

- Med, 2014, 34(4):1087-1093.
- [14] STEIN M A, LOHMANN C, SCHAEFER N, et al. SIRT1 decreases Lox-1 mediated foam cell formation in atherogenesis[J]. Circulation, 2009, 120(18):S1097.
- [15] ZENG H T, FU Y C, YU W, et al. SIRT1 prevents atherosclerosis via liver-X receptor and NF- κ B signaling in a U937 cell model[J]. Mol Med Rep, 2013, 8(1):23-28.
- [16] ZHANG L, CHEN Y L, YANG X X, et al. MEK1/2 inhibitors activate macrophage ABCG1 expression and reverse cholesterol transport An anti-atherogenic function of ERK1/2 inhibition[J]. Biochim Biophys Acta, 2016, 1861(9):1180-1191.
- [17] LUAN Z X, CHASE A J, NEWBY A C. Statins inhibit secretion of metalloproteinases-1, -2, -3, and -9 from vascular smooth muscle cells and macrophages[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2003, 23(5):769-775.
- [18] ZHANG M J, ZHOU Y, CHEN L, et al. SIRT1 improves VSMC functions in atherosclerosis[J]. Prog Biophys Mol Biol, 2016, 121(1):11-15.
- [19] GORENNE I, KUMAR S, GRAY K, et al. Vascular smooth muscle cell sirtuin 1 protects against DNA damage and inhibits atherosclerosis[J]. Circulation, 2013, 127(3):386-396.
- [20] BEDI O, DHAWAN V, SHARMA P L, et al. Pleiotropic effects of statins: new therapeutic targets in drug design • 综述 • doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2018.06.037
- [J]. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol, 2016, 389(7):695-712.
- [21] 曹娜, 葛力其, 程明月, 等. 阿托伐他汀通过 SIRT1/NADPH 氧化酶对抗高糖诱导的人脐静脉内皮细胞的氧化损伤作用[J]. 中国循环杂志, 2014, 29(12):1000-1004.
- [22] 雷军平, 张建君, 古小松, 等. 辛伐他汀通过上调 sirt1 抵抗氧化低密度脂蛋白诱导的内皮细胞衰老[J]. 现代生物医学进展, 2013, 13(20):3840-3844.
- [23] DU G, SONG Y L, ZHANG T, et al. Simvastatin attenuates TNF- α induced apoptosis in endothelial progenitor cells via the upregulation of SIRT1[J]. Int J Mol Med, 2014, 34(1):177-182.
- [24] OTA H, ETO M, KANO M R, et al. Induction of endothelial nitric oxide synthase, SIRT1, and catalase by statins inhibits endothelial senescence through the Akt pathway[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2010, 30(11):2205-2211.
- [25] TABUCHI T, SATOH M, ITOH T, et al. MicroRNA-34a regulates the longevity-associated protein SIRT1 in coronary artery disease: effect of statins on SIRT1 and microRNA-34a expression[J]. Clin Sci, 2012, 123(3):161-171.

(收稿日期:2017-08-20 修回日期:2017-11-11)

微小 RNA 经 Wnt 通路调控成骨分化及其力学响应的研究进展*

鄢志雄 综述, 汪洋, 郭勇 Δ 审校

(桂林医学院生物技术学院, 广西桂林 541004)

[关键词] 微小 RNA; Wnt 信号通路; 干细胞; 成骨分化; 力学载荷

[中图分类号] R318.01

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2018)06-0832-04

微小 RNA(miRNA)是一类长度约 22 nt 的内源性非编码 RNA,主要通过识别靶基因 mRNA 和靶基因 mRNA 的非编码区碱基配对,引导沉默复合体降解 mRNA 或阻碍其翻译,在转录后水平负调控基因的表达^[1]。miRNA 在干细胞分化、增殖和新陈代谢中,起着关键调节作用^[2]。Wnt 信号通路是一个蛋白质相互作用的复杂网络,为生物生长发育所必需^[3-4]。Wnt 信号传导路径较多,据信号转导途径的不同,将 Wnt 信号通路分为经由 β -catenin 的经典 Wnt/ β -catenin 信号通路、调控细胞平面极性的 Wnt/PCP(planner cell polarity pathway)信号通路和调控细胞内钙信号的 Wnt/ Ca^{2+} 信号通路^[3]。后两种被称为非经典 Wnt 信号通路。近年来,研究证明 Wnt 信号通路在干细胞的成骨分化和骨量维持上起着重要作用^[4]。

