能具有关键作用。目前,根据 ncRNAs 的结构和功能,将其分为两大类:一类是非编码的微小 RNA(microRNA, miRNA),另一类是长链非编码 RNA(long non-coding RNA, LncRNA)^[2]。已有研究表明,这些 ncRNAs 通过促进 OB 增殖和抑制 OC 分化来达到控制 OP 发生发展等目的,OP 的分子调控机制研究逐渐成为热点^[3-5]。

另外,随着研究的不断深入,中医药微观化研究成为近年来研究的重点,研究发现中医药在治疗 OP 方面疗效显著,其机制之一可能与调控 ncRNA 有关,如姚顺晗等^[6]发现罗汉果苷 V 通过促进 LncRNA TUG1 的表达来刺激 OB 的增殖与分化,从而达到治疗 OP 的目的。研究^[7]也发现葛根素通过下调 miR-204 来促进 LC3B 的表达,进一步通过增强自噬来促进 OB 增殖和分化,这可能是葛根素发挥疗效的关键机制。由此可知,中医药可以通过调控不同的 ncRNAs 来促进 OP 的骨形成,防止骨流失,使成骨分化与破骨分化趋于动态平衡,这一平衡与中医阴阳平衡的防治观也不谋而合,以 ncRNAs 为靶点调理 OP 患者的阴阳平衡或许可成为未来中医药防治 OP 的有效靶点。

基于“肾藏精,精生髓……精足则髓足,髓足者则骨强”理论,中医治疗以补肾强骨为根本治疗大法,依据中医理论“五脏一体观”及方药“君、臣、佐、使”的配伍原则,选用补肾壮骨类方药,通过直接补肾脏或间接补他脏来充肾精,最终使肾强、精充、骨健。补肾壮骨类方药临床上已被广泛用于治疗 OP,且疗效显著^[8-9]。已有研究发现^[10],补肾壮骨类方药可通过上调或下调 ncRNA 的表达来增强 OB 增殖或抑制 OC 分化,最终维持了 OP 骨稳态,从而发挥疗效,但其具体分子机制仍处于探索阶段。本文主要从 OP 的中医病因病机、ncRNAs 的调控机制及补肾壮骨类方药通过调控 ncRNAs 治疗 OP 的分子机制等方面进行总结,以期治疗 OP 药物药效关键靶点的筛选和

中医药防治 OP 提供新思路。

1 OP 的中医渊源

1.1 OP 的病因病机

中医古籍中并无“骨质疏松”这一病名,根据其临床表现归为“骨痿”“骨痹”等范畴^[11]。《素问·痿论》记载:“骨主身之骨髓,肾气热,则腰脊不举,骨枯而髓减,发为骨痿”^[12];《医经精义》曰:“肾藏精,精生髓,髓生骨,故骨者肾之所合也……盖髓者,精之所生也,精足则髓足,髓在骨内,髓足则骨强”^[13],表明肾精亏虚是导致 OP 的根本原因。《素问·太阴阳明论》云:“今脾病不能为胃行其津液,四肢不得禀水谷气,气日以衰,脉道不利,筋骨肌肉,皆无气以生,故不用焉”。《景岳全书·非风》中记载:“筋之缓急与骨之痿弱皆由精血败伤而然”^[14],肝肾为精血之源,骨骼的生长发育和修复依赖于精血的滋养,肝肾亏虚则精血无源,无以生精养骨,致髓枯筋痿,发为骨痿^[15]。表明肝脾失调是诱发 OP 的关键因素。此外,《景岳全书》云:“凡人之气血,犹源泉也,盛则流畅,少则壅滞,故气血不虚则不滞,虚则无有不滞者”^[16]。

由上述论述可知,OP 的发生与肾、脾、肝等脏腑及血瘀密切相关,其中以肾精亏虚为本,瘀血痹阻为标。肾精亏虚、脾胃虚弱、肝郁血虚、瘀血阻滞可能是 OP 的主要病因病机,见图 1。

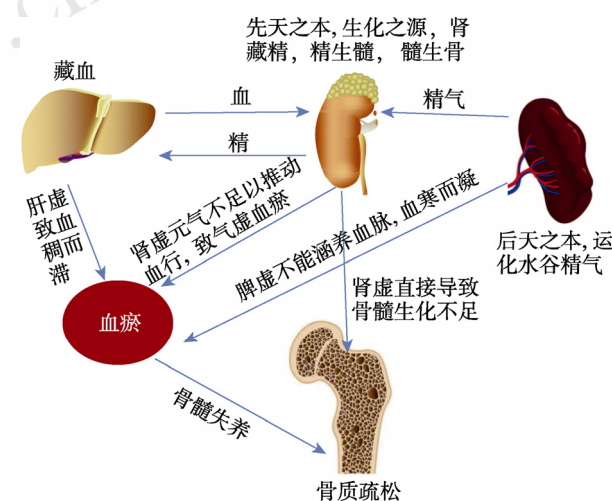


图 1 骨质疏松症的病因病机

Fig. 1 Etiology and pathogenesis of osteoporosis

1.2 骨重建的中医理论

有研究发现,OB-OC 耦联的骨重建机制与中医“阴阳平衡”理论相契合^[17]。袁丽雨等^[18]、赵东峰等^[19]根据“阴成形,主静”与“阳化气,主

动”等特性,将 OB 及其主导的骨形成归属于“阴”,OC 及其主导的骨吸收归属于“阳”。为阴的 OB 与为阳的 OC 通过调控机体的骨骼发育来维持骨重建^[20]。

机体骨重建过程一方面是通过 OB 促使破骨前体细胞分化来激活 OC,导致骨吸收形成陷窝;另一方面是通过 OC 的凋亡和 OB 的聚集及分化在骨陷窝内形成新骨;而形成的类骨质则可以通过矿化来修复骨吸收^[21],最终通过 OB-OC 细胞间的协调耦联,进行周期性的骨重建,从而维持机体的骨稳态,使机体处于类似于“阴阳”平衡的状态^[17],见图 2。

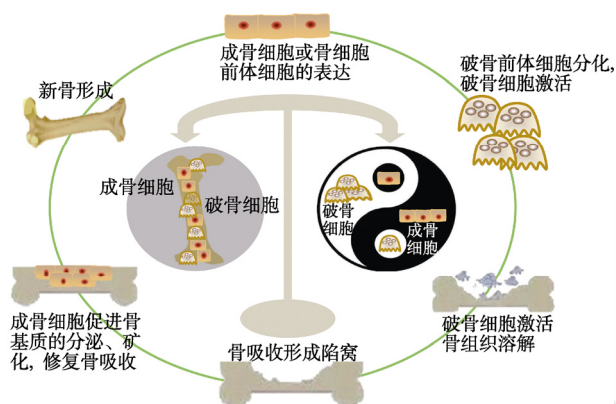


图 2 骨重建-阴阳动态平衡机制

Fig. 2 Bone remodeling-Yin-Yang dynamic balance mechanism

已有相关研究证实 OP 发病的根本机制为骨重建失衡,防治的关键靶标为维持 OB-OC 的“阴阳”耦联平衡,这一平衡与中医“阴平阳秘”的防治观相呼应,可能是治疗 OP 的机理之一^[22-23]。基于中医的“阴阳平衡”理论来解释西医的“骨稳态”,可能为未来运用中西汇通医学来阐述骨骼系统的生理、病理变化提供一个全新的认识角度。

