

· 基础研究 ·

MiR-210-3p 转染对大鼠骨髓基质干细胞成骨活性影响[△]

杨 梦¹, 原福贞², 邓荣辉², 翟小青¹, 刘泽众¹, 余家阔^{2*}

(1. 潍坊医学院临床学院, 山东潍坊 261053; 2. 北京大学第三医院运动医学研究所, 北京 100191)

摘要: [目的] 探讨微小 RNA (microRNA, miR) -210-3p 转染大鼠骨髓基质干细胞 (bone marrow mesenchymal stem cells, BMMSCs) 对成骨活性的影响。[方法] 体外培养大鼠 BMMSCs, 随机分 3 组, 分别为空白对照组、miR-210-3p 增强组 (增强组)、miR-210-3p 抑制组 (抑制组), 给予相应体外转染处理。检测细胞增殖、凋亡和迁移, 以及诱导成骨分化和诱导成脂分化情况; 采用 qRT-PCR 检测相应标志物的 mRNA 表达水平。[结果] 第 3 代 BMMSCs 的 CD44 和 CD90 呈阳性表达, CD34 和 CD45 呈阴性表达, 符合间充质干细胞的表面抗原特征。与空白对照组对比, 增强组的 miR-210-3p 的 mRNA 表达显著增加 ($P<0.05$), 而抑制组的 miR-210-3p 的 mRNA 表达显著抑制 ($P<0.05$)。细胞增殖 OD 值、Transwell 细胞迁移、茜素红染色钙盐沉积计数由高至低依次为增强组>空白对照组>抑制组 ($P<0.05$); 而凋亡率和油红 O 染色脂滴计数由低至高依次为增强组<空白对照组<抑制组 ($P<0.05$)。qRT-PCR 检测, 成骨表达基因, 包括 ALP 和 Bglap-2 的 mRNA 相对表达量由高至低依次为增强组>空白对照组>抑制组 ($P<0.05$); 而成脂表达基因, 包括 PPAR γ 和 LPL 的 mRNA 相对表达量由低至高依次为增强组<空白对照组<抑制组 ($P<0.05$)。[结论] 本研究表明 miR-210-3p 可促进大鼠 BMMSCs 成骨分化, 抑制成脂分化, 减少细胞凋亡并促进细胞增殖和迁移。

关键词: 微小 RNA (miRNAs), 骨髓基质干细胞, 成骨分化, 成脂分化

中图分类号: R318 **文献标志码:** A **文章编号:** 1005-8478 (2022) 21-1975-07

Effect of Mir-210-3p transfection in rat bone marrow mesenchymal stem cells on their osteogenic capacity // YANG Meng¹, YUAN Fu-zhen², DENG Rong-hui², ZHAI Xiao-qing¹, LIU Ze-zhong¹, YU Jia-kuo². 1. School of Clinical Medicine, Weifang Medical University, Weifang 261053, China; 2. Institute of Sports Medicine, Peking University Third Hospital, Beijing 100191, China

Abstract: [Objective] To explore the effect of microRNA (miR-210-3p) transfection in rat bone marrow mesenchymal stem cells (BMMSCs) on their osteogenic capacity. **[Methods]** Rat BMMSCs were isolated and cultured in vitro, and were randomly divided into 3 groups. The cells in the blank control group, MiR-210-3p enhanced group (enhanced group) and miR-210-3p inhibited group (inhibited group) were given transfection with the corresponding genes in vitro respectively. The cell biological behaviours were detected, involving proliferation, apoptosis and migration, as well as osteogenic differentiation and adipogenic differentiation, in addition, qRT-PCR was used to detect mRNA expression levels of corresponding markers. **[Results]** The third generation BMMSCs obtained in this study were positive for CD44 and CD90, negative for CD34 and CD45, which were consistent with the surface antigen characteristics of mesenchymal stem cells. Compared with blank control group, mRNA expression of miR-210-3p in enhanced group was significantly increased ($P<0.05$), whereas which in the inhibition group was significantly inhibited ($P<0.05$). The OD value of cell proliferation, Transwell cell migration and alizarin red staining calcium deposition count were significantly ranked from high to low as the enhanced group>blank control group>inhibition group ($P<0.05$). Conversely, the apoptosis rate and oil red O staining lipid drop count were significantly ranked from low to high as the enhanced group<blank control group<inhibition group ($P<0.05$). As results of qRT-PCR assay, the mRNA relative expression level of osteogenic genes, including ALP and Bglap-2, was significantly ranked from high to low as the enhanced group>blank control group>inhibition group ($P<0.05$), whereas the mRNA relative expression levels of lipid-expressing genes, including PPAR γ and LPL, were from low to high as the enhanced group<blank control group<inhibition group ($P<0.05$). **[Conclusion]** In this study the miR-210-3p does promote osteogenic differentiation, inhibit adipogenic differentiation, reduce apoptosis, and promote cell proliferation and migration of BMMSCs in rats.

