

· 基础研究 ·

lncRNA在骨质疏松中作用的初步研究

李北辰¹,徐芳蓉²,杨崇正¹,刘 衡¹,孙 强^{1*}¹南京医科大学附属南京医院脊柱外科,江苏 南京 210006;²南京医科大学人体解剖学系,江苏 南京 211166

[摘要] **目的:**探究原发性骨质疏松(osteoporosis, OP)中差异基因及lncRNA RAD51-AS1的作用,为原发性骨质疏松的诊断及治疗提供新思路。**方法:**利用GEO(Gene Expression Omnibus)数据库中的GSE35956芯片数据进行分析,使用DESeq2对mRNA进行差异分析获得差异基因(differentially expressed gene, DEG),使用ClusterProfiler对差异分析的基因进行富集分析;随后对芯片进行长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA)重注释以发掘差异lncRNA,运用实时定量PCR(qRT-PCR)对正常人及骨质疏松患者的骨髓间充质干细胞(human bone marrow mesenchymal stem cell, hBMSC)进行表达量验证。最后用MTT、克隆形成和ALP染色观察RAD51-AS1对hBMSC增殖及成骨分化的影响。**结果:**共获得关于mRNA的1440个DEG,其功能主要富集于受体配体活性和单核细胞分化等过程。同时也获得关于lncRNA的105个DEG,发现RAD51-AS1在骨质疏松患者中表达显著下调。沉默RAD51-AS1后发现hBMSC的增殖减少和ALP活性下降。**结论:**PI3K-Akt信号转导途径和单核细胞分化在骨质疏松中发挥重要作用。lncRNA RAD51-AS1可以调节骨髓间充质干细胞增殖及分化,以缓解骨质疏松进程。

[关键词] 骨质疏松;生物信息学;长链非编码RNA;RAD51-AS1**[中图分类号]** R681**[文献标志码]** A**[文章编号]** 1007-4368(2022)08-1100-07**doi:** 10.7655/NYDXBNS20220808

Preliminary study on the role of lncRNA in osteoporosis

LI Beichen¹, XU Fangrong², YANG Chongzheng¹, LIU Heng¹, SUN Qiang^{1*}¹Department of Orthopedics, Nanjing Hospital Affiliated to Nanjing Medical University, Nanjing 210006; ²Department of Human Anatomy, Nanjing Medical University, Nanjing 211166, China

[Abstract] **Objective:** To investigate the role of differential genes and lncRNA RAD51-AS1 in primary osteoporosis (OP), which provides new insights for the diagnosis and treatment of primary osteoporosis. **Methods:** The GSE35956 microarray data from the GEO database was used for analysis. Differentially expressed genes (DEG) were obtained by using the DESeq2, and the ClusterProfiler was used to find the enrichment of DEGs. The microarrays were then reannotated to discover the differential long-non coding RNA (lncRNA) in OP. The expression of RAD51-AS1 in hBMSC was verified by qRT-PCR. Finally, the effects of RAD51-AS1 on hBMSC proliferation and osteogenic differentiation were examined by MTT, colony formation, and ALP staining. **Results:** A total of 1440 DEG was obtained about mRNAs in this study, whose functions were mainly enriched in processes such as receptor-ligand activity and monocyte differentiation. A total of 105 DEG regarding lncRNAs were also acquired. We found that RAD51-AS1 expression was significantly downregulated in osteoporosis. The proliferation and ALP activity of hBMSC was reduced after silencing RAD51-AS1. **Conclusions:** The PI3K-Akt signaling pathway and monocyte differentiation plays important roles in osteoporosis by bioinformatics. lncRNA RAD51-AS1 regulates the proliferation and differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells to ameliorate the progression of osteoporosis by cytological verification.

[Key words] osteoporosis; bioinformatics; long non-coding RNA; RAD51-AS1

[J Nanjing Med Univ, 2022, 42(08): 1100-1106]

[基金项目] 南京市卫生科技发展专项资金项目(ZKX14032, ZKX19025)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: sunqiang_cn@njmu.edu.cn

骨质疏松症(osteoporosis, OP)是由于多种原因导致的骨密度和骨质量下降,骨微结构破坏,造成骨脆性增加,从而容易发生骨折的全身性疾病^[1-2]。OP引起的骨折人数的增加及其相关发病率给公共卫生服务行业带来了沉重负担^[2-3]。因此,寻找有效的OP预防和治疗策略,在目前仍是一个关键问题。