2 ncRNAs 调控 OP 骨重建的分子机制

骨重建是机体骨代谢参与下的一种生理行为,主要由生物力学环境的改变而引发机体的骨形态和骨密度不断发生变化^[24]。骨吸收和骨形成是参与机体骨重建的 2 个重要阶段。这 2 个阶段的动态平衡对机体在维持骨量和全身矿物质方面起着非常重要的调节作用。而骨重建过程中骨吸收和骨形成之间的动态失衡则主要由微重力环境对骨进行机械刺激所诱发,增强了 OC 骨吸收陷窝的形成,OC 成熟和活性相关的基因表达增加,骨吸收能力增强,导致骨丢失^[25-26],此外,在微重力环境中具有成骨功能的细胞数量明显减少,成骨

分化受到抑制。也有研究证实,ncRNA 也同样参与骨重建的各个阶段,如在微重力环境下众多 miRNAs,如 miR-214 等,可以通过其靶基因调控 OB 的功能^[27];而 LncRNAs,如 LncRNA ODSM 等在微重力环境中可通过竞争结合不同的 miRNAs 调控成骨分化,用于治疗微重力失衡导致的 OP 等疾病^[28]。说明 ncRNA 通过调控机体 OB 增殖与 OC 分化来维持骨吸收和骨形成之间的动态平衡,从而维持骨稳态。

2.1 LncRNA 调控 OP 骨重建的分子机制

骨重建是机体新骨组织形成与成熟骨组织再吸收的动态过程,骨重建的平衡是重塑骨骼周期,维持骨骼形成、骨量及骨质的关键^[29],这一过程的完成需要 OB 与 OC 的不断演变来维系,而 OB 与 OC 的失衡可能是导致骨重建失衡,从而引发 OP 的重要病理因素。

LncRNA 是一类长度>200 个核苷酸的 ncRNA^[30],虽在非编码转录组中占比最大,但其研究暂处于初级阶段。研究发现,LncRNA 通过直接或与 miRNA 结合的方式调控骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs),增加 OB 相关分子表达,促进 OB 增殖分化^[31-32]。也有研究发现,LncRNA 通过竞争结合 miRNA,抑制 OC 增殖或促进 OC 凋亡,调控骨细胞,调节骨稳态^[33]。

目前,关于 LncRNA 在骨重建中的机制研究主要集中在 OB 方面,而 OC 方面的相关研究较少^[34]。如 Jia 等^[35]在诱导 BMSCs 成骨分化过程中发现,LncRNA LINC00707 通过竞争结合 miR-370-3p,抑制了 miR-370-3p 的表达,上调 BMSCs 中 Runx2 和 OCN 的 mRNA 表达,增强 ALP 活性,促进钙结节的形成,参与并促进了 BMSCs 的成骨分化。此外,在诱导人骨髓间充质干细胞(human bone marrow mesenchymal stem cells, hBMSCs)成骨分化过程中,LncRNA LINC00963 通过直接靶向 miR-760,抑制 miR-760 的表达,上调成骨相关因子 OCN、OPN 和 ETS1 的表达,促进 hBMSCs 的成骨分化^[36]。上述研究证实 LncRNA 通过与 miRNA 竞争结合,增强了 BMSCs 的 OB 分化,维持骨重建平衡,减弱 OP 进展。此外,研究发现,OP 骨组织中 LncRNA KCNQ1OT1 的表达显著降低,miR-128-3p 的表达显著升高,KCNQ1OT1 作为 miR-128-3p 的海绵,通过上调骨保护素活化蛋

白 T 细胞 5 的核因子(NFAT5),抑制了 OC 生成标记物 c-Fos、NFATc1 和 Ctsk 的表达,从而抑制 OC 分化^[37]。另有研究发现,在 OP 患者血浆中,LncRNA GAS5 的表达上调,miR-21 的表达下调,LncRNA GAS5 通过下调 miR-21 的表达增加了 OC 凋亡率,发挥了治疗 OP 的作用^[38]。

由此可知,利用 ncRNA 形成的内源性 RNA 网络,从不同途径参与 OB、OC 的分化调节,最终维持 OB-OC 动态平衡,已被证实对 OP 骨重建的调控发挥着重要作用^[39-40],但其具体机制还需进一步证实,见图 3。

2.2 miRNA 调控 OP 骨重建的分子机制

骨重建是一种动态、持续的塑造和修复过程,维持骨重建主要取决于 OB 参与的新骨形成和 OC 参与的骨吸收过程,两者缺一不可^[41]。研究发现^[42],骨骼系统中,miRNA 通过调节骨细胞的功能在维持骨内环境稳态中发挥关键作用。作为单链 ncRNAs 分子,其参与并介导了许多基因表达的转录后控制协调了 OB、OC 的生理活性^[43]。近年来越来越多的研究证实 miRNAs 失调常引起 OB、OC 的功能受损,且对骨重建具有重要影响^[44]。李冬冬等^[45]发现 miR-214 一方面通过靶向磷酸酶-张力蛋白同源基因(PTEN),使其水平降低,上调 Akt 磷酸化水平,激活 PI3K/Akt/NFATC1 通路,使 OC 特异性标志基因转录调控因子 NFATC1 的表达增加,促进骨髓单核细胞向 OC 分化^[46]。另一方面

研究发现,成纤维细胞生长因子受体 1(FGFR1)也可与 miR-214 靶向结合,通过抑制 miR-214 的表达上调纤维细胞生长因子受体 1,增强其下游细胞外调节蛋白激酶(ERK1/2)的磷酸化和 Runx2 的表达,促进 BMSCs 向 OB 分化^[47]。研究发现,miRNA-106b、miRNA-377 通过靶向 RANKL mRNA 的 3'UTR,下调 RANKL 表达,抑制 OC 分化^[48-49]。而 miRNA125a 直接结合 TRAF6 mRNA 的 3'UTR,抑制 TRAF6 表达,同时下调 NFATc1,降低 OC 分化^[48]。此外,研究发现,miR-146a 是 OB 的负调节因子,敲除 miR-146a 可以抑制骨微环境中 RANKL/PG 和 M-CSF 的表达,降低 OC 活性,增加 OB 表达,减少因雌激素缺乏引起的骨丢失^[50]。miRNA 调控骨质疏松骨重建的分子机制见图 4。

ncRNAs 不仅可以通过靶向调控 OB、OC 分化关键分子表达,还可激活骨代谢相关信号通路,影响成骨、破骨分化,在骨重建及 OP 的发生发展中具有很大的研究价值,未来有望成为 OP 的一种新型检测标志物用于 OP 的诊治。

3 补肾壮骨类中医药调控 ncRNA 干预 OP 骨重建的治疗机制

近年来,研究证实中药具有多成分、多靶点、整体调节等优势,但在点对点的调控方面存在着一定的缺陷,在发挥疗效的同时也存在着一定的不良反应^[51-52]。随着中医药现代化与“精准医学”的发展,使中医药学研究与生物信息技术发生了