Key words: miRNAs, bone marrow mesenchymal stem cells, osteogenic differentiation, adipogenic differentiation

DOI:10.3977/j.issn.1005-8478.2022.21.12

[△]基金项目: 国家自然科学基金项目 (编号: 51773004, 51920105006, 52003008)

作者简介: 杨梦, 医师, 硕士研究生, 研究方向: 骨修复、软骨修复, (电话) 15650257005, (电子信箱) 15650257005@163.com

* 通信作者: 余家阔, (电话) 010-82267391, (电子信箱) yujiakuo@126.com

间充质干细胞 (mesenchymal stem cells, MSCs), 包括骨髓间充质 (基质) 干细胞 (BMMSCs)、脂肪来源的间充质干细胞 (adipose-derived mesenchymal stem cells, ADMSCs) 和外周血来源的间充质干细胞 (peripheral blood-derived mesenchymal stem cells, PB-MSCs) 等是起源于早期发育的中胚层的多能细胞, 具有自我更新和分化成骨细胞、软骨细胞和脂肪细胞的能力^[1-3]。间充质干细胞通常与生物医学材料相结合, 对再生医学具有很大的前景, 特别是在治疗由感染、创伤、骨质疏松症或全身异常疾病引起的临界尺寸骨缺损 (critical-size bone defect, CSD)^[4]。与其他间充质干细胞相比, 骨髓基质干细胞由于较强的细胞增殖能力及成骨能力而逐渐成为骨再生医学的首选^[5,6]。然而, 在使用未分化的 MSCs 时仍存在移植细胞存活率低、易凋亡, 干细胞未能分化成特定细胞类型, 移植细胞不能有效迁移到缺损部位等问题^[7,8]。

MicroRNA (miRNA) 是一类小的非编码单链 RNA, 可通过抑制 mRNA 翻译或促进 mRNA 降解来在转录后水平进行调控^[9]。随着表观遗传学的深入研究, 新兴证据表明 miRNA 与骨骼疾病密切相关, 并且对于骨骼发育和间充质干细胞的成骨分化也至关重要^[10]。Wu 等^[11]发现 miR-1260a 可以通过抑制 HDAC7 和 COL4A2 表达以增强 BMMSCs 成骨和血管生成。MiR-5106 可以靶向 SIK2 和 SIK3 基因以促进 BMMSCs 成骨细胞分化^[12]。Xu 等^[13]的研究结果表明 MSCs 分泌的 miRNA-128-3p 可以通过靶向 Smad5 促进成骨分化和骨折愈合。Liu 等^[14]的研究证实 miR-181d-5p 的下调可促进 BMMSCs 的成骨分化。上述研究表明, miRNA 通过各种信号传导途径调节生物体内的活性, 并在间充质干细胞的成骨分化中发挥至关重要的作用。本研究通过过表达 miR-210-3p 探讨其对 BMMSCs 成骨、成脂分化的影响, 并探讨其对细胞增殖、凋亡及迁移能力的影响。

1 材料与方法

1.1 大鼠骨髓基质干细胞的分离培养

本实验经过北京大学生物医学伦理委员会许可, 伦理批准号 LA2019357。10 只体重为 100~120 g 的 Sprague-Dawley 雌性大鼠, 通过吸入 CO₂ 处死, 去除后腿软组织, 分离骨骼, 包括胫骨和股骨, 存储在磷酸盐缓冲溶液 (PBS) (索莱宝, 中国) 中。剪开胫骨及股骨, 冲洗髓腔, 收集细胞, 并在含有 10% 胎

牛血清 (FBS, Gibco, 美国) 的 α -MEM 培养液中 (Gibco, 美国), 5% CO₂, 37°C 下培养。当细胞融合率为 80%~90% 时, 用 0.25% 的胰酶消化, 以 1:3 的比例传代培养; 经过 3 代后获得纯化的 BMMSCs。

1.2 BMMSCs 的鉴定

取第 3 代生长状态良好的 MSCs, 反应缓冲液 (Assay Buffer, 索莱宝, 中国) 轻柔洗 2 遍, 用 0.25% 不含 EDTA 的胰酶消化; 加入含有 10% FBS 的 α -MEM 终止消化。离心并收集细胞, 计数后每个流式管加入 5×10^5 个细胞, 并用 100 μ l Assay Buffer 重悬后, 分别加入 5 μ l CD34-PE (Gene Tex, 美国), CD44-FITC (Biosciences, 美国), CD45-FITC (博奥森, 中国), CD90-FITC (Biolegend, 美国) 的直标抗体, 4°C 避光孵育 30 min。再加入 1 ml Assay Buffer 重悬清洗 2 遍, 加 Assay Buffer 定容至 500 μ l, 经流式细胞仪 (Biosciences, 美国) 分析细胞表面标记。

