

微小核糖核酸在创伤性股骨头坏死早期诊断和治疗中作用的研究进展

石淇允^{1,2} 李无阴^{2△} 张颖² 田涛涛² 谭旭仪³ 陈俊安¹ 李梓宸¹

[关键词] 创伤性股骨头坏死;微小核糖核酸;生物标志物;研究进展

[中图分类号] R681.8 [文献标志码] B [文章编号] 1005-0205(2019)11-0081-04

创伤性股骨头坏死(Trauma-induced Osteonecrosis of the Femoral Head, TIONFH)是髋部创伤后引起的严重并发症,股骨颈骨折是最常见的原因,因此股骨颈骨折后早期筛查和诊断 TIONFH 尤为重要。有研究发现,骨细胞、血管内皮祖细胞和血液流变学等异常改变与 TIONFH 相关,TIONFH 患者体内微小核糖核酸(Micro-Ribonucleic Acid, miRNA)表达谱也呈现出显著特异性改变。表明 miRNA 表达谱改变与 TIONFH 密切相关。因此,部分研究者提出 miRNA 可作为一种新型生物标志物来诊断和治疗 TIONFH。本文将对 miRNA 在 TIONFH 早期诊断和治疗中的作用进行综述。

1 TIONFH 患者血浆中 miRNA 的差异表达

TIONFH 的发生是受许多因素影响的,目前公认的因素^[1,6]是血供不足和坏死区域骨的有效重建模式失衡,仍有较多的因素有待明确。大量研究^[7-9]表明:血液循环中的 miRNA 表达变化与疾病的演变关系密切。因此,应用差异 miRNA 分析 TIONFH 的相关基因是科学可行的,即对股骨颈骨折术后发生 TIONFH 患者及股骨颈骨折术后未发生 TIONFH 患者的血浆 miRNA 进行对比,寻找具有显著异常的 miRNA 再分析其具体机制。如 Wu 等^[10]用芯片对股骨头坏死患者和股骨颈骨折患者血浆样本的 miRNA 表达谱进行检测分析,发现 let-7c, let-7i, miRNA-320e, miRNA-146b-5p 及 miRNA-335-5p 在两组表现差异较大。张颖等^[5]采用通量筛选的方法探讨 TIONFH 患者特异性表达的 miRNA 及其调控的靶基因,共确定了 miRNA-93-5p, let-7i-5p, miRNA-

320a, miRNA-25-3p, miRNA-16-2-3p, miRNA-122-5p, miRNA-4711-3p, miRNA-3191-5p 为 TIONFH 特异表达 miRNA。杨玉宝等^[11]采用基因检测技术对比股骨头坏死组和正常组患者的基因,认为 miRNA-494, miRNA-29a 及 miRNA-486-5p 在两组患者之间存在差异。

2 miRNA 对骨髓间充质干细胞成骨分化过程的调控作用

TIONFH 发生区域骨小梁连续性被破坏、骨细胞凋零,其重要特征就是股骨头区域塌陷^[6]。骨细胞是由骨髓间充质干细胞多次分化而逐渐形成的产物,因此骨髓间充质干细胞在 TIONFH 骨修复中意义大。近年来发现许多 miRNA 通过调控相关因子来参与骨髓间充质干细胞的成骨分化,同时部分研究发现 miRNA 在股骨颈骨折复位内固定术后的是否发生 TIONFH 的患者中存在显著差异^[10]。因此,从骨髓间充质干细胞与 miRNA 的新视角探讨 TIONFH 发病与治疗机制,具有潜在的早期诊断与治疗意义。

Oskowitz 等^[12]消除生成 miRNA 关键的酶 Dicer 和 Drosha 后,骨髓间充质干细胞向成骨分化的能力明显减弱,提示 miRNA 在骨髓间充质干细胞成骨分化过程中是不可或缺的。许啸等^[13]通过实验中证明了 miRNA-210 调控人骨髓间充质干细胞向成骨分化。之后朱超等^[14]分析 135 例患者的血清及临床资料,依据是否发生股骨头坏死分为坏死组和非坏死组,结果显示坏死组血清 miRNA-210, miRNA-23b 表达分别与非坏死组比较显著下调($P < 0.01$),证实了血清 miRNA-210, miRNA-23b 表达可影响股骨颈骨折后是否发生 TIONFH。彭俊等^[15]在细胞实验中发现 miRNA-125b 通过抑制 BMP 信号通路的表达,进而抑制骨髓间充质干细胞的成骨分化。miRNA-93-5p^[16]和 miRNA-100^[17]也被证实通过调控 BMP 信号通路来抑制干细胞向成骨分化。miRNA-30c, miRNA-34, miRNA-133, miRNA-204, miRNA-205, mi-

基金项目:国家自然科学基金面上项目(81874477)

¹ 湖南中医药大学(长沙,410208)

² 河南省洛阳正骨医院(河南省骨科医院)

³ 湖南中医药研究院

△通信作者 E-mail: hnlc_lwy@gmail.com.