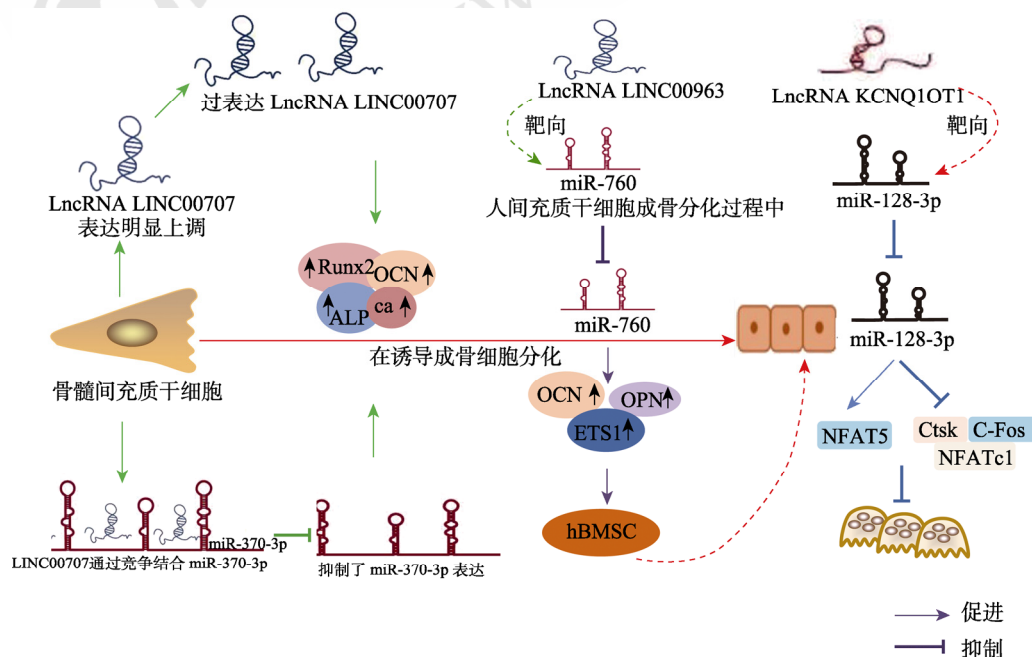


图 3 ncRNAs 调控骨质疏松骨重建的分子机制

Fig. 3 Molecular mechanisms of ncRNAs regulating bone remodeling in osteoporosis

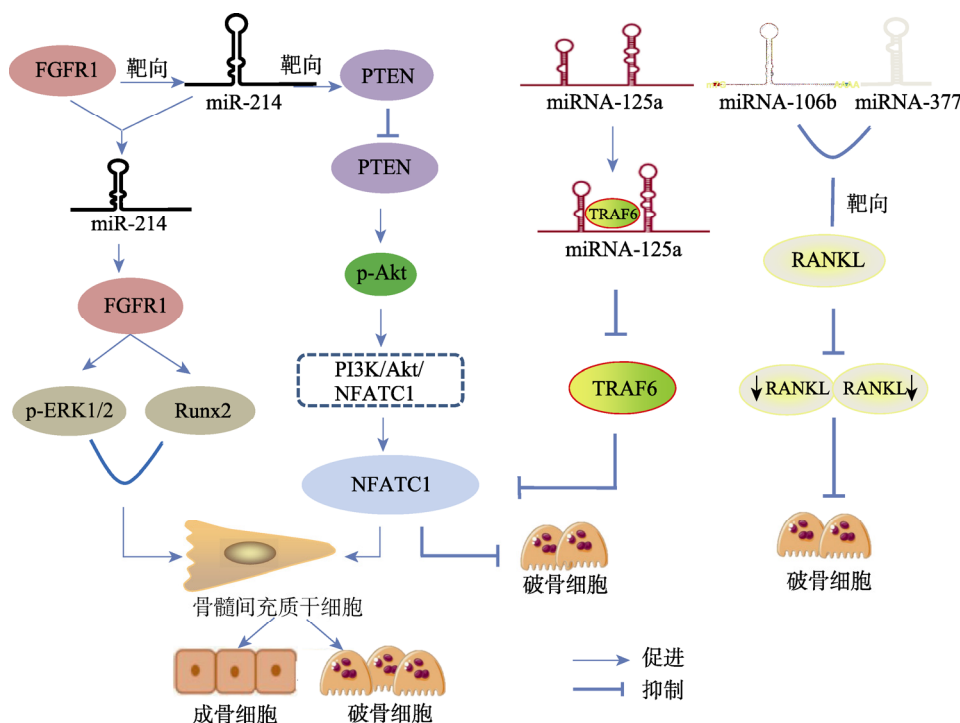


图4 miRNA 调控骨质疏松骨重建的分子机制

Fig. 4 Molecular mechanisms of miRNA regulation of bone remodeling in osteoporosis

交汇、融合^[53]。研究发现，从单味中药中分离出的具有一定分子式和空间结构的活性物质—中药单体，相较于单味中药，它兼有中药与化药的双重优势，即更直接、质量可控、不良反应小、治疗机制明确，且中药单体的研究已成为实现中药现代化的重要途径^[54-55]。此外，ncRNA 对 OP 的防治是从分子层面上进行的机制研究，选用中药单体与 ncRNA 衔接，可以实现疗效最大化。因此，在 OP 的治疗研究中，相较于单味中药，研究者更偏向于中药单体的研究。

而 OP 的发生机制主要为机体 OC 介导的骨吸收大于 OB 介导的骨形成，导致机体骨稳态失衡。中医认为“肾藏精，主骨，生髓”，OP 的发生主要为肾虚精亏髓减，导致骨枯。因此，OP 发病的主要病机为肾精亏虚，对应治法为补肾壮骨。而研究发现^[56-57]补肾壮骨类中药单体及复方其主要功效为促骨形成，且发现其发挥治疗 OP 的作用也主要是通过调控成骨相关蛋白、基因及信号通路的表达，促进 OB 增殖分化来实现的，在 OC 的增殖与分化方面鲜有研究。因此，补肾壮骨类中药单体及复方通过调控 ncRNA，发挥治疗 OP 的作用主要是从 OB 介导的骨形成方面进行研究。基于此，本文主要总结中药单体及复方通过调控 ncRNA 对 OB

增殖、分化的影响。

3.1 补肾壮骨类中药单体调控 LncRNA 对 OB 增殖与分化的调控

淫羊藿是中医学中常用的补益中药，临床主要用于肾虚衰、筋骨痿软等病症的治疗^[58]。近年来，淫羊藿活性成分淫羊藿苷(icariin, ICA)的药理作用机制研究备受关注。