力学载荷是控制骨重建的一个重要因素,适量的力学载荷能保持骨形态和功能的稳定^[5]。有报道显示机械刺激能通过 Wnt 信号通路途径影响干细胞的成骨分化^[6-7]。近年来大量研

究都集中在机械应力刺激下干细胞成骨分化的分子机制方向^[8-10]。然而,力学转导的确切机制尚未研究清楚。Wnt 信号通路可能在机械刺激下的干细胞成骨分化信号传导过程中有重要地位,而与 Wnt 信号通路相关的 miRNA 也具有巨大的研究价值。本文就 miRNA 通过 Wnt 信号通路调控成骨分化的分子机制及力学载荷对此过程的影响方面的研究现状及新进展做一综述。

1 miRNA 在干细胞成骨分化中的调控作用

干细胞是一种具有多向分化潜能的细胞,其成骨分化是众多基因程序性表达及精细调控的结果。miRNA 作为一种转录后调控因子,它通过调节靶基因 mRNA 的表达,来调控分化过程中多种相关因子和受体,从而完成对干细胞成骨分化的精确调控。近年来大量研究表明,miRNAs 对成骨分化上游信号(如骨形态发生蛋白,即 bone morphogenetic protein, BMP)、成骨分化重要信号通路(如 Wnt 信号通路)及成骨分化下游标志

* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(11372351;31660261)。
 Δ 通信作者, E-mail: guoyong74@163.com。

作者简介:鄢志雄(1990-),在读硕士,主要从事骨生物力学和分子医学的研究。

性基因(如 Runt 相关转录因子 2, Runx2)等都有调控作用^[11-13]。

1.1 miRNAs 与成骨分化上游信号 转录因子 Dlx 在干细胞成骨分化中发挥重要作用。 QADIR 等^[14]在研究中发现, BMP-2 介导的成骨分化过程中, 人和小鼠骨髓间充质干细胞(bone marrow stromal cells, BMSCs)中 miR-124 的表达与对照组相比约降低 50%, 而 Dlx5、Dlx3 和 Dlx2 的 RNA 和蛋白水平平均数倍高于对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 另外, 通过抑制 miR-124 的表达, 结果表明 Dlx 基因的 mRNA 和蛋白的表达量均增加; 且荧光素酶等相关报告基因分析表明, miR-124 直接靶向 Dlx3、Dlx5 和 Dlx2 的 3'-UTR。因此, miR-124 通过作用于转录因子 Dlx 的 3'-UTR, 导致其 mRNA 的降解或翻译阻遏, 抑制骨的形成。

1.2 miRNA 与成骨分化下游标志性基因 LI 等^[15]在研究小鼠 BMSCs 成骨分化时发现,在 BMP-2 诱导的成骨分化过程中, miR-2861 通过抑制组蛋白脱乙酰基酶 5(histone deacetylase5, HDAC5)的表达, 抑制 Runx2 降解, 从而促进骨形成。而在进一步实验中发现, 原发性骨质疏松症患者体内 premiR-2861 纯合子发生突变, miR-2861 表达量明显下调, 且 HDAC5 表达异常升高; 而小鼠 BMSCs 实验中, HDAC5 表达增高的同时, Runx2 表达降低, 成骨分化作用受到抑制。因此, 该研究结果提示 miR-2861 的异常表达作用于 Runx2 抑制成骨分化, 并且与原发性骨质疏松症的发生关系密切。XU 等^[16]研究了人 BMSCs 成骨分化过程中的某些 miRNAs 的功能, 通过验证发现其中 miR-885-5p 通过抑制 Runx2 及相关成骨基因的表达来调控成骨分化。