在多种因素的调节下,骨形成和骨吸收的过程保持动态平衡,以维持骨内环境的稳态。一方面,众多信号通路参与到骨平衡中,如Wnt/ β -FGF、PI3K-Akt及BMPs/Smads等信号通路。另一方面,非编码RNA的表观遗传调节也在骨平衡中发挥重要作用。长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA)参与各种人类疾病的生物学过程^[4-5]。lncRNA在表观遗传学、转录以及转录后水平广泛参与,可以顺式或反式作用的方式调节组蛋白修饰、染色质重塑、蛋白质功能活性及RNA代谢^[6-7]。所以,发掘出关键的信号通路和有意义的lncRNA,可以为诊断和治疗OP提供新视角。

本课题组通过利用GEO数据库,对GSE35956基因芯片进行分析,使用富集分析和lncRNA重注释的方法,发掘出其中关键的信号通路和lncRNA RAD51-AS1。而且,通过细胞学实验验证RAD51-AS1促进增殖及成骨的能力,对RAD51-AS1改善OP进行了初步研究,为未来OP的诊治提供新思路^[8]。

1 材料和方法

1.1 材料

骨髓间充质干细胞从正常人及确诊OP的志愿者的骨髓血提取。所有的骨髓血取下后立即置于完全培养基中,并及时提取其中骨髓间充质干细胞,培养至第2代后提取样本的总RNA。本课题研究通过了南京医科大学附属南京医院伦理委员会的同意,并得到了所有取样患者的知情同意。

培养细胞的 α -MEM培养基、TRIzol试剂及转染试剂Lipofectamine 3000(Invitrogen公司,美国);UltraGRO(上海Helios BioScience公司);逆转录及实时定量PCR试剂盒(南京诺唯赞公司);lncRNA RAD51-AS1的Smart Silencer(广州锐博公司);MTT(Biofrox公司,德国);ALP染色试剂盒(上海碧云天公司)。

1.2 方法

1.2.1 lncRNA重注释及生物信息学分析

GSE35956数据集使用了Affymetrix HG-U133Plus 2.0微阵列,包括54 675个探针组。根据既往文献,对基因芯片进行lncRNA重注释,以确定

映射到lncRNA的探针集。首先,从Affymetrix网站下载了HG-U133 Plus 2.0微阵列探针注释,以过滤具有Refseq ID的探针集,标记为“NR_”或“XR_”。第二,将GSE35956矩阵与上述文件中的探针ID结合起来。第三,利用Genecode数据库将步骤2文件与有基因名的注释文件相结合。最后,总共选择了特定的1 228个有注释的lncRNA转录物和相应的Affymetrix探针ID^[9]。微阵列分析GSE35956原始数据从GEO数据库下载(GSE35956)。数据微阵列的背景校正和归一化由R语言的AffyR包处理。此外,在归一化表达的基础上,用R软件生成特异的1 228个lncRNA表达矩阵。mRNA和lncRNA差异基因表达分析由DESeq2 R包进行。使用ggplot R软件包在dif-lncRNA上绘制火山图。使用ClusterProfiler对mRNA差异分析的基因进行富集分析。

1.2.2 细胞提取和培养

从骨髓中吸取骨髓血后立即加入无菌的 α -MEM进行运输。无菌条件下使用密度梯度离心法分离出人骨髓间质干细胞。人骨髓间充质干细胞需要培养在含有5% UltraGRO的 α -MEM培养基中,贴壁生长;同时根据需求是否添加双抗(100 mg/L链霉素和100 U/mL)。细胞常规培养在含有5% CO₂的37 °C恒温培养箱中,每3~4 d更换新的培养基,当培养皿中细胞融合度达到80%~90%时,按1:2或1:3的比例进行细胞传代。后续使用正常人的骨髓间充质干细胞继续功能试验。

1.2.3 实时定量PCR

提取骨髓间充质干细胞的总RNA,根据国家生物信息中心(National Center for Biotechnology Information, NCBI)提供的基因序列,设计并合成lncRNA RAD51-AS1和内参ACT- β 的引物。RAD51-AS1上游引物:5'-TGATCCTGCGCGAGTTTACA-3',下游引物:5'-ATGCATGCCGGGAGATGTAG-3';ACT- β 上游引物:5'-TCTCCCAAGTCCACACAGG-3',下游引物:5'-GGCACGAAGGCTCATCA-3'。实时荧光定量PCR反应体系20 μ L,其中包括:ddH₂O 7.2 μ L、上游引物(10 μ mol/L)0.4 μ L、下游引物(10 μ mol/L)0.4 μ L、SYBR Green 10.0 μ L及模板cDNA 2.0 μ L,每个样本设置2~3个复孔。反应条件:第1阶段对cDNA进行预变性,在PCR中95 °C, 30 s;第2阶段进行循环反应进行扩增,在95 °C下10 s, 60 °C下30 s,循环40次;最后阶段对最终产物进行熔解曲线测量,95 °C下15 s, 60 °C下60 s和95 °C下15 s。基因表达分析是通过2^{- $\Delta\Delta$ CT}方法计算的。