张顺聪等^[59]研究发现，发生 OP 时 LncRNA-NR1 的表达升高，引起成骨基因的表达降低及破骨基因表达增多，通过实验进一步发现使用 ICA 干预后抑制了 LncRNA-ANR1 的表达并提升了成骨相关因子 ALP、Runx2、Osterix、OPG、OCN、TGF- β 1 的表达。由此可知 ICA 发挥治疗 OP 的作用主要可能是通过抑制 LncRNA-NR1 的表达，进而抑制了 OC 分化，促进 OB 增殖。另有研究证实，LncRNA MEG3 在调控 BMSCs 的分化过程中起重要作用^[60-61]；LncRNA H19 是 OB 增殖分化的关键调节因子之一^[62-63]；而 LncRNA DANCR 不仅可以诱导 TNF- α 和 IL-6 的表达促进骨吸收^[64]，还可以调节 OB 分化，是 OB 分化的重要介质^[65]。张峰等^[66]发现，用 ICA 干预 OP 兔后，其股骨和椎骨中 LncRNA MEG3、LncRNA H19、LncRNA DANCR 和 Runx2 的 mRNA 水平明显上调，骨组织中

BMP-2 蛋白表达明显升高,表明 ICA 可能通过作用于 LncRNA,在参与 BMSCs 分化的过程中介导了骨吸收,调节了骨分化,最终在协调 OB 与 OC 的动态平衡中达到了防治 OP 的效果。孙海涛^[67]通过实验发现,卵巢摘除模型大鼠的 BMSCs 中成骨相关因子 Runx2、Collal、OCN 的 mRNA、LncRNA TIM3 表达下降,miR-214 表达增加。加入 ICA 后发现 Runx2、OCN 等成骨相关蛋白、LncRNA TIM3 的表达明显上调,miR-214 的表达明显下降。经实验进一步发现,过表达 LncRNA TIM3 可以促进卵巢摘除模型大鼠 BMSCs 的成骨分化,提升成骨相关因子 Runx2、Collal、OCN 的 mRNA 的表达水平,干扰 LncRNA TIM3 可使成骨相关的表达量显著下调,而转染 miR-214 后成骨相关蛋白的表达量显著上调,表明 LncRNA TIM3 通过吸附 miR-214 的表达促进成骨分化。由此可知 ICA 治疗绝经后骨质疏松症的机制可能是通过抑制 miR-214 的表达来上调 LncRNA TIM3 及成骨相关基因表达,进而促进 BMSCs 的成骨分化。miR-214 可能是 OP 发生的关键因子之一,敲除 miR-214 可作为 OP 防治的一个潜在靶点。另一方面 LncRNA TIM3 作为治疗 OP 的一个新靶标,其与 ICA 的具体作用机制未明,还需进一步研究。

补骨脂始载于《开宝本草》^[68],是中国的补肾中药之一,具有温肾助阳、纳气平喘、温脾止泻等功效,补骨脂素是其主要成分之一。现代药理学研究显示,补骨脂素具有抗 OP 的作用^[69],但具体机制未明。

同时,多项研究^[70-72]也证实补骨脂素不仅通过调控 Wnt/ β -catenin 及 BMP/Smad 信号通路来诱导 BMSCs 成骨定向分化,还可通过上调 β -catenin、Runx2 基因表达来促进成骨形成。前期研究还证实,多种 LncRNA 在 BMSCs 的成骨分化及增殖方面也发挥重要调节作用,进而诱发各类骨骼代谢性疾病。为了进一步验证补骨脂素的成骨作用机

制是否与调控 LncRNA 有关,杨锋等^[73]经过实验发现在补骨脂诱导 BMSCs 成骨过程中有 446 个差异表达的 LncRNA,其中有 5 个 LncRNA 显著上调,4 个 LncRNA 显著下调。在此过程中其上调与下调的 LncRNA 具体通过什么机制影响成骨分化,目前研究尚未表明。由此可知补骨脂素在促使 BMSCs 成骨过程中 LncRNA 是一个的潜在靶点。但补骨脂素具体是通过上调或下调哪一种 LncRNA 的表达来参与骨代谢过程,还是通过上调或下调哪一种 LncRNA 的靶向分子来参与骨代谢过程,目前均未见相关报道,这或许是补肾壮骨类药物补骨脂素下一步研究的重点,见表 1。

3.2 补肾壮骨类中医药调控 miRNA 对 OB 增殖与分化的调控

3.2.1 补肾壮骨类中药单体调控 miRNA 对 OB 增殖与分化的调控 大量研究发现^[74],ICA 通过改善骨组织形态、生物力学及骨骼各项生化指标调节骨代谢异常和增加 OPG 和 BGP 浓度,上调 β -catenin、LRP6 及 Runx2 的 mRNA 表达和下调 GSK-3 β 的 mRNA 表达来诱导成骨分化,从而达到防治 OP 的作用。杨傲飞^[75]通过实验发现,单纯的 miR-122-5p 能够通过靶向激活 Runx2 和 CXCR4 信号轴上 BMP-2、Osterix、SDF-1 α 、CXCR4 等分子表达来促进成骨及迁移相关因子的表达,而 ICA 又进一步促进了 miR-122-5p 的这种靶向激活作用和促成骨作用,由此说明 miR-122-5p 在促进 BMSCs 成骨分化和迁移的过程中,ICA 发挥了促进作用。

异补骨脂素作为补骨脂的主要成分之一,是中医药防治 OP 的研究热点^[76]。郭招娣^[77]通过实验发现,BMSCs 来源的外泌体中的 circ-8604 通过与 OB 前体细胞(MC3T3-E1)共培养,使成骨分化相关因子 ALP、OPG、BMP2、Runx2 等的表达量上调,且预测其靶点 miRNA 为 miR-26b-3p。经实验进一步发现,miR-26b-3p 的靶基因为雌激素受体 α (ER α)、GDF11、TGFB β 1,且经实验初步验证

表 1 肾壮骨类中药单体调控 LncRNA 对 OB 增殖与分化的调控

Tab. 1 Regulation of LncRNA on OB proliferation and differentiation by monomers of Chinese herbs for tonifying kidney and strengthening bone

单体	靶标 LncRNA	作用机制	分子功能	参考文献
淫羊藿苷	抑制 LncRNA-ANRI	提升成骨相关因子 ALP、Runx2、Osterix、OPG、OCN 等的表达	协调 OB 与 OC 的动态平衡	[59]
淫羊藿苷	上调 LncRNA MEG3、H19、DANCR 和 Runx2	参与 BMSCs 分化过程,调节骨分化	协调 OB 与 OC 的动态平衡	[66]
淫羊藿苷	抑制 miR-214 上调 LncRNA TIM3	提升成骨相关因子 Runx2、Collal、OCN 等的 mRNA 水平	促进 BMSCs 的成骨分化	[67]
补骨脂素	上调或下调 LncRNA	介导 Wnt/ β -catenin 及 BMP/Smad 信号通路	诱导 BMSCs 成骨分化	[70-72]

这 3 个靶基因在成骨分化期间均上调,推测异补骨脂素可能是通过外泌体中的 circ-8604 靶向调控 miR-26b-3p/ER α 的表达来促进 MC3T3-E1 的分化,进而进一步通过促进 OB 增殖来防治 OP。由此可知,ICA 和异补骨脂素治疗 OP 的主要机制一方面可能通过直接上调成骨相关基因 *OPG*、*Runx2* 等的表达与下调抑制成骨分化基因 *GSK-3 β* 等的表达,促进 BMSCs 的成骨分化。另一方面,通过靶向调节 miRNA 的表达,间接调控成骨基因,参与 BMSCs 的成骨分化过程,进而达到治疗 OP 的目的。但 ICA 和异补骨脂素治疗 OP 发挥疗效的确切分子调控机制尚需深入研究。