RNA-217, miRNA-218, miRNA-338-3p 通过调控 RUNX2/osterix 信号通路来抑制干细胞向成骨分化^[18-21]。MiRNA-30a^[22]通过 Sox9 负性调控骨髓间充质干细胞软骨分化影响骨形成。miRNA-181a^[23], miRNA-210^[24]则通过抑制 TGF- β /activin 通路来促进成骨。miRNA-17-5p^[25], miRNA-21, miRNA-199a^[26]及 miRNA-135^[28]通过靶向抑制 SMAD 信号通路表达来提高骨髓间充质干细胞的成骨分化及增殖。而 miRNA-218, miRNA-26a, miRNA-29a, miRNA-27 及 miRNA-335-5P 均为通过影响骨髓间充质干细胞成骨分化的 Wnt 信号通路,促进成骨分化^[28-30]。这些 miRNA 的表达均能影响骨髓间充质干细胞的成骨分化,同时这些 miRNA 在发生 TIONFH 患者体内不同程度的异常表达,因此可以认为部分 miRNA 的异常表达对 TIONFH 发生的预测与治疗具有积极意义。

3 miRNA 对内皮祖细胞分化过程的调控作用

TIONFH 的发生与股骨头局部血供密切相关,股骨头发生骨折后,可能导致向股骨头供血的血管受损,从而导致缺血性坏死^[31]。而内皮祖细胞是维持血管的稳定如血管修复和新生血管形成的重要来源。在探究股骨头坏死与循环内皮祖细胞数目和功能关系后,提出股骨头缺血性坏死患者循环内皮祖细胞数目和功能均下降,表明股骨头缺血性坏死患者体内的内皮祖细胞的生物学性能改变并最终引起成血管及血管修复能力下降,但并未提出影响内皮祖细胞影响成血管和血管修复的详细调控机制。近年来有研究^[32,33]发现,miRNA 在内皮祖细胞的分化过程中起着调节枢纽作用。

Shu 等^[34]发现 miRNA-107 的表达上调后可通过影响其靶基因 HIF-1 β 部分地抑制骨髓来源的内皮祖细胞向血管内皮细胞的分化。miRNA-34a^[35]可负向调控其靶基因 FOXJ2 的表达,从而促进内皮祖细胞向血管内皮细胞的分化。miRNA-126^[36]通过与靶基因 P13KR2 的作用来调节 P13K/Akt 信号途径的磷酸化水平,最终促进内皮祖细胞的动员、迁移、增殖及分化。miRNA-135^[37]通过调控 HIF-1H 信号通路在缺氧条件下增强内皮管的形成。miRNA-222^[37]可通过调控 Akt 信号通路影响内皮祖细胞的迁移功能。miRNA-125a/b-5p^[38]通过抑制血管内皮细胞中的 ET-1 表达来影响血管生成。miRNA-15 和 miRNA-16^[39]可调控其靶基因 Bcl-2 在内皮细胞中高表达,促进内皮细胞凋亡并抑制新生血管形成。miRNA-130a^[40], miRNA-92a^[41]和 miRNA-155^[42]能够抑制靶基因的表达,从而调控血管生成。由于血供不足为股骨头坏死的重要影响因素之一,而这些 miRNA 在

TIONFH 患者体内异常表达,且被证实能够影响内皮祖细胞的分化。因此,可以将这些 miRNA 作为检测 TIONFH 的重要依据。

4 miRNA 对其他相关因子的调控作用

TIONFH 的发生与许多因素关系密切,如调控凝血因子、炎症因子等也可直接或间接的促进或抑制 TIONFH 的发生和进展。同时,虽然现阶段可以检测出 TIONFH 的异常表达 miRNA,但明确 TIONFH 过程中的特定 miRNA 的调控机制的研究还很有限。miRNA-146^[43]可以作用于 CARD10 来抑制凝血酶 NF-KB 的激活从而影响血流状态。miR-196a/b^[44]的异常表达能通过脂肪细胞因子信号通路影响脂肪生成。miRNA-128-3p^[45]通过抑制 CYP2C9 来改变血液凝聚状态。miRNA-4711-3p 和 miRNA-9 等相关基因虽然在患者体内异常表达,但其作用机制尚不明确。因此,现阶段仍要加强研究对 TIONFH 发生产生影响的 miRNA,筛选出更多精准的 miRNA 作为检测 TIONFH 的依据。