1.2.4 细胞转染

lncRNA RAD51-AS1的 Smart Silencer以用于干扰RAD51-AS的表达,其中使用无酶超纯水对RNA干粉进行稀释。Lipofectamine 3000和100 nmol/L的 Smart Silencer在1个试管中孵化,转染15 min。转染6~8 h后,更换新的细胞完全生长培养基,待培养至24~72 h后进行后续实验。

1.2.5 MTT实验

①将转染24~36 h的细胞消化下并计数,每孔3 000个细胞;②待细胞贴壁完全后,每孔加入浓度为5 mg/mL的MTT工作液20 μ L,37 $^{\circ}$ C孵育4 h;③加入DMSO溶解所形成的紫色结晶,使用酶标仪测得每孔在490 nm处的吸光度值,分析不同处理的条件培养基对细胞活力和生长的影响;④连续测量5 d吸光度,进行结果分析。

1.2.6 克隆形成实验

取对数生长期的各组细胞,分别用0.25%胰蛋白酶消化并吹打成单个细胞,并把细胞悬浮在完全培养液中备用。将细胞悬液稀释,每组细胞分别以1 500个/孔接种在含2 mL 37 $^{\circ}$ C预温培养液的6孔板中,并轻轻转动,使细胞分散均匀。置37 $^{\circ}$ C 5% CO₂及饱和湿度的细胞培养箱中培养2周。经常观察,当培养皿中出现肉眼可见的克隆时,终止培养。弃去上清液,用PBS小心浸洗2次。加4%多聚甲醛固定细胞15 min。然后去固定液,加适量结晶紫染液染20~30 min,然后用PBS洗去染色液,空气干燥。将大皿倒置并叠加一张带网格的透明胶片,用肉眼直接计数克隆,或在显微镜(低倍镜)计数>10个细胞的克隆数。最后计算克隆形成率。

1.2.7 诱导成骨分化

为了进行成骨细胞分化,hBMSC在成骨细胞分化培养基(α -MEM,含5% UltraGRO、1 μ mol/L地塞米松、10 mmol/L β -甘油磷酸酯、50 μ mol/L抗坏血酸、100 U/mL青霉素和100 U/mL链霉素)中培养0~7 d。每3 d更换1次培养基。

1.2.8 ALP染色实验

在成骨诱导第5天进行ALP染色。用4%多聚甲醛固定细胞30 min,用PBS洗2~3次,然后与适量的BCIP/NBT染色液混合,对hBMSC进行染色。将hBMSC在室温下染色20~30 min,观察其染色程度达到预期后,除去工作液,用ddH₂O清洗2次以停止反应。

1.3 统计学方法

实验数据皆用SPSS17.0软件分析,每个涉及细

胞的实验都至少重复3次。所有数据以平均值 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。组间差异用双尾 Student's *t* 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 筛选差异基因(differentially expressed gene, DEG)和富集分析

本研究中,从GEO数据库(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/query/acc.cgi?acc=GSE35956>)下载表达矩阵。利用其原发性OP的基因芯片,整理得到5例正常人及5例原发性OP患者,且年龄较为相近。随后对芯片数据进行处理,使用DEseq2且根据 $|\log_2$ Fold Changel > 1 , $P < 0.05$ 的条件下,筛选出1 440个DEG,其中1 161个上调DEG,279个下调DEG(图1A)。