3.2.2 补肾壮骨类中药复方调控 miRNA 对 OB 增殖与分化的调控 补肾活血汤出自《伤科大成》,具有补益肝肾、强筋壮骨等功效。相关研究表明^[78],补肾活血汤的 4 种有效提取物均能促进大鼠 BMSCs 的体外迁移。胡流超^[79]通过实验发现,miR-539 的表达与 BMSCs 迁移呈负相关,而经补肾活血汤的石油醚提取物处理 BMSCs 后可以使 miR-539 的表达下降,表明石油醚提取物可以通过抑制 miR-539 的表达而促进 BMSCs 的迁移。此外发现 *Wnt5a* 基因的 3'UTR 含有 1 个 miR-539 的结合位点,过表达 miR-539 后,使 *Wnt5a* 蛋白和 mRNA 表达降低,BMSCs 迁移数目下降,由此可知,补肾活血汤治疗 OP 的机理可能是其有效成分石油醚提取物通过下调 miR-539 的表达及上调 *Wnt5a* 蛋白的表达来促进 BMSCs 迁移,进一步使 BMSCs 定向分化为 OB^[80]。

仙灵骨葆胶囊具有滋补肝肾、强筋壮骨、活血通络等功效,能显著改善 OP 患者的临床症状,是治疗 OP 的首选方药^[81]。临床研究显示 jumonji 结构域蛋白 3(jumonji domain-containing protein 3, JMJD3)在 OP 患者骨组织中的表达显著低于正常骨组织,而 JMJD3 的表达水平与 *Runx2* 和 BMD

呈正相关^[82]。研究发现,在 OP 患者的外周血中,高表达的 miR-100-5p 与 JMJD3 mRNA 的 3'UTR 有靶向结合位点。实验发现,仙灵骨葆胶囊可以显著抑制 miR-100-5p 在 MC3T3-E1 中的表达,而 miR-100-5p 的过表达能抑制 JMJD3 的表达,当这个结合位点发生突变时,miR-100-5p 丧失对 JMJD3 表达的抑制。同时 miR-100-5p 转染模拟物能抑制仙灵骨葆胶囊对 MC3T3-E1 的促成骨分化作用。表明仙灵骨葆胶囊对 JMJD3/RUNX2 通路的激活作用是通过抑制 miR-100-5p 的表达来实现的,而进一步达到促使 OB 分化的目的,从而来改善 OP。

温肾通络止痛方具有温肾助阳、荣骨通络之功。王礼宁^[83]通过实验发现温肾通络止痛方干预脂肪细胞来源外泌体中 miR-122-5p 的表达,并使其显著上调。为进一步研究 miR-122-5p 对 BMSCs 成骨分化的影响,分别对转染了 miR-122-5p mimic、miR-122-5p inhibitor 的 BMSCs 进行成骨诱导,发现 miR-122-5p mimic 可以提高成骨分化标志基因 *Runx2* 和 *Osterix* 的表达,使 OB 分化增强,而 miR-122-5p inhibitor 的结果与 miR-122-5p mimic 相反。表明温肾通络止痛方治疗 OP 的机制之一可能是通过增强 miR-122-5p 的表达,促进 BMSC 的成骨分化。

上述研究结果均说明,补肾壮骨类方药通过上调或下调 miRNA 的表达来促进成骨相关基因 *Runx2* 和 *Osterix* 的表达或激活成骨相关信号通路 JMJD3/RUNX2,进而促进 BMSC 的成骨分化,这可能是这类中药发挥抗 OP 作用的关键机制。但是,由于 miRNA 的靶向调控机制存在多靶点、多网络的特点,加之中药复方抗 OP 的机制也存在的多层次、多效应等特点,中药复方抗 OP 的 miRNA 靶向调控靶点及机制尚需深入研究。补肾壮骨类中药单体、复方调控 miRNA 对 OB 增殖与分化的调控见表 2。

表 2 补肾壮骨类中药单体、复方调控 miRNA 对 OB 增殖与分化的调控

Tab. 2 Regulation of OB proliferation and differentiation by monomers and compound prescriptions of Chinese herbs for tonifying kidney and strengthening bone

单体/复方	功效	靶标 miRNA	作用机制	分子功能	参考文献
淫羊藿苷	补肝肾 强筋骨	上调 miR-122-5p	激活 <i>Runx2</i> 和 CXCR4 信号轴上 <i>Osterix</i> 的表达	促进 BMP-2、促进 BMSCs 成骨分化	[75]
异补骨脂素	温肾助阳 纳气平喘 温脾止泻	上调 miR-26b-3p/ER α	促进 OB 前体细胞 MC3T3-E1 分化	促进 OB 分化	[77]
补肾活血汤	补益肝肾 强筋壮骨	抑制 miR-539	激活 <i>Wnt5a</i> 信号通路	促进 OB 分化	[79-80]
仙灵骨葆胶囊	滋补肝肾 强筋壮骨 活血通络	抑制 miR-100-5p	激活 JMJD3/RUNX2 通路	促进 OB 分化	[82]
温肾通络止痛方	温肾助阳 荣骨通络	上调 miR-122-5p	提高成骨分化基因 <i>Runx2</i> 和 <i>Osterix</i> 的表达	促进 OB 分化	[83]

4 总结与展望

综上所述, LncRNA、miRNA 作为 OP 机制研究中的热点, 在 OP 发生发展过程中发挥了重要作用。补肾壮骨类方药通过与 LncRNA、miRNA 的交互作用, 共同介导了 OP 复杂的病理生理过程。尤其在调控骨重建方面, 这些 ncRNA(LncRNA、miRNA)一方面通过靶向不同的基因、蛋白及信号通路来调节 OB 与 OC 之间的平衡, 在维持机体骨稳态的同时也调控了人体的阴阳平衡, 基于此, 推测这一平衡的维持可能与 LncRNA 与 miRNA 自身具有的阴阳属性相关, 即将具有促进 OC、OB 增殖分化功能的 LncRNA、miRNA 分别归属于阳与阴, 使得 LncRNA 与 miRNA 在调控骨稳态的阴阳平衡中孕育阴阳。另一方面, 补肾壮骨类方药在 OP 中主要通过补肾活血来发挥疗效, 由此推测将补肾归属阴, 活血归属于阳, 基于中医理论“瘀血不去, 新血不生”, 开始加大活血药的剂量, 随后逐渐减量, 使补阴的同时加强补阳, 最终达到“量、效、体”的阴阳平衡, 而这种平衡又恰好可能是通过这些 ncRNA(LncRNA、miRNA)的靶向调控成骨分化蛋白以维持 OP 的骨稳态来实现的。此外, 越来越多的研究已发现^[84-86], LncRNA、miRNA 等 ncRNAs 不但可以单独作用于某些靶点、通路来发挥疗效, 还可通过形成网络环来整体显效, 如 LncRNA 能够作为竞争性 RNA, 通过海绵吸附 miRNAs, 形成 LncRNA miRNA 网络环来调控 miRNA 下游靶基因的表达, 从而发挥生物学功能。ncRNAs 之间形成的这种网络调控特点既与中医药多靶点、多通路、整体调节的机制相吻合, 又与阴中有阳, 阳中育阴, 阴阳一体观相呼应, 在机制上形成了中西医之间的融合, 顺应了现代医学的发展, 为疾病的防治提供了新的思路。

REFERENCES

[1] KNOWLES H J, ATHANASOU N A. Hypoxia-inducible factor is expressed in giant cell tumour of bone and mediates paracrine effects of hypoxia on monocyte-osteoclast differentiation via induction of VEGF[J]. *J Pathol*, 2008, 215(1): 56-66.