1.3 细胞分组与体外转染

转染前 1 d, 将 BMMSCs 以 2×10^5 /孔的密度接种在六孔板上。为了提高转染效率, 细胞贴壁后将细胞与含 2% FBS 的培养基混合饥饿孵育细胞 12 h。再根据制造商的说明, 使用 Lipofectamine 2000 (Invitrogen, 美国) 将 50 nmol/L miR-210-3p mimics 和 100 nmol/L miR-210-3p inhibitors (瑞博生物, 中国) 转染到细胞中。空白对照组中仅加入 5 μ l Lipofectamine 2000, 而增强组中的细胞加入 5 μ l Lipofectamine 2000 和 50 nmol/L miR-210-3p mimics, 抑制组中的细胞加入 5 μ l Lipofectamine 2000 和 100 nmol/L miR-210-3p inhibitors。48 h 后收集细胞进行以下检测。

1.4 检测方法

1.4.1 细胞增殖 CCK-8 检测

细胞转染后, 将 BMMSCs 以 5×10^3 /孔的密度接种在 96 孔板中, 并在培养箱中培养 12、24、48、72 h。在每个时间点, 在孔中加入 10 μ l CCK-8 (Dojindo, 日本) 工作溶液和 90 μ l 新鲜培养基孵育 2 h 后, 通过酶标仪 (Biosciences, 美国) 在 450 nm 处观察吸光度。

1.4.2 流式细胞检测细胞凋亡

细胞转染 48 h 后, 用 0.25% 不含 EDTA 的胰酶消化, 预冷 PBS 洗涤细胞后, 根据说明书使用 Annexin V-Alexa Fluor 647/PI 凋亡检测试剂盒 (翌圣生物科技, 中国), 在室温避光的条件下, 染色 15 min。最后通过流式细胞仪 (Biosciences, 美国) 检测。

1.4.3 细胞迁移检测

Transwell 小室实验检测 BMMSCs 的迁移。将转染后、处于对数生长期的每组细胞消化并重悬。将 2×10^4 个细胞接种在小室上腔。将下腔室加入含有 10% FBS 的完全培养基作为诱导剂。在培养箱中孵育 10 h 后，将转移到下腔室的细胞用多聚甲醛固定 5 min，用 0.1% 结晶紫染色 20 min，在 PBS 中洗涤并在显微镜下计数 (Nikon, 日本)。最后，使用任意 3 个区域的平均值来评估细胞的迁移能力。

1.4.4 诱导成骨检测 (茜素红染色)

在 6 孔板底面加入适量 0.1% 明胶以防诱导过程中细胞脱落，于超净台静置、晾干后收集第 3 代 BMMSCs 以 2×10^4 /孔的密度接种到六孔板中。当细胞达到 40%~60% 融合时，将 miR-210-3p mimics 和 inhibitors 分别转染到 BMMSCs 中，空白对照组进行单纯 Lipo 2000 转染。转染结束时，使用成骨分化培养基 (Cyagen, 美国) 进行诱导。每 2 d 换液。诱导 7 d 后进行染色，茜素红染色 5 min，后置于显微镜下观察成骨矿化情况。

1.4.5 诱导成脂检测

收集第 3 代 BMMSCs，以 1×10^5 /孔的密度接种到六孔板中。当细胞达到 60%~80% 融合时，将 miR-210-3p mimics 和 inhibitors 分别转染到 BMMSCs 中，空白对照组进行单纯 Lipo 2000 转染。转染结束时，使用成脂分化培养基 (Cyagen, 美国) 进行诱导。根据说明进行培养基更换。诱导后 7 d 进行染色。使用

油红 O 溶液染色 20 min，镜下观察细胞内脂滴形成情况。

1.4.6 qRT-PCR 检测

根据制造商的说明，使用 TRIzol (Thermo, 美国) 试剂提取总 RNA。然后以逆转录试剂盒 (Thermo, 美国)，将其逆转录成 cDNA，采用实时荧光定量 PCR (real-time fluorescence quantitative PCR, qRT-PCR) 试剂盒 (Takara, 日本) 进行定量 PCR 反应。MiR-210-3p、ALP、Bglap-2、PPAR γ 、LPL、U6 和 GAPDH 引物由广州瑞博生物技术有限公司合成；使用 GAPDH 作为 ALP、Bglap-2、PPAR γ 和 LPL 的内参基因，U6 作为 miR-210-3p 的内参基因。操作步骤、反应体系的配制、反应条件的设定均参照说明书进行。相对定量分析使用 $1/2^{-\Delta\Delta CT}$ 法进行。每个样品进行 3 次重复分析，所有实验均独立进行 3 次。得出各组各目的基因的 mRNA 相对表达量。qRT-PCR 引物序列见表 1。

1.5 统计学方法

采用 SPSS 22.0 软件进行统计分析。每个实验至少重复 3 次。计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示，资料呈正态分布时，采用单因素方差分析，两两比较采用 LSD 法。资料呈非正态分布时，采用 Krushal-Wallis H 检验，两两比较采用 Mann-whitney U 检验。P<0.05 为差异有统计学意义。