5 总结与展望

综上所述,TIONFH 患者体内确实存在 miRNA 的异常表达,且 miRNA 的非正常表达与骨髓间充质干细胞、内皮祖细胞的异常分化及血液流变学异常变化关系密切。随着分子生物学研究的进一步发展,miRNA 表达谱将会更加明确,因此可以利用 miRNA 更准确的治疗 TIONFH 这种复杂疾病,这意味着在临床中 miRNA 将有望成为复杂性疾病早期诊断与治疗的重要生物标志物。目前仍存在部分问题:1)现阶段 miRNA 与 TIONFH 的研究仍属于探索发展阶段,虽然已经探明了部分 miRNA 的功能与作用,但目前的技术水平有限,仍有大量的相关 miRNA 未被发现,这也在一定程度上限制了 miRNA 在临床中的广泛应用。2)目前的研究大多数仍停留在生物信息学单项分析层面,但一个 miRNA 通常靶向一个或者多个信使 RNA,而一个信使 RNA 也可能由不同的 miRNA 调控,这使对 miRNA 的研究更加复杂化,甚至可能存在相互矛盾的研究结果。3)以目前的研究水平仍无法明确 miRNA 表达的改变是 TIONFH 的原因还是结果,也即 miRNA 作为 TIONFH 早期诊断与治疗的临床生物标志物这一创新领域仍有很长的路要走,需要更广泛的证据支持。

参考文献

- [1] 赵德伟. 成人股骨头坏死临床诊疗指南(2016)[J]. 中华骨科杂志, 2016, 36(15): 945-954.
- [2] 王子华, 赵德伟. 基于显微灌注和三维数字成像的股骨头血供解剖学研究为青壮年股骨颈骨折治疗策略带来的新启示[J]. 中华显微外科杂志, 2017, 40(5): 417-418.