[2] SONG J, AHN C, CHUN C H, et al. A long non-coding RNA, GAS5, plays a critical role in the regulation of miR-21 during osteoarthritis[J]. *J Orthop Res*, 2014, 32(12): 1628-1635.

[3] ZHAO X B, ZHAO D C, GENG B, et al. A novel ceRNA regulatory network involving the long noncoding NEAT1, miRNA-466f-3p and its mRNA target in osteoblast autophagy

and osteoporosis[J]. *J Mol Med*, 2022, 100(11): 1629-1646.

[4] 胡芳科, 张银光. LncRNA 在骨质疏松中对破骨细胞作用的研究进展[J]. *中国老年学杂志*, 2022, 42(19): 4899-4903.

[5] YANG Y, WANG Y J, WANG F, et al. The roles of miRNA, lncRNA and circRNA in the development of osteoporosis[J]. *Biol Res*, 2020, 53(1): 40.

[6] YAO S H, WEI H C, QIN J G, et al. Mogroside V stimulates osteoblast proliferation and differentiation by promoting LncRNA TUG1 expression[J]. *Chin J Tissue Eng Res(中国组织工程研究)*, 2020, 24(26): 4129-4134.

[7] FENG Q, CHENG S Y, YANG R, et al. Puerarin promotes the viability and differentiation of MC3T3-E1 cells by enhancing LC3B-mediated autophagy through downregulation of miR-204[J]. *Exp Ther Med*, 2020, 19(2): 883-890.

[8] 张子龙, 屈威, 马铎, 等. 国医大师刘柏龄从“补肾壮骨”治疗骨质疏松症经验[J]. *时珍国医国药*, 2023, 34(3): 720-722.

[9] SU H, YAN B H, WANG R C, et al. Effect of Bushen Zhuanggu Fang on bone metabolism and bone mineral density in rats with ovariectomized osteoporosis[J]. *Chin J Tissue Eng Res(中国组织工程研究)*, 2023, 27(28): 4507-4512.

[10] TENG J W, BIAN S S, KONG P, et al. Icaritin triggers osteogenic differentiation of bone marrow stem cells by up-regulating miR-335-5p[J]. *Exp Cell Res*, 2022, 414(2): 113085. doi: 10.1016/j.yexcr.2022.113085.

[11] GAO M, TANG A H, CHEN W H, et al. Study on the etiology, pathogenesis, and treatment of primary osteoporosis based on thought of paying importance to Yang[J]. *Chin J Osteoporos(中国骨质疏松杂志)*, 2021, 27(7): 1081-1083, 1087.

[12] LI N, XIE X W, CHEN X. Application of the theory of “kidney governs bone and produces marrow” in the study of osteoporosis[J]. *Chin J Tradit Med Traumatol Orthop(中国中医骨伤科杂志)*, 2011, 19(4): 70-72.

[13] LIANG W Q, ZHONG C, LI Y M. Overview of etiology and pathogenesis and advance in the treatment of osteoporosis in Chinese medicine[J]. *Chin J Osteoporos(中国骨质疏松杂志)*, 2020, 26(1): 135-139.

[14] LI J G, XIE X W, LI N, et al. Etiology and pathogenesis of postmenopausal osteoporosis based on the theory of “liver-blood-storing and controlling dispersion”[J]. *Chin J Basic Med Tradit Chin Med(中国中医基础医学杂志)*, 2019, 25(9): 1203-1206.

[15] ZHAO J R, XUE X, DENG Q, et al. Discussion on the etiology, pathogenesis and treatment of postmenopausal osteoporosis based on the theory of “liver and kidney homology”[J]. *Lishizhen Med Mater Med Res(时珍国医国药)*, 2018, 29(9): 2220-2222.

[16] SHI X L, LIANG B C, LI C W. Pathomechanism of primary osteoporosis based on the theory of stasis caused by deficiency[J]. *Chin J Integr Tradit West Med(中国中西医结合杂志)*, 2019, 39(1): 111-114.

[17] SHEN X F, LIANG G Q. Mechanism research strategies of anti-osteoporosis of Erxian decoction based on “Balancing Yin