表 1 qRT-PCR 引物序列

基因	上游引物序列 (5'-3')	下游引物序列 (5'-3')
ALP	GCCATCGAGGAACTTTCAGA	TGTTCCCGAAAAATCTGGAG
Bglap-2	CGTTTAGGGCATGTGTGTC	TGCCGTCCATACTTTCGAGG
PPAR γ	GGACTCGAGGAGGTCAAGAAG	GGGAGTGGTCATCCATCACAG
LPL	TGCAGGATCGGAACGTCAATTA	AAATGAGTTGGTAAGGCAGGGT
GAPDH	ACAGCAACAGGGTGGTGGAC	TTTGAGGGTGCAGCGAACTT

2 结果

2.1 BMMSCs 的鉴定与 miR-210-3p 的转染效果

原代细胞接种于培养瓶后，4 d 后观察出现细胞集落。当原代细胞集落融合至 70%~80% 时，按 1:3 比例传代。经流式细胞术检测第 3 代 BMMSCs 表面标记，结果显示第 3 代 BMMSCs 的 CD44 和 CD90 呈阳性表达，CD34 和 CD45 呈阴性表达 (图 1)，符合间充质干细胞的表面抗原特征。

使用 Lipo 2000 将 miR-210-3p mimics 和 inhibitors 转染到细胞中。48 h 后收集细胞进行 qRT-PCR 检测，结果见表 2，与空白对照组对比，增强组的 miR-210-3p 表达明显增加 (P<0.05)，抑制组的 miR-210-3p 表达也受到抑制 (P<0.05)。

2.2 细胞增殖、凋亡和迁移

CCK8 测定细胞增殖活力的 OD 值结果表 2，随时间推移，3 组细胞增殖 OD 值均显著增加 (P<0.05)。12 h 时 3 组的增殖 OD 值的差异无统计学意义 (P>0.05)，但 24 h 和 48 h 时 3 组间 OD 值差异具

有统计学意义 ($P<0.05$), 72 h 时 3 组间 OD 值差异达到高峰 ($P<0.05$)。24、48、72 h 3 组 BMMSCs 增

殖能力 OD 值由高至低均依次为增强组>空白对照组>抑制组, 差异有统计学意义 ($P<0.05$)。

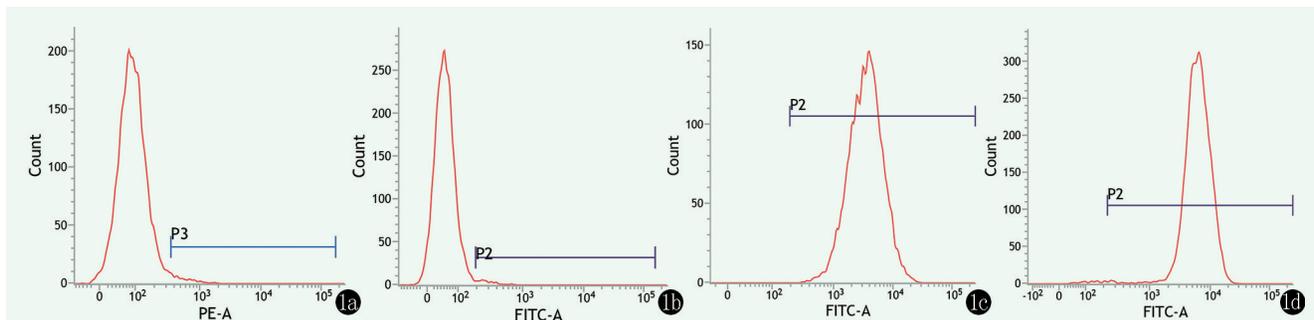


图 1 BMMSCs 流式细胞鉴定结果 1a: CD34, 阴性表达 1b: CD45, 阴性表达 1c: CD44, 阳性表达 1d: CD90, 阳性表达

流式细胞术检测 BMMSCs 的凋亡结果见图 2 和表 2。与早期相比, 3 组的晚期凋亡率显著降低 ($P<0.05$)。凋亡率由高至低依次为抑制组>空白对照组>增强组, 相应时间点 3 组间凋亡率的差异均有统计学