1.3 miRNA 经 Wnt 信号通路在成骨分化中的调控作用 Wnt 信号通路分为经典 Wnt/ β -catenin 信号通路和非经典 Wnt 信号通路。经典信号通路是由胞外的 Wnt 蛋白与膜上的相应受体蛋白, Frizzled 家族蛋白(frizzled proteins, Fz)和低密度脂蛋白受体相关蛋白(LDL receptor related protein, LRP)复合物结合, 激活胞内的散乱蛋白(dishevelled, Dsh 或 Dvl), 诱导胞内的四聚体[APC 蛋白(adenomatous polyposis coli, APC)、Axin 支架蛋白、糖原合成酶激酶-3(GSK-3 β)、 β -catenin]分解, 使胞内 β -catenin 的降解途径无法进行, β -catenin 浓度升高, 进入核内与转录因子(TCF/LEF)结合, 最终诱导成骨相关靶基因的表达, 调控成骨分化^[17]。非经典 Wnt 信号传导通路中, Wnt 蛋白(主要包括 Wnt5a、Wnt7a、Wnt11 等)与 Fz 和 LRP5/6 结合引起相应非经典 Wnt 信号的激活^[18]。miRNA 对 Wnt 信号通路的调控分为 3 个部分: (1)miRNA 可作用于细胞外和细胞内各种 Wnt 信号通路拮抗物[如 Dickkopf 相关蛋白(DKKs)、frizzled 相关蛋白(secreted frizzled-related proteins, SFRPs)等]的 mRNA; (2)miRNA 通过影响膜蛋白与受体结合及作用于四聚体(APC、Axin、GSK-3 β 、 β -catenin)的各成分, 影响胞内的四聚体的合成, 调控成骨相关基因的表达。(3)miRNA 还可通过非经典 Wnt 信号通路中的相关因子来调控成骨分化过程。

1.3.1 miRNA 与细胞外和细胞内的各种 Wnt 信号通路拮抗物 HASSAN 等^[19]研究人脂肪间充质干细胞(human adipose-derived stem cells, hADSCs)的成骨分化过程时发现, 体外培养的 hADSCs 在成骨分化过程中内源性 miR-218 表达上调; 增加外源性的 miR-218 促进其成骨分化, 而下调 miR-218 的表达可抑制其成骨分化。经过对 miR-218 作用靶点的探究

发现, miR-218 直接作用靶点为 SFRP2 和 DKK2(Wnt 信号通路上游的抑制因子), miR-218 可解除 SFRP2 或 DKK2 对 Wnt 信号通路的抑制作用, 从而激活 Wnt/ β -catenin 信号通路; 另外, 模拟 Wnt 信号通路的激活或阻断 Wnt 信号通路, hADSCs 内相应的 miR-218 的表达水平随之增加或减少。因此, 该课题组推测 miR-218 与经典 Wnt 信号通路对干细胞成骨分化的调控是一种反馈调节过程。KAPINAS 等^[20]研究发现, 高表达的 miR-29a/c 对 Wnt/ β -catenin 信号通路的抑制因子 DKK1(Wnt 信号通路上游抑制因子)产生直接抑制效应, 使 Wnt/ β -catenin 信号通路激活; 另一方面, miR-29a/c 又以骨黏蛋白为直接抑制对象, 在成骨分化晚期抑制骨黏蛋白的表达水平, 抑制成骨分化。

1.3.2 miRNA 与膜蛋白及胞内的四聚体 LI 等^[21]研究结果表明,miR-23a 在成骨分化的过程中明显下调。过表达或下调 miR-23a, 体外 hBMSCs 的成骨分化受到相应抑制或促进。进一步实验证明, LRP5(Wnt 蛋白的细胞膜受体蛋白)是 miR-23a 直接作用靶点, 敲除 LRP5 可以抑制 hBMSCs 的成骨分化, 与上调 miR-23a 的结果相一致。因此证实了 miR-23a 在的成骨分化中通过靶向 LRP5, 导致 Wnt 蛋白无法与受体结合, Wnt 信号通路受到抑制, 导致 hBMSCs 的成骨分化受到抑制。MENG 等^[22]发现上调 miR-21 可提高人脐带间充质干细胞(human umbilical cord mesenchymal stem cells, hUMSCs)中成骨分化相关基因的表达水平, 促进 GSK-3 β (Wnt 信号通路中四聚体的成分之一)的磷酸化, 使 GSK-3 β 趋于稳定, 细胞中 β -catenin 的积累增多, 激活转录过程, 促进成骨分化。这表明 miR-21 通过间接调节 Wnt 信号通路中的 GSK-3 β , 来调控干细胞成骨分化过程。WANG 等^[23]探究 hADSCs 发现 miR-26a 通过直接靶向 GSK-3 β , 抑制 GSK-3 β 蛋白的表达, 激活 Wnt/ β -catenin 信号通路从而促进 hADSCs 的成骨分化。WANG 等^[24]研究 hBMSCs 的成骨分化过程的调控机制, 发现炎症因子 TNF- α 可诱导转录因子 NF- κ B 的激活, 使 miR-150-3p 的表达上调, 而 miR-150-3p 可与 β -catenin mRNA 的 3'-UTR 结合, 降低细胞内 β -catenin 的水平, 抑制 hBMSCs 的成骨分化。