- [3] 徐西林,胡海,张晓峰,等.活骨注射液治疗股骨头坏死的扫描电镜观察[J].中国中医骨伤科杂志,2017,25(2):1-5.
- [4] 曾平,陈金龙,李金溢,等.创伤性股骨头坏死血清差异蛋白质组学的研究[J].中国矫形外科杂志,2019,27(5):453-458.
- [5] 张颖,张蕾蕾,柴玉娜,等.创伤性股骨头坏死中差异 miRNA 的筛选与验证[J].中华创伤骨科杂志,2017,19(11):978-985.
- [6] 巫娟,张峰,郭莉.浅析不同原因所致缺血性坏死股骨头的病理改变及 bFGF 的表达[J].当代医药论坛,2018,16(21):65-67.
- [7] SUN Z,CAO X,ZEBING L,et al. MiR-103 inhibits osteoblast proliferation mainly through suppressing Cav1.2 expression in simulated microgravity[J]. Bone, 2015, 76: 121-128.
- [8] ZHOU G,ZHANG Y,ZENG L,et al. Should thorough debridement be used in fibular allograft with impaction bone grafting to treat femoral head necrosis:a biomechanical evaluation[J]. BMC Musculoskeletal Disorders,2015, 16(1):140.
- [9] HU Z,WANG Y,SUN Z,et al. miRNA-132-3p inhibits osteoblast differentiation by targeting Ep300 in simulated microgravity[J]. Scientific Reports,2015,5(2):18655.
- [10] WU X,ZHANG Y,GUO X,et al. Identification of differentially expressed microRNAs involved in non-traumatic osteonecrosis through microRNA expression profiling[J]. Gene,2015,565(1):22-29.
- [11] 杨玉宝,刘洪亚,阚金庆,等.股骨头坏死患者坏死骨组织中 miRNA 表达谱变化[J].山东医药,2015,55(34):74-75.
- [12] OSKOWITZA Z,LU J,PENFORNIS P,et al. Human multipotent stromal cells from bone marrow and micro RNA:regulation of differentiation and leukemia inhibitory factor expression[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America,2008,105(47):18372-18377.
- [13] 朱超,姜彦峰.股骨头坏死患者血清 miRNA-210,miRNA-23 检测的应用价值[J].现代检验医学杂志,2017,32(4):57-59.
- [14] 彭俊,刘英杰,宗阳,等.miRNA-125b 调控 Runx2/Osx 表达对骨髓间充质干细胞成骨机制的影响[J].东南国防医药,2019,21(2):124-129.
- [15] 张颖,张蕾蕾,孙瑞波,等.补肾活血法对人骨髓间充质干细胞成骨能力的影响及 miR-93-5p 对其的抑制作用[J].中华中医药杂志,2018,33(2):667-671.
- [16] ZENG Y,QU X,LI H,et al. MicroRNA-100 regulates osteogenic differentiation of human adipose-derived mesenchymal stem cells by targeting BMP2[J]. FEBS Letters, 2012,586(16):2375-2381.
- [17] ZHANG Y,XIE R L,GORDON J,et al. Control of mesenchymal lineage progression by MicroRNAs targeting skeletal gene regulators Trps1 and Runx2[J]. Journal of Biological Chemistry,2012,287(3):21926-21935.
- [18] LI Z,HASSAN M Q,VOLINIA S,et al. A microRNA signature for a BMP2-induced osteoblast lineage commitment program[J]. PNAS,2008,105(1):13906-13911.
- [19] 丁永利,陈星,赵明明,等.miR-133a 对骨形态发生蛋白 2 诱导的鼠前成骨细胞分化的影响及其作用机制[J].中医正骨,2014,26(7):3-7.
- [20] 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]. Journal of Cellular Physiology,2014,229(10):1494-1502.
- [21] 王运佳,张宏其,余洪贵,等. MicroRNA-30a 通过 Sox9 调控骨髓间充质干细胞软骨分化的研究[J].中国矫形外科杂志,2018,26(20):69-74.
- [22] BHUSHAN R,GRUNHAGE N,JOHANN S,et al. miR-181a promotes osteoblastic differentiation through repression of TGF- β signaling molecules[J]. The International Journal of Biochemistry & Cell Biology,2013,45(3):696-705.
- [23] MIZUNO Y,TOKUZAWA Y,NINOMIYA Y,et al. miR-210 promotes osteoblastic differentiation through inhibition of AcvR1b[J]. FEBS Letters, 2009, 583(1): 2263-2268.
- [24] JIA J,FENG X,XU W,et al. MiR-17-5p modulates osteoblastic differentiation and cell proliferation by targeting SMAD7 in non-traumatic osteonecrosis[J]. Experimental & Molecular Medicine,2014,46(46):e107.
- [25] LIU Y,LIU G,ZHANG H,et al. MiRNA-199a-5p influences pulmonary artery hypertension via downregulating Smad3[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications,2016,473(4):859-866.
- [27] LI Z,HASSAN M Q,VOLINIA S,et al. A microRNA signature for a BMP2-induced osteoblast lineage commitment program[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2008, 105(37):13906-13911.
- [28] SHI L,FENG L,LIU Y,et al. MicroRNA-218 promotes osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells and accelerates bone fracture healing[J]. Calcified Tissue International,2018,103(3):1-10.
- [29] 孙璇,魏泽全,布文奂,等.聚乙烯亚胺递送 miR-218 及 miR-26a 对骨髓间充质干细胞成骨分化的影响[J].中国组织工程研究,2017,21(25):3964-3970.
- [30] SU X,LIAO L,SHUAI Y,et al. MiR-26a functions oppositely in osteogenic differentiation of BMSCs and ADSCs depending on distinct activation and roles of Wnt and BMP signaling pathway[J]. Cell Death and Disease,2015, 6(8):e1851.
- [31] EHLINGER M,MOSER T,ADAM P,et al. Early predic-

tion of femoral head avascular necrosis following neck fracture[J]. *Orthop Traumatol Surg Res*, 2011, 97(1): 79-88.

- [32] FENG Y, YANG S H, XIAO B J, et al. Decreased in the number and function of circulation endothelial progenitor cells in patients with avascular necrosis of the femoral head. [J]. *Bone*, 2010, 46(1): 32-40.
- [33] ESOUZA C V, HAMEL F G, BIDASEE K, et al. Role of inflammation and insulin resistance in endothelial progenitor cell dysfunction[J]. *Diabetes*, 2011, 60(4): 1286-1294.
- [34] SHU M, JIATIAN C, LIANSHENG W, et al. MicroRNA 107 partly inhibits endothelial progenitor cells differentiation via HIF-1 β [J]. *PLoS One*, 2012, 7(7): e40323.
- [35] CHENG BB, QU MJ, WU LL, et al. MicroRNA-34a targets forkhead box j2 to modulate differentiation of endothelial progenitor cells in response to shear stress[J]. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 2014, 74(1): 4-12.
- [36] ZHANG J, ZHANG Z, ZHANG D Y, et al. MicroRNA 126 inhibits the transition of endothelial progenitor cells to mesenchymal cells via the PI3R2-PI3K/Akt signaling pathway[J]. *PLoS One*, 2013, 8(12): e83294.
- [37] UMEZU T, TADOKORO H, AZUMA K, et al. Exosomal miR-135b shed from hypoxic multiple myeloma cells enhances angiogenesis by targeting factor-inhibiting HIF-1[J]. *Blood*, 2014, 124(25): 3748.
- [38] LI D, YANG P Y, XIONG Q H, et al. MicroRNA-125a/b-5p inhibits endothelin-1 expression in vascular endothelial cells[J]. *Journal of Hypertension*, 2010, 28(8): 1646-

1654.