- and Yang" in traditional Chinese medicine of "Xianlingpi-Zhimu"[J]. Chin J Osteoporos(中国骨质疏松杂志), 2020, 26(10): 1542-1545, 1560.
- [18] YUAN L L, LIU M J, TAO L, et al. Interpretation and significance of "osteogenesis-osteoclast" cell Yin-Yang theory[J]. Chin J Basic Med Tradit Chin Med(中国中医基础医学杂志), 2019, 25(6): 733-734, 771.
- [19] ZHAO D F, XING Q J, WANG J, et al. Yin-Yang property of osteoblast and osteoclast in bone homeostasis[J]. Shanghai J Tradit Chin Med(上海中医药杂志), 2015, 49(4): 5-10.
- [20] ZHONG J C, XIE X W, LI D P, et al. Research progress of Bushen prescription in treating osteoporosis[J]. Chin J Tradit Med Traumatol Orthop(中国中医骨伤科杂志), 2021, 29(3): 85-88.
- [21] ZHENG X, LEE S K, CHUN O K. Soy isoflavones and osteoporotic bone loss: A review with an emphasis on modulation of bone remodeling[J]. J Med Food, 2016, 19(1): 1-14.
- [22] GUO X, REN Y L. Study on the mechanism of traditional Chinese medicine intervention on energy metabolism to prevent and treat postmenopausal osteoporosis[J]. Mod Tradit Chin Med Mater Med World Sci Technol(世界科学技术-中医药现代化), 2022, 24(4): 1701-1706.
- [23] CHEN Z B, CHEN Z Y, REN Y L. Discussion on the treatment of PMOP by Zuo and You Gui pills of Yin Yang mutual aid based on the theory of Yang growing and Yin developing and Yang killing and Yin hidden[J]. Lishizhen Med Mater Med Res(时珍国医国药), 2021, 32(12): 2959-2961.
- [24] WANG Y X, WANG K, ZHANG S. Research advances in cellular and molecular mechanisms of microgravity regulating bone remodeling[J]. Acad J Chin PLA Med Sch(解放军医学院学报), 2020, 41(11): 1140-1143.
- [25] ONO T, NAKASHIMA T. Recent advances in osteoclast biology[J]. Histochem Cell Biol, 2018, 149(4): 325-341.
- [26] CHATZIRAVDELI V, KATSARAS G N, LAMBROU G I. Gene expression in osteoblasts and osteoclasts under microgravity conditions: A systematic review[J]. Curr Genomics, 2019, 20(3): 184-198.
- [27] ZHANG Y, ZHANG X Z. Research progress on microRNA regulating osteoblast differentiation under microgravity[J]. J Med Biomech(医用生物力学), 2018, 33(3): 285-290.
- [28] WANG Y X, WANG K, ZHANG L J, et al. Targeted overexpression of the long noncoding RNA ODSM can regulate osteoblast function *in vitro* and *in vivo*[J]. Cell Death Dis, 2020, 11(2): 133.
- [29] WANG J W, LI X N, ZHAO Q, et al. Effect of regulating miR-152 on bone biomechanics, bone remodeling balance and Hedgehog signal pathway in osteoporosis rat model[J]. Shaanxi Med J(陕西医学杂志), 2022, 51(8): 944-947.
- [30] XIONG K, DENG J, HUANG W L, et al. Long noncoding RNAs are involved in osteoblast differentiation and osteoclast production[J]. Chin J Tissue Eng Res(中国组织工程研究), 2020, 24(14): 2229-2234.
- [31] CAI G P, XIAO Y, YANG M, et al. Long noncoding RNA *Gm31629* promotes bone regeneration by maintaining bone marrow mesenchymal stem cells activity[J]. PeerJ, 2022(10): e13475.
- [32] YIN J H, ZHENG Z L, ZENG X L, et al. lncRNA MALAT1 mediates osteogenic differentiation of bone mesenchymal stem cells by sponging miR-129-5p[J]. PeerJ, 2022(10): e13355.
- [33] LI X X. LncRNA metastasis-associated lung adenocarcinoma transcript-1 promotes osteogenic differentiation of bone marrow stem cells and inhibits osteoclastic differentiation of *Mø* in osteoporosis via the miR-124-3p/IGF2BP1/Wnt/ β -catenin axis[J]. J Tissue Eng Regen Med, 2022, 16(3): 311-329.
- [34] WEI S P, ZHANG X Z. The role of LncRNA in bone remodeling and skeletal diseases[J]. J Med Biomech(医用生物力学), 2018, 33(6): 572-576.
- [35] JIA B, WANG Z P, SUN X, et al. Long noncoding RNA LINC00707 sponges miR-370-3p to promote osteogenesis of human bone marrow-derived mesenchymal stem cells through upregulating WNT2B[J]. Stem Cell Res Ther, 2019, 10(1): 67.
- [36] REN L R, GUO L M, KOU N N, et al. LncRNA LINC00963 promotes osteogenic differentiation of hBMSCs and alleviates osteoporosis progression by targeting miRNA-760/ETS1 axis[J]. Autoimmunity, 2021, 54(6): 313-325.
- [37] ZHANG H S, CHEN L, WANG Z Y, et al. Long noncoding RNA KCNQ1OT1 inhibits osteoclast differentiation by regulating the miR-128-3p/NFAT5 axis[J]. Aging (Albany NY), 2022, 14(10): 4486-4499.
- [38] CONG C L, TIAN J, GAO T Q, et al. lncRNA GAS5 is upregulated in osteoporosis and downregulates miR-21 to promote apoptosis of osteoclasts[J]. Clin Interv Aging, 2020(15): 1163-1169.
- [39] KO N Y, CHEN L R, CHEN K H. The role of micro RNA and long-non-coding RNA in osteoporosis[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(14): 4886.
- [40] LI Z C, XUE H P, TAN G Q, et al. Effects of miRNAs, lncRNAs and circRNAs on osteoporosis as regulatory factors of bone homeostasis (Review)[J]. Mol Med Rep, 2021, 24(5): 788.
- [41] LIU P, DING Y, YANG Y J. Research progress on non-coding RNA regulating osteoporosis[J]. Drugs & Clin(现代药物与临床), 2021, 36(12): 2702-2706.
- [42] LI Z, CAI Y Q. Advances in exosome miRNAs in bone reconstruction and bone metabolic diseases[J]. Chin J Tissue Eng Res(中国组织工程研究), 2021, 25(29): 4697-4702.
- [43] HE Q. Effect of miR-155 regulated autophagy in osteoclast differentiation[D]. Nanjing: Nanjing University, 2020.
- [44] LIAN J B, STEIN G S, VAN WIJNEN A J, et al. microRNA control of bone formation and homeostasis[J]. Nat Rev Endocrinol, 2012, 8(4): 212-227.
- [45] LI D D, LIAO H B. microRNA-214 is involved in the regulation of bone metabolism[J]. Chin J Tissue Eng Res(中国

组织工程研究), 2021, 25(11): 1779-1784.