1.3.3 miRNA 与非经典 Wnt 信号通路 LI 等^[25]研究小鼠脂肪源性间充质干细胞(adipose-derived stem cells, ADSCs)成骨细胞分化时,发现过表达的 miR-26a-5p 抑制成骨分化, 而抑制内源性 miR-26a-5p 的表达可促进成骨分化。钙离子荧光探针和 Western blot 分析显示, miR-26a-5p 抑制 Wnt5a、蛋白激酶 C(Wnt/ Ca^{2+} 信号通路的相关因子)的表达及钙离子内流, 从而抑制小鼠 ADSCs 的成骨分化。进一步研究发现, 上调的 miR-26a-5p 通过靶向 Wnt5a, 抑制非经典 Wnt 信号传导通路 Wnt/ Ca^{2+} 信号通路, 抑制 ADSCs 成骨分化。

尽管众多研究显示 miRNA 通过 Wnt 信号通路调节干细胞成骨分化, 但鲜有研究从 miRNA 的视角出发探讨机械刺激的生物信号转导过程中干细胞成骨分化机制。

2 力学响应 miRNA 对干细胞成骨分化的影响

2.1 成骨分化中的力学响应 miRNA 力学刺激是细胞受到的最基础的刺激之一。近年来, 研究发现力学因素对干细胞增殖和成骨分化起着重要的调节作用^[26]。同时, 发现一些在力学载荷作用下差异表达的 miRNA, 被称之为力学响应 miRNA, 可以响应力学刺激, 调节细胞的增殖与成骨分化。其中大部分 miRNA 调控成骨分化的作用靶点未得到验证, 另外有一小部分 miRNA 作用靶点已被验证^[27]。文献^[28]报道, 对体外

培养小鼠 MC3T3-E1 成骨细胞施加 12 dyn/cm²、1 h/d 的周期性剪切应力刺激,基因芯片和实时荧光定量 PCR 检测到 miR-20a、miR-21、miR-19b、miR-34a、miR-34c、miR-140 和 miR-200b 明显下调,推测 12 dyn/cm²、1 h/d 的流体剪切应力可以促进成骨分化并且这些明显下调的 miRNA 可能参与成骨分化的调控。本课题组对体外培养小鼠 MC3T3-E1 成骨细胞施加 2 500 με、0.5 Hz 不同时间的张应力力学刺激,利用基因芯片和实时荧光定量 PCR 检测发现 miR-218、miR-191、miR-3070a 和 miR-33 的表达具有明显差异,表明这 4 种 miRNAs 可能是成骨分化过程中响应力学载荷的潜在调节因子^[29]。WANG 等^[30]对 MC3T3-E1 细胞施加微重力和 10 dyn/cm²、1 h/d 流体剪切力这两种不同类型的力学载荷刺激诱导成骨分化,作用过后,通过 RT-PCR 检测发现受力前后 miR-33-5p 证实,Hmga2 基因是 miR-33-5p 的靶基因,可抑制 MC3T3-E1 细胞的成骨分化。这表明 miR-33-5p 是一种力学响应 miRNA,参与调控 MC3T3-E1 细胞在力学环境改变诱导下的成骨分化过程。