- [39] PEKARSKY Y, BALATTI V, CROCE C M. BCL2 and miR-15/16: from gene discovery to treatment [J]. *Cell Death & Differentiation*, 2017, 25(1): 25-26.
- [40] LEE S, JUNG Y, CHOI Y, et al. Targeting of Runx3 by miR-130a and miR-495 cooperatively increases cell proliferation and tumor angiogenesis in gastric cancer cells[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(32): 33269-33278.
- [41] 宿云娟, 孙玉聪, 楚海荣, 等. miR-92a 对大鼠骨髓源性内皮祖细胞功能的影响[J]. *中国细胞生物学学报*, 2016, 38(6): 676-681.
- [42] 潘群文, 刘雅静, 何彩霞, 等. miR-155 对缺血性脑卒中小鼠内皮祖细胞功能的调节作用[J]. *广东医学院学报*, 2015, 33(4): 385-388.
- [43] COWAN C, MURALEEDHARAN C K, ODNELL J J, et al. MicroRNA-146 inhibits thrombin-induced NF- κ B activation and subsequent inflammatory responses in human retinal endothelial Cells miR-146 is a negative regulator of NF- κ B[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2014, 55(8): 4944-4951.
- [44] 余华. 骨髓间充质干细胞 miRNA-196a 异常表达与激素性股骨头坏死关联的临床研究[J]. *安徽医药*, 2018, 22(1): 68-71.
- [45] YU D, GEREEN B, MARRONE A, et al. Suppression of CYP2C9 by microRNA hsa-miR-128-3p in human liver cells and association with hepatocellular carcinoma[J]. *Sci Rep*, 2015, 5(5): 8534.

(收稿日期: 2019-05-16)

(上接第 80 页)

- [11] VERSKA J M, ANDERSON P A. Os odontoideum; a case report of one identical twin[J]. *Spine*, 1997, 22(6): 706-709.
- [12] WUDBHAV N S, SANKAR W N, BRIAN P D, et al. Os odontoideum revisited; the case for a multifactorial etiology[J]. *Spine*, 2006, 31(9): 979-984.
- [13] WANG S, WANG C. Acquired os odontoideum; a case report and literature review[J]. *Childs Nerv Syst*, 2012, 28(2): 315-319.
- [14] DUCKER T B. Os odontoideum[J]. *J Spinal Disord*, 1993, 6(4): 364-369.
- [15] 高方友, 王曲, 刘窗溪, 等. 个体化 3D 打印模型辅助后路螺钉内固定治疗颅颈交界区畸形[J]. *中华神经外科杂志*, 2013, 29(9): 896-901.
- [16] HENSINGER R N. Osseous anomalies of the craniovertebral junction[J]. *Spine*, 1986, 11(4): 323-333.
- [17] 肖嵩华, 毛克亚, 王岩, 等. 先天性上颈椎畸形的诊断与治

疗分析[J]. *中国矫形外科杂志*, 2009, 17(7): 508-511.

- [18] CHANG H, PARK J B, KIM K W, et al. Retro-dental reactive lesions related to development of myelopathy in patients with atlantoaxial instability secondary to os odontoideum[J]. *Spine*, 2000, 25(6): 2777-2783.
- [19] DAI L Y, YUAN W, NI B, et al. Os odontoideum; etiology, diagnosis, and management[J]. *Surg Neurol*, 2000, 53(2): 106-109.
- [20] FIELDING J W, HENSINGER R N, HAWKINS R J. Os odontoideum[J]. *J Bone Joint Surg Am*, 1980, 62(3): 376-383.
- [21] KLIMO P JR, KAN P, RAO G, et al. Os odontoideum: presentation, diagnosis, and treatment in a series of 78 patients[J]. *J Neurosurg Spine*, 2008, 9(4): 332-342.
- [22] 倪斌, 贾连顺, 包聚良, 等. 齿突游离小骨的诊断及其外科治疗[J]. *第二军医大学学报*, 1997, 18(6): 525-527.

(收稿日期: 2019-06-18)