- [46] ZHAO C Y, SUN W J, ZHANG P F, et al. miR-214 promotes osteoclastogenesis by targeting Pten/PI3k/Akt pathway[J]. RNA Biol, 2015, 12(3): 343-353.
- [47] YANG L, GE D W, CAO X J, et al. miR-214 attenuates osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells via targeting FGFR1[J]. Cell Physiol Biochem, 2016, 38(2): 809-820.
- [48] JI L, LI X Y, HE S S, et al. Regulation of osteoclast-mediated bone resorption by microRNA[J]. Cell Mol Life Sci, 2022, 79(6): 287.
- [49] LI W, WANG X M, CHANG L, et al. miR-377 inhibits wear particle-induced osteolysis via targeting RANKL[J]. Cell Biol Int, 2019, 43(6): 658-668.
- [50] ZHAO J Y, HUANG M J, ZHANG X D, et al. miR-146a deletion protects from bone loss in OVX mice by suppressing RANKL/OPG and M-CSF in bone microenvironment[J]. J Bone Miner Res, 2019, 34(11): 2149-2161.
- [51] ZHANG J, DONG W T, ZHAO B B, et al. Research progress on the angiogenesis-osteogenesis coupling factor of traditional Chinese medicine in the intervention of osteoporosis[J]. Chin J Osteoporos(中国骨质疏松杂志), 2023, 29(1): 151-156.
- [52] YANG C Q, ZHANG H L, WANG X M, et al. Prevention and treatment of bone-related diseases by regulating macrophages with Chinese medicine[J]. Chin J Tissue Eng Res(中国组织工程研究), 2023, 27(31): 5064-5070.
- [53] XU L, LI W, SUN X H, et al. Development trend of precision medicine in 2022[J]. Chin Bull Life Sci(生命科学), 2023, 35(1): 42-47.
- [54] XU Z H, MAN T J, ZHOU B, et al. Research progress on traditional Chinese medicine monomer active ingredient in treating ischemic stroke[J]. Chin Arch Tradit Chin Med(中华中医药学刊), 2023, 41(8): 154-161.
- [55] REN M H, YANG L X, LIANG Y L, et al. Study progress of chinese medicine monomer regulating AMPK/mTOR pathway mediated autophagy in intervening diabetic nephropathy[J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志), 2023, 29(18): 277-282.
- [56] SU H R, CHENG W Y, YUAN Q H, et al. Effects of Bushen Zhuanggu Granules on expressions of serum GH with IGF-1 and its receptors in bone tissue of ovariectomized rats[J]. Chin J Appl Physiol(中国应用生理学杂志), 2020, 36(6): 605-610.
- [57] YANG B, WANG N, TAN R, et al. Research progress on induction and differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells by traditional Chinese medicine and its monomers[J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2022, 53(24): 7915-7924.
- [58] OUYANG H Z, HE J. Research progress on the quantitative analysis of chemical constituents in *Epimedium* herb and its pharmacokinetics[J]. J Tianjin Univ Tradit Chin Med(天津中医药大学学报), 2019, 38(3): 219-227.
- [59] ZHANG S C. Long non-coding RNA-ANRIL regu *Lates proliferation*, apoptosis and osteogenesis in MSCs and its involvement in osteoporosis[D]. Guangzhou: Guangzhou University of Chinese Medicine, 2018.
- [60] TAM W L, WEINBERG R A. The epigenetics of epithelial-mesenchymal plasticity in cancer[J]. Nat Med, 2013, 19(11): 1438-1449.
- [61] WANG Y, SHANG Y F. Epigenetic control of epithelial-to-mesenchymal transition and cancer metastasis[J]. Exp Cell Res, 2013, 319(2): 160-169.
- [62] LIU C E, YANG Z H, WU J G, et al. Long noncoding RNA H19 interacts with polypyrimidine tract-binding protein 1 to reprogram hepatic lipid homeostasis[J]. Hepatology, 2018, 67(5): 1768-1783.
- [63] HUANG Y, ZHENG Y, JIA L, et al. Long noncoding RNA H19 promotes osteoblast differentiation via TGF- β 1/Smad3/HDAC signaling pathway by deriving miR-675[J]. Stem Cells, 2015, 33(12): 3481-3492.
- [64] TONG X, GU P C, XU S Z, et al. Long non-coding RNA-DANCR in human circulating monocytes: A potential biomarker associated with postmenopausal osteoporosis[J]. Biosci Biotechnol Biochem, 2015, 79(5): 732-737.
- [65] KRETZ M, WEBSTER D E, FLOCKHART R J, et al. Suppression of progenitor differentiation requires the long noncoding RNA ANCR[J]. Genes Dev, 2012, 26(4): 338-343.
- [66] ZHANG F, XU R. Effect of icariin on osteoporosis in rabbits and expression of MEG3, H19 and DANCR in bone tissue[J]. J Shanxi Med Univ(山西医科大学学报), 2019, 50(7): 971-975.
- [67] SUN H T. The mechanism of LncRNA TIM3/miR-214-5p/samd4 in postmenopausal osteoporosis and the intervention effect of icariin[D]. Nanjing: Nanjing University of Chinese Medicine, 2021.
- [68] XU M L, CHEN X H. The mechanism of isopsoralen affecting the proliferation, migration and invasion of laryngeal carcinoma cell Tu686 through LncRNA THOR/miR-153-5p[J]. Chin J Gerontol(中国老年学杂志), 2022, 42(1): 161-166.
- [69] LIU R, YANG X J, LI X, et al. Effects of isopsoralen on bone metabolism in ovariectomized rats[J]. Chin J Osteoporos(中国骨质疏松杂志), 2017, 23(6): 807-811.
- [70] TANG D Z, YANG F, YANG Z, et al. Psoralen stimulates osteoblast differentiation through activation of BMP signaling[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2011, 405(2): 256-261.
- [71] ZHENG W W, LIN P D, MA Y H, et al. Psoralen promotes the expression of cyclin D1 in chondrocytes via the Wnt/ β -catenin signaling pathway[J]. Int J Mol Med, 2017, 40(5): 1377-1384.
- [72] XIAO Y P, ZENG J, JIAO L N, et al. Review for treatment effect and signaling pathway regulation of kidney-tonifying traditional Chinese medicine on osteoporosis[J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2018, 43(1): 21-30.
- [73] YANG F, LI W X, KANG W L, et al. Analysis of the expression profile of LncRNA in the differentiation of osteoblasts by psoralea-induced BMSCs[J]. Chin J

- Osteoporosis(中国骨质疏松杂志), 2021, 27(3): 385-391.
- [74] HUANG D, ZI H. Research progress of Yinyanghuo(Herba Epimedii) and its active ingredients in preventing and treating osteoporosis[J]. J Pract Tradit Chin Intern Med(实用中医内科杂志), 2022, 36(6): 54-57.
- [75] YANG A F. Based on the theory of "the kidney generating marrow and dominating bone" to study the effect and mechanism of ICA regulation of miR-122-5p which from osteoblasts-derived exosomes on osteogenesis and migration of BMSCs[D]. Wuhan: Hubei University of Chinese Medicine, 2020.
- [76] GUAN M Q, ZHOU Z W, YAO B J, et al. Research progress on the prevention and treatment of osteoporosis by Chinese medicine under the guidance of traditional Chinese medicine theories[J]. J Basic Chin Med(中国中医基础医学杂志), 2022, 28(4): 649-653.
- [77] GUO Z D. Osteogenic differentiation of MC3T3-E1 regulated by BMSCs-derived exosomes after isopsoralen intervention[D]. Guangzhou: Guangzhou University of Chinese Medicine, 2019.
- [78] WU Z F. Research on the effect of Bushen Huoxue Decoction in patients with patellar fractures after operation and involved in the molecular mechanism of mesenchymal stem cells migration[D]. Guangzhou: Guangzhou University of Chinese Medicine, 2017.
- [79] HU L C. Experimental study on petroleum ether of Bushen Huoxue Decoction promoting MSCs migration in vitro by targeting Wnt5a with miR-539[D]. Guangzhou: Guangzhou University of Chinese Medicine, 2019.
- [80] HUANG Y Q. Experimental and clinical studies of bushenhuoxue decoction promote healing of distal radius fractures in the elderly[D]. Guangzhou: Guangzhou University of Chinese Medicine, 2015.
- [81] HUSZAR J M, PAYNE C J. *MIR146A* inhibits *JMJD3* expression and osteogenic differentiation in human mesenchymal stem cells[J]. FEBS Lett, 2014, 588(9): 1850-1856.
- [82] AI L. Xianlinggubao capsule promotes osteoblast differentiation through miR-100-5p/JMJD3/RUNX2[D]. Guangzhou: Guangzhou University of Chinese Medicine, 2020.
- [83] WANG L N. Study on the mechanism of Wen Shen Tong Luo Zhi Tong Decoction on anti-osteoporosis by regulating bone-fat balance through adipocyte-derived exosomes[D]. Nanjing: Nanjing University of Chinese Medicine, 2021.
- [84] OUYANG X, DING Y Z, YU L, et al. LncRNA TUG regulates osteogenic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells via miRNA-204/SIRT 1[J]. J Musculoskelet Neuronal Interact, 2022, 22(3): 401-410.
- [85] WANG Z, WEI Y T, ZHU H, et al. LncRNA NDRG1 aggravates osteosarcoma progression and regulates the PI3K/AKT pathway by sponging miR-96-5p[J]. BMC Cancer, 2022, 22(1): 728.
- [86] WANG F, DENG H M, CHEN J M, et al. LncRNA MIAT can regulate the proliferation, apoptosis, and osteogenic differentiation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells by targeting miR-150-5p[J]. Bioengineered, 2022, 13(3): 6343-6352.

收稿日期: 2022-12-13

(本文责编: 沈倩)