2.2 力学刺激经 Wnt 信号通路影响成骨分化 有研究证明,机械刺激可通过 Wnt 信号通路影响干细胞向成骨细胞分化。SHI 等^[31]对大鼠肌腱干细胞(tendon-derived stem cells, TDSCs)施加 2% 幅度、正弦波型、0.5 Hz、4 h/d 的张应力刺激,发现 TDSCs 向成骨方向分化。用 Ras 同源基因家族成员 A (ras homolog gene family member A, RhoA) 的抑制剂下调 RhoA 的表达,抑制了张应力刺激下 TDSCs 的成骨分化;进一步研究发现,张应力刺激使 TDSCs 中的 Wnt5a 的 mRNA 水平增加。用小干扰 RNA 抑制 Wnt5a 的表达抑制了张应力刺激下 TDSCs 的成骨分化,而 RhoA 活化剂可使此过程恢复。因此,张应力刺激通过非经典 Wnt/PCP (Wnt5a-RhoA) 信号通路促进 TDSCs 的成骨分化。ZHANG 等^[32]发现给牙周膜干细胞(periodontal ligament stem cells, PDLSCs)施加 100 kpa 的静态压力,可使 Wnt/β-catenin 信号通路激活,从而调节 PDLSCs 成骨分化。DU 等^[33]证明 0.5 Hz、2 000 με、2 h/d 张应力刺激可激活 Wnt/β-catenin 信号通路和 Wnt/Ca²⁺ 信号通路,促进 hADSCs 成骨分化。以上研究均证明机械刺激对干细胞的成骨分化作用与 Wnt 信号通路关系密切。

2.3 力学响应 miRNA 经 Wnt 信号通路影响成骨分化 LI 等^[34]对体外培养的小鼠 ADSCs 施加 0.5 Hz、2 000 με、2 h/d 周期性张应力刺激,从 miRNA 的角度出发探讨在力学刺激作用下 ADSCs 成骨分化的力学传导机制。芯片结果显示 ADSCs 在张应力刺激下内源性 miR-154-5p 显著下调。荧光素酶报告基因分析证明 Wnt11 的 3'-UTR 是 miR-154-5p 的直接靶点。在力学刺激作用下,上调 miR-154-5p 的表达,结果显示 ADSCs 的成骨分化受到抑制;下调 miR-154-5p 的表达,可明显促进 ADSCs 的成骨分化。进一步的实验证明,miR-154-5p 的过表达通过与 Wnt11 的 mRNA 的 3'-UTR 结合抑制其转录,降低 Wnt11 蛋白的浓度,从而抑制非经典 Wnt/PCP (RhoA-ROCK) 信号通路的激活,ADSCs 的成骨分化也受到抑制;ADSCs 的 miR-154-5p 下调后,可激活 Wnt/PCP (RhoA-ROCK) 信号通路,促进 ADSCs 的成骨分化。简言之,周期性张应力刺激下,miR-154-5p 响应力学刺激,经 Wnt/PCP 信号通路靶向 Wnt11 调节 ADSCs 的成骨分化。

3 小结与展望

近年来,Wnt 信号通路已渐渐为人们所重视,人类某些骨疾病,如骨质疏松症、硬化性骨化病,已证实与异常的 Wnt 信

号通路相关^[35-36]。这些发现需要研究者们对疾病的发病机制与 Wnt 信号通路在干细胞成骨分化的分子机制和调控机制进行更深层次的探索,以寻求治疗疾病的新思路和新方法。通过对特异性表达的 miRNA 的不断发现和靶点的验证,可能寻找诊断骨疾病的新方法。另外,力学载荷是骨组织受到的最基本的刺激之一,在干细胞向成骨定向分化的过程中起关键的调节作用。研究 miRNA 影响干细胞成骨分化的途径及其调控机制离不开力学的环境。然而,现阶段对力学载荷作用下成骨分化过程中特异性表达的 miRNA 的研究尚处于起步阶段,许多与干细胞成骨分化相关的力学响应 miRNA 的作用靶点和调控机制并未得到验证,明确力学响应 miRNAs 的功能、调控机理、作用靶点、激活抑制因素及不同 miRNA 之间的相互作用和联系将是今后研究的重点。