意义 ($P<0.05$)。

Transwell 细胞迁移检测结果见图 3a~3c 和表 2, 细胞迁移由高至低依次为增强组>空白对照组>抑制组, 差异均有统计学意义 ($P<0.05$)。

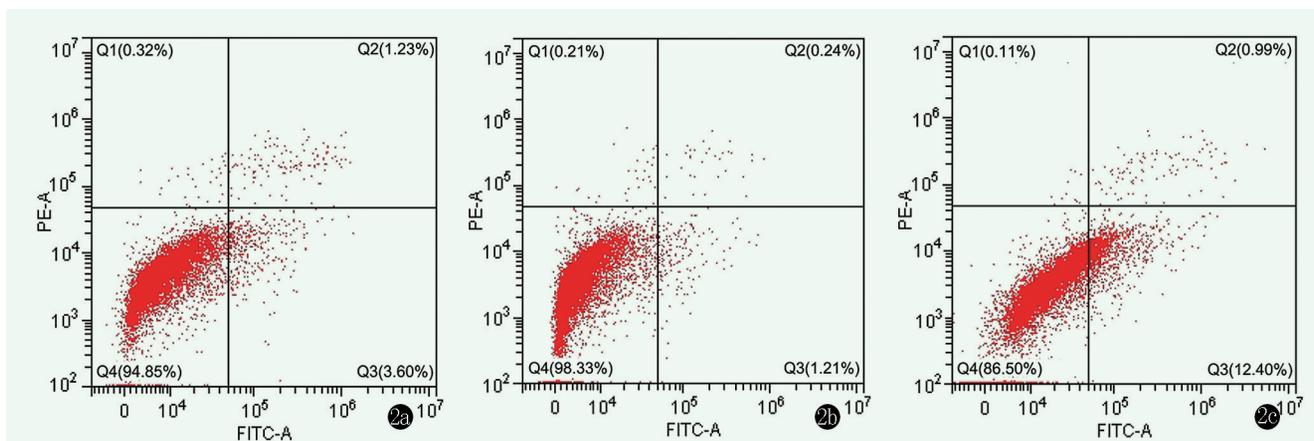


图 2 3 组 BMMSCs 细胞凋亡流式细胞检测结果 2a: 空白对照组 2b: 增强组, 抑制 BMMSCs 的凋亡 2c: 抑制组, 促进 BMMSCs 的凋亡

2.3 成骨与成脂活性

诱导成骨后茜素红染色见图 3d~3f, 计量结果见表 2。增强组钙盐沉积最多, 抑制组的钙盐沉积较少, 空白对照组的钙盐沉积量介于增强组和抑制组之间, 3 组间差异有统计学意义 ($P<0.05$)。

诱导成脂后油红 O 染色见图 3g~3i, 计量结果见表 2, 脂滴计数由低至高依次为增强组<空白对照组<抑制组, 差异均有统计学意义 ($P<0.05$)。

2.4 标志物 mRNA 的表达

qRT-PCR 检测标志物 mRNA 表达水平见表 2, 与空白对照组比较, 增强组细胞的成骨表达基因, 包括 ALP 和 Bglap-2 的 mRNA 相对表达量均显著升高 ($P<0.05$); 抑制组 ALP mRNA 明显降低 ($P<0.05$), 但 Bglap-2 mRNA 的相对表达差异无统计学意义 ($P=0.31$)。这可能与抑制组转染时间及浓度有关。相

反, 与空白组相比, 增强组细胞的成脂表达基因, 包括 PPAR γ 和 LPL 的 mRNA 相对表达量显著降低, 而抑制组则显著升高, 差异均有统计学意义 ($P<0.05$)。

3 讨论

本研究最重要的发现是 miR-210-3p 可显著促进大鼠 BMMSCs 成骨分化, 抑制成脂分化。目前, 临界尺寸骨缺损的治疗是临床面临的重大挑战, 据统计, 全世界每年大约进行 200 万次骨移植手术^[15]。研究表明, miRNA 与骨骼疾病有关并影响 BMMSCs 的分化^[16]。Taipaleenmäki^[17]回顾了 miRNA 在骨骼代谢中的作用, 认为 miRNA 是生理和病理过程中骨骼重建的关键调节剂, 并且可能是骨骼疾病的潜在治疗靶标和诊断工具。大量的实验结果表明, miRNA

在 MSCs 骨分化中起着至关重要的调节作用。通过特定基因的调节，已显示出几种 (miR-1260a^[11], miR-5106^[12], miR-128-3p^[13], miR-181d-5p^[14]) 调节 MSCs 成骨分化。本研究通过对大鼠 BMMSCs 给予相应体外转染处理发现，增强组细胞的茜素红染色钙盐沉积计数及成骨 ALP 和 Bglap-2 显著增加，而油红 O 染色脂滴计数及成脂表达基因 PPAR γ 和 LPL 的相对表达量显著降低。Asgharzadeh 等^[18] 的研究结

果表明上调的 miR-210-3p 促进人脐带血来源的 MSCs 中成骨细胞的分化。Hu 等^[19] 通过构建 miR-210-3p/ β -磷酸三钙 (β -tricalcium phosphate, β -TCP) / BMMSCs 支架治疗下颌骨临界骨缺损，取得良好的修复效果。然而，他们均未探讨 miR-210 对细胞成脂分化的影响。本研究在验证 miR-210-3p 能促进大鼠 BMMSCs 成骨分化的基础上还进一步验证了其具有抑制大鼠 BMMSCs 成脂分化的作用。

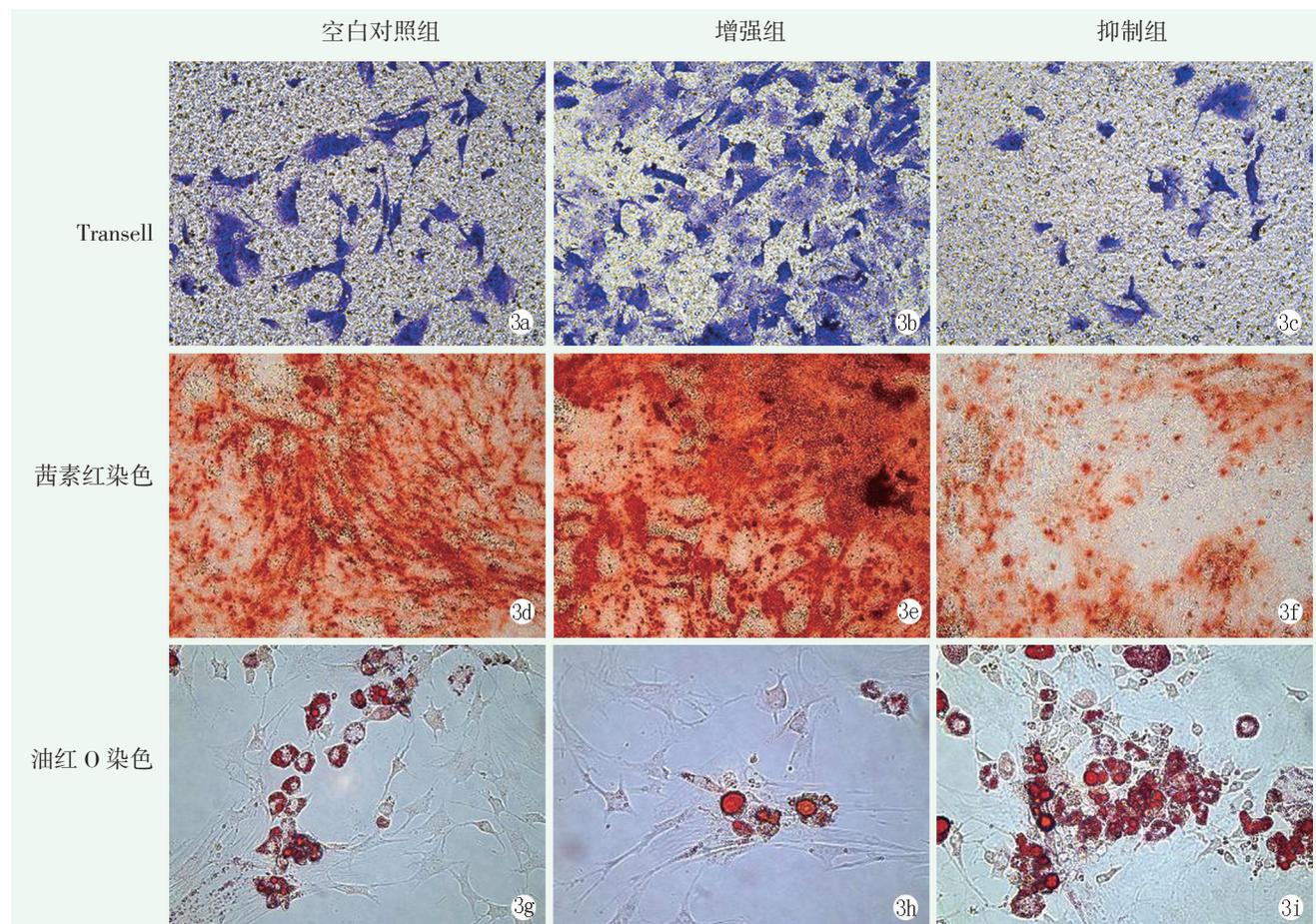


图3 3组 BMMSCs 转染处理后细胞生物特性检测结果 3a~3c: Transwell 迁移试验 ($\times 200$), 可见细胞迁移由高至低依次为增强组>空白对照组>抑制组 3d~3f: 诱导成骨茜素红染色 ($\times 200$), 可见钙结节数量由高至低依次为增强组>空白对照组>抑制组 3g~3i: 诱导成脂油红 O 染色 ($\times 400$) 可见脂滴数量由低至高依次为增强组<空白对照组<抑制组

本研究还发现 miR-210-3p 能够促进大鼠 BMMSCs 细胞增殖，抑制其凋亡。近年来科学家们对 miR-210 进行了广泛的研究，已经发现了许多 miR-210 靶标，不仅在线粒体代谢中，而且在血管生成、DNA 损伤反应、细胞增殖和细胞凋亡中也发挥了作用^[20]。Lu 等^[21] 的研究结果表明 miR-210-3p 的过表达可以促进口腔鳞状细胞癌的增殖。然而，Yang 等^[22] 通过过表达 miR-210-3p 发现其在体外抑制膀胱癌细胞的增殖，并且在裸鼠体内过表达 miR-210-3 也可抑制膀胱癌的生长。He 等^[23] 发现 miR-210-3p 通过调节其靶基因 Iscu 在体外的表达来抑制胶质