参考文献

- [1] BARTEL D P. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function[J]. Cell, 2004, 116(2): 281-297.
- [2] GANGARAJU V K, LIN H F. MicroRNAs: key regulators of stem cells[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2009, 10(2): 116-125.
- [3] KOMIYA Y, HABAS R. Wnt signal transduction pathways[J]. Organogenesis, 2008, 4(2): 68-75.
- [4] CAWTHORN W P, BREE A J, YAO Y, et al. Wnt6, Wnt10a and Wnt10b inhibit adipogenesis and stimulate osteoblastogenesis through a β-catenin-dependent mechanism[J]. Bone, 2012, 50(2): 477-489.
- [5] HOEY D A, TORMEY S, RAMCHARAN S, et al. Primary Cilia-Mediated mechanotransduction in human mesenchymal stem cells[J]. Stem Cells, 2012, 30(11): 2561-2570.
- [6] SHI Y, FU Y J, TONG W X, et al. Uniaxial mechanical tension promoted osteogenic differentiation of rat tendon-derived stem cells (rTDSCs) via the Wnt5a-RhoA pathway[J]. J Cell Biochem, 2012, 113(10): 3133-3142.
- [7] MU C, LV T H, WANG Z L, et al. Mechanical stress stimulates the osteo/odontoblastic differentiation of human stem cells from apical papilla via ERK 1/2 and JNK MAPK pathways[J]. Biomed Res Int, 2014(4): E490-E500.
- [8] SEN B E, XIE Z H, CASE N, et al. Mechanical strain inhibits adipogenesis in mesenchymal stem cells by stimulating a durable beta-catenin signal [J]. Endocrinology, 2008, 149(12): 6065-6075.
- [9] WANG L, LI J Y, ZHANG X Z, et al. Involvement of p38MAPK/NF-κB signaling pathways in osteoblasts differentiation in response to mechanical stretch[J]. Ann Biomed Eng, 2012, 40(9): 1884-1894.
- [10] ARNSDORF E J, TUMMALA P, KWON R Y, et al. Mechanically induced osteogenic differentiation - the role of RhoA, ROCK II and cytoskeletal dynamics[J]. J Cell Sci, 2009, 122(4): 546-553.
- [11] HATA A, KANG H. Functions of the bone morphogenetic protein signaling pathway through microRNAs (Re-