瘤细胞的增殖；并且还证明，当免疫缺陷小鼠植入过表达 miR-210-3p 的胶质瘤细胞时，胶质瘤的生长受到抑制。在细胞凋亡方面，Yu 等^[24] 发现 miR-210-3p 的过表达可以改善 H9C2 细胞中缺氧诱导的细胞凋亡。而 Xu 等^[25] 的结果表明 miR-210-3p 能够通过促进 caspase-3 活化来诱导生精细胞凋亡。导致上述不同结果的原因可能是由于细胞种类差异，因此作者对大鼠 BMMSCs 细胞进行 miR-210-3p 的过表达发现其具有促进细胞增殖并抑制细胞凋亡的作用。

表2 3组BMMSCs的检测结果($\bar{x} \pm s$)与比较

指标	空白对照组 (n=3)	增强组 (n=3)	抑制组 (n=3)	P 值
CCK-8 检测 (OD 值)				
12 h	0.72±0.06	0.72±0.02	0.67±0.04	0.444
24 h	1.26±0.05	1.36±0.03	1.13±0.07	0.017
48 h	1.54±0.11	1.82±0.09	1.39±0.10	0.016
72 h	1.73±0.09	2.33±0.13	1.48±0.07	<0.001
P 值	<0.001	<0.001	<0.001	
流式细胞检测凋亡率 (%)				
早期	3.39±0.34	1.24±0.06	12.26±0.10	<0.001
晚期	1.15±0.09	0.38±0.11	1.02±0.02	<0.001
P 值	<0.001	<0.001	<0.001	
transwel 细胞迁移率 (%)	45.67±9.57	83.67±7.76	20.00±2.45	<0.001
茜素红染色钙盐沉积率 (%)	46.33±6.58	72.40±4.18	19.20±2.29	<0.001
油红染色脂滴形成率 (%)	12.44±3.09	1.54±0.90	25.27±4.05	<0.001
qRT-PCR 检测 (相对表达量)				
miR-210-3p	1.00±0.03	5.52±0.59	0.54±0.05	0.008
ALP	1.00±0.03	5.51±0.28	0.62±0.01	0.002
Bglap2	1.00±0.02	3.19±0.24	0.89±0.08	0.003
LPL	1.00±0.08	0.75±0.05	2.45±0.04	<0.001
PPAR γ	1.00±0.05	0.52±0.05	1.60±0.07	<0.001

本研究还发现 miR-210-3p 能够促进大鼠 BMMSCs 细胞迁移。但 Yang^[22] 及 He^[23] 等的研究结果均发现 miR-210-3p 抑制细胞迁移。而 Xu 等^[26] 的结果表明抑制 miR-210-3p 的表达可以减少胰腺癌细胞的迁移和侵袭。这可能与细胞种类及转染条件的差异有关。因此本研究对大鼠 BMMSCs 细胞进行 miR-210-3p 的过表达发现其能够促进细胞迁移。

综上所述, miR-210-3p mimics 可上调大鼠 BMMSCs 细胞 miR-210-3p 表达, 上调 ALP、Bglap-2 mRNA 相对表达量, 提高矿化结节相对比例, 降低脂滴相对比例、PPAR γ 、LPL mRNA 相对表达量。能促进细胞增殖、迁移能力并有效减少细胞凋亡。数据表明, miR-210-3p 工程化 BMMSCs 对于增强骨再生和促进未来临界骨缺损的治愈有一定的临床意义。

参考文献

[1] Kangari P, Talaei-Khozani T, Razeghian-Jahromi I, et al. Mesenchymal stem cells: amazing remedies for bone and cartilage defects [J]. Stem Cell Res Ther, 2020, 11 (1): 492.
 [2] Chen YR, Yan X, Yuan FZ, et al. The use of peripheral blood-derived stem cells for cartilage repair and regeneration in vivo: a review [J]. Front Pharmacol, 2020, 11: 404.
 [3] 周游, 曾勇, 李新志. 干细胞在骨科中应用的研究进展 [J]. 中

国矫形外科杂志, 2011, 19 (14): 1185-1187.
 [4] Bunpetch V, Zhang ZY, Zhang X, et al. Strategies for MSC expansion and MSC-based microtissue for bone regeneration [J]. Biomaterials, 2019, 196 (1): 67-79.
 [5] Confalonieri D, Schwab A, Walles H, et al. Advanced therapy medicinal products: a guide for bone marrow-derived MSC application in bone and cartilage tissue engineering [J]. Tissue Eng Part B Rev, 2018, 24 (2): 155-169.
 [6] 田少奇, 孙康. 骨髓间质干细胞在股骨头缺血性坏死修复中的研究及应用进展 [J]. 中国矫形外科杂志, 2008, 16 (13): 1006-1008.
 [7] Guo Y, Yu Y, Hu S, et al. The therapeutic potential of mesenchymal stem cells for cardiovascular diseases [J]. Cell Death Dis, 2020, 11 (5): 349.
 [8] Ham O, Lee CY, Kim R, et al. Therapeutic potential of differentiated mesenchymal stem cells for treatment of osteoarthritis [J]. Int J Mol Sci, 2015, 16 (7): 14961-14978.
 [9] Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function [J]. Cell, 2004, 116 (2): 281-297.
 [10] 阮文东. miRNA 在骨重建中的作用 [J]. 中国矫形外科杂志, 2016, 24 (8): 722-726.
 [11] Wu D, Chang X, Tian J, et al. Bone mesenchymal stem cells stimulation by magnetic nanoparticles and a static magnetic field: release of exosomal miR-1260a improves osteogenesis and angiogenesis [J]. J Nanobiotechnol, 2021, 19 (1): 209.
 [12] Xiong Y, Chen L, Yan C, et al. M2 macrophagy-derived exosomal

- miRNA-5106 induces bone mesenchymal stem cells towards osteoblastic fate by targeting salt-inducible kinase 2 and 3 [J]. *J Nanobiotechnol*, 2020, 18 (1) : 66.
- [13] Xu T, Luo Y, Wang J, et al. Exosomal miRNA-128-3p from mesenchymal stem cells of aged rats regulates osteogenesis and bone fracture healing by targeting Smad5 [J]. *J Nanobiotechnol*, 2020, 18 (1) : 47.
- [14] Liu Y, Wang Y, Cheng X, et al. MiR-181d-5p regulates implant surface roughness-induced osteogenic differentiation of bone marrow stem cells [J]. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2021, 121: 111801.
- [15] Kim HD, Amirthalingam S, Kim SL, et al. Biomimetic materials and fabrication approaches for bone tissue engineering [J]. *Adv Healthc Mater*, 2017, 6 (23) : 1700612.
- [16] Gao Y, Patil S, Qian A. The role of microRNAs in bone metabolism and disease [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21 (17) : 6081.
- [17] Taipaleenmäki H. Regulation of bone metabolism by microRNAs [J]. *Curr Osteoporos Rep*, 2018, 16 (1) : 1-12.
- [18] Asgharzadeh A, Alizadeh S, Keramati MR, et al. Upregulation of miR-210 promotes differentiation of mesenchymal stem cells (MSCs) into osteoblasts [J]. *Bosn J Basic Med Sci*, 2018, 18 (4) : 328-335.
- [19] Hu B, Li Y, Wang M, et al. Functional reconstruction of critical-sized load-bearing bone defects using a Sclerostin-targeting miR-210-3p-based construct to enhance osteogenic activity [J]. *Acta Biomater*, 2018, 76: 275-282.
- [20] Guan Y, Song X, Sun W, et al. Effect of hypoxia-induced microRNA-210 expression on cardiovascular disease and the underlying mechanism [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2019, 2019: 4727283.
- [21] Lu Y, Li Y, Wang Z, et al. Downregulation of RGMA by HIF-1A/miR-210-3p axis promotes cell proliferation in oral squamous cell carcinoma [J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 112: 108608.
- [22] Yang X, Shi L, Yi C, et al. MiR-210-3p inhibits the tumor growth and metastasis of bladder cancer via targeting fibroblast growth factor receptor-like 1 [J]. *Am J Cancer Res*, 2017, 7 (8) : 1738-1753.
- [23] He H, Liu J, Li W, et al. MiR-210-3p inhibits proliferation and migration of C6 cells by targeting iscu [J]. *Neurochem Res*, 2020, 45 (8) : 1813-1824.
- [24] Yu X, Liu F, Liu Y, et al. Omega-3 fatty acid protects cardiomyocytes against hypoxia-induced injury through targeting miR-210-3p/CASP8AP2 axis [J]. *Mol Cell Biochem*, 2021, 476 (8) : 2999-3007.
- [25] Xu YW, Ou NJ, Song YX, et al. Seminal plasma miR-210-3p induces spermatogenic cell apoptosis by activating caspase-3 in patients with varicocele [J]. *Asian J Androl*, 2020, 22 (5) : 513-518.
- [26] Xu F, Wu H, Xiong J, et al. Long Non-coding RNA DLEU2L targets miR-210-3p to suppress gemcitabine resistance in pancreatic cancer cells via BRCA2 regulation [J]. *Front Mol Biosci*, 2021, 8: 645365.

(收稿:2022-03-15 修回:2022-06-20)
(同行评议专家:秦宏敏 李丹)
(本文编辑:宁桦)

· 读者 · 作者 · 编者 ·

编辑部搬迁公告

因工作调整,《中国矫形外科杂志》编辑部已于近日由山东第一医科大学第二附属医院搬迁回山东省泰安市环山路217-1号中国融通医疗泰安八十八医院,所有其他联系方式不变,给您带来的不便敬请谅解。感谢您的支持!

《中国矫形外科杂志》编辑部
2022年11月