- view[J]. *Int J Mol Med*, 2015, 35(3):563-568.
- [12] KANG H, HATA A. The role of microRNAs in cell fate determination of mesenchymal stem cells; balancing adipogenesis and osteogenesis[J]. *BMB Rep*, 2015, 48(6):319-323.
- [13] ARFAT Y, XIAO W Z, AHMAD M, et al. Role of microRNAs in osteoblasts differentiation and bone disorders[J]. *Curr Med Chem*, 2015, 22(6):748-758.
- [14] QADIR A S, UM S, LEE H, et al. miR-124 negatively regulates osteogenic differentiation and in vivo bone formation of mesenchymal stem cells[J]. *J Cell Biochem*, 2015, 116(5):730-742.
- [15] LI H, XIE H, LIU W, et al. A novel microRNA targeting HDAC5 regulates osteoblast differentiation in mice and contributes to primary osteoporosis in humans[J]. *J Clin Invest*, 2009, 119(12):3666-3677.
- [16] XU J F, YANG G H, PAN X H, 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.
- [17] MAHMOOD S, BHATTI A, SYED N A, et al. The microRNA regulatory network; a far-reaching approach to the regulate the Wnt signaling pathway in number of diseases[J]. *J Recept Signal Transduct*, 2016, 36(3):310-318.
- [18] LIU A R, CHEN S, CAI S X, et al. Wnt5a through Non-canonical Wnt/JNK or Wnt/PKC signaling contributes to the differentiation of mesenchymal stem cells into type II alveolar epithelial cells in vitro[J]. *PLoS One*, 2014, 9(3):e90229.
- [19] HASSAN M Q, MAEDA Y, JAFFERJI M, et al. MicroRNA-218 and Wnt signaling regulatory loop promote osteoblast differentiation[J]. *Bone*, 2012, 50(1):S80-S81.
- [20] KAPINAS K, KESSLER C B, DELANY A M. miR-29 suppression of osteonectin in osteoblasts: regulation during differentiation and by canonical Wnt signaling[J]. *J Cell Biochem*, 2009, 108(1):216-224.
- [21] LI T, LI H L, WANG Y Z, et al. microRNA-23a inhibits osteogenic differentiation of human bone marrow-derived mesenchymal stem cells by targeting LRP5[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2016, 72(72):55-62.
- [22] MENG Y B, LI X, LI Z Y, et al. microRNA-21 promotes osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells by the PI3K/ β -catenin pathway[J]. *J Orthop Res*, 2015, 33(7):957-964.
- [23] WANG Z, XIE Q, YU Z, et al. A regulatory loop containing miR-26a, GSK3 β and C/EBP α regulates the osteogenesis of human adipose-derived mesenchymal stem cells[J]. *Sci Rep*, 2015, 15(5):15280.
- [24] WANG N, ZHOU Z B, WU T Y, et al. TNF-alpha-induced NF-kappa B activation upregulates microRNA-150-3p and inhibits osteogenesis of mesenchymal stem cells by targeting beta-catenin[J]. *Open Biol*, 2016, 6(3):150258.
- [25] LI S S, HU C, LI J W, et al. Effect of miR-26a-5p on the Wnt/ Ca^{2+} pathway and osteogenic differentiation of mouse Adipose-Derived mesenchymal stem cells[J]. *Calcif Tissue Int*, 2016, 99(2):174-186.
- [26] YAN Y X, SUN H Y, GONG Y W, et al. Mechanical strain promotes osteoblastic differentiation through integrin- β 1-mediated β -catenin signaling[J]. *Int J Mol Med*, 2016, 38(2):594-600.
- [27] 张晓玲. 干细胞成骨分化及骨形成中力学敏感性 microRNA 的筛选及功能验证[C]//第九届上海国际骨科前沿技术与临床转化学术会议论文集, 2015:89.
- [28] MAI Z H, PENG Z L, ZHANG J L, et al. miRNA expression profile during fluid shear stress-induced osteogenic differentiation in MC3T3-E1 cells[J]. *Chin Med J*, 2013, 126(8):1544-1550.
- [29] GUO Y, WANG Y, LIU Y Q, et al. MicroRNA-218, microRNA-191 *, microRNA-3070a and microRNA-33 are responsive to mechanical strain exerted on osteoblastic cells[J]. *Mol Med Rep*, 2015, 12(2):3033-3038.
- [30] WANG H, SUN Z Y, WANG Y X, et al. miR-33-5p, a novel mechano-sensitive microRNA promotes osteoblast differentiation by targeting Hmga2[J]. *Sci Rep*, 2016, 16(6):23170.
- [31] SHI Y, FU Y J, TONG W X, et al. Uniaxial mechanical tension promoted osteogenic differentiation of rat tendon-derived stem cells (rTDSCs) via the Wnt5a-RhoA pathway[J]. *J Cell Biochem*, 2012, 113(10):3133-3142.
- [32] ZHANG L Q, LIU W J, ZHAO J D, et al. Mechanical stress regulates osteogenic differentiation and RANKL/OPG ratio in periodontal ligament stem cells by the Wnt/ β -catenin pathway[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2016, 1860(10):2211-2219.
- [33] DU H M, WANG L Y, ZHENG X H, et al. The role of the Wnt signaling pathway in the osteogenic differentiation of human adipose-derived stem cells under mechanical stimulation[J]. *J Hard Tissue Biol*, 2015, 24(2):169-180.
- [34] LI J W, HU C, HAN L, et al. MiR-154-5p regulates osteogenic differentiation of adipose-derived mesenchymal stem cells under tensile stress through the Wnt/PCP pathway by targeting Wnt11[J]. *Bone*, 2015, 78(78):130-141.
- [35] MONROE D G, MCGEE-LAWRENCE M E, OURSLER M J, et al. Update on Wnt signaling in bone cell biology and bone disease[J]. *Gene*, 2012, 492(1):1-18.
- [36] CANALIS E. Wnt signalling in osteoporosis: mechanisms and novel therapeutic approaches[J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2013, 9(10):575-583.