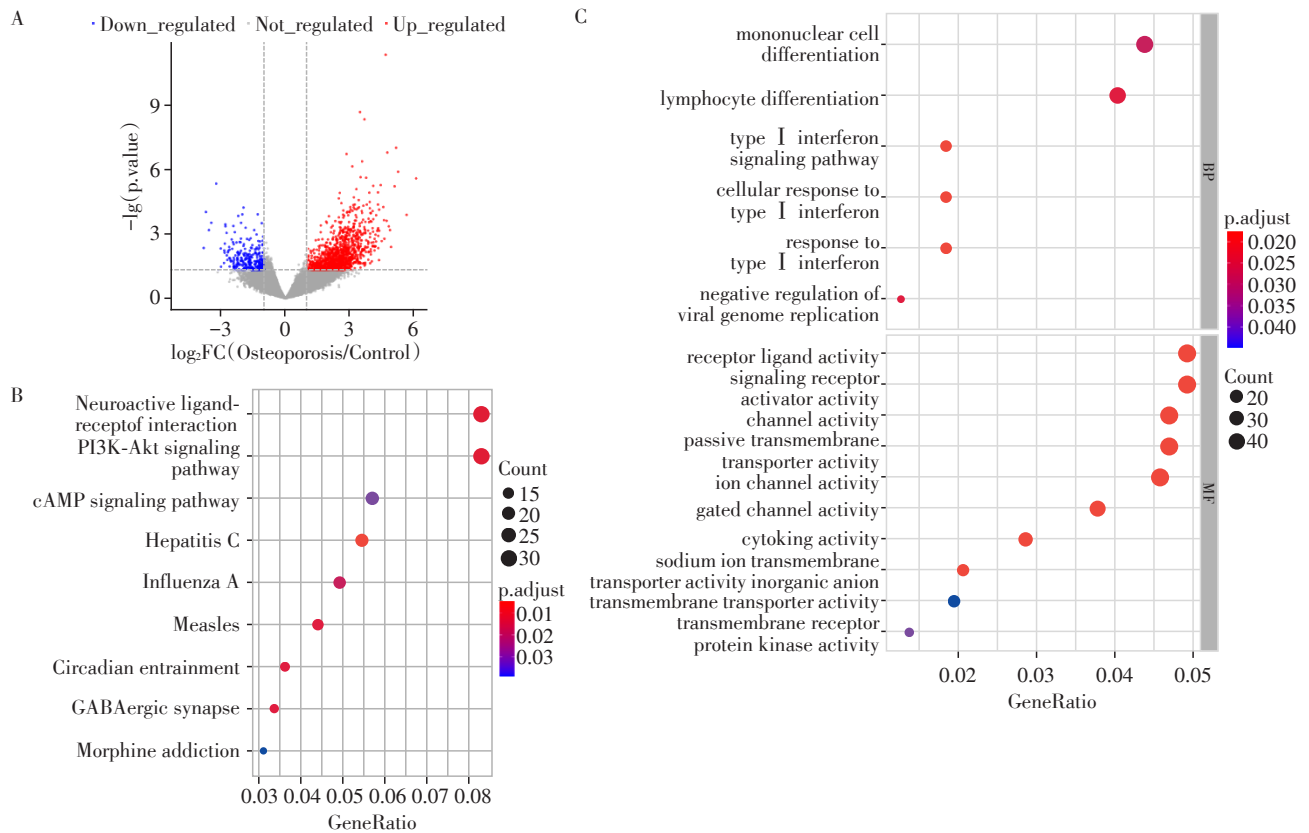
根据京都基因与基因组百科全书(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG)数据库和基因本体论(gene ontology, GO)分析的结果,本研究以 $P_{\text{调整}} < 0.05$ 为筛选条件,并按照富集于此通路的DEG计数值从大到小排列。KEGG结果显示,这些DEG主要富集于神经活性配体与受体的相互作用、PI3K-Akt信号转导途径及cAMP信号转导途径等(图1B)。而在GO分析的生物学过程(biological process, BP)中,这些DEG主要参与单核细胞分化、淋巴细胞分化、I型干扰素信号转导通路、细胞对I型干扰素的响应、对I型干扰素的响应和对病毒基因组复制的负向调节;从分子功能上看,这些DEG主要涉及受体配体活性、信号受体激活剂的活性、通道活性、被动跨膜转运器活性、离子通道活性、门控通道活性及细胞因子活性等(图1C)。

2.2 lncRNA重注释后筛选DEG

从GEO数据库中找到GSE35956基因芯片表达矩阵,为了研究OP中差异表达的lncRNA。根据以前的论文,在GPL570平台芯片上进行了lncRNA的重新注释^[9],注释后发现了1 228个lncRNA。随即使用DEseq2对lncRNA进行差异基因分析,根据 $|\log_2$ Fold Changel > 1 , $P_{\text{调整}} < 0.05$ 的条件下,筛选出105个DEG,其中68个上调DEG,35个下调DEG(图2)。

2.3 在正常人及OP患者的hBMSC中验证RAD51-AS1的表达,并沉默RAD51-AS1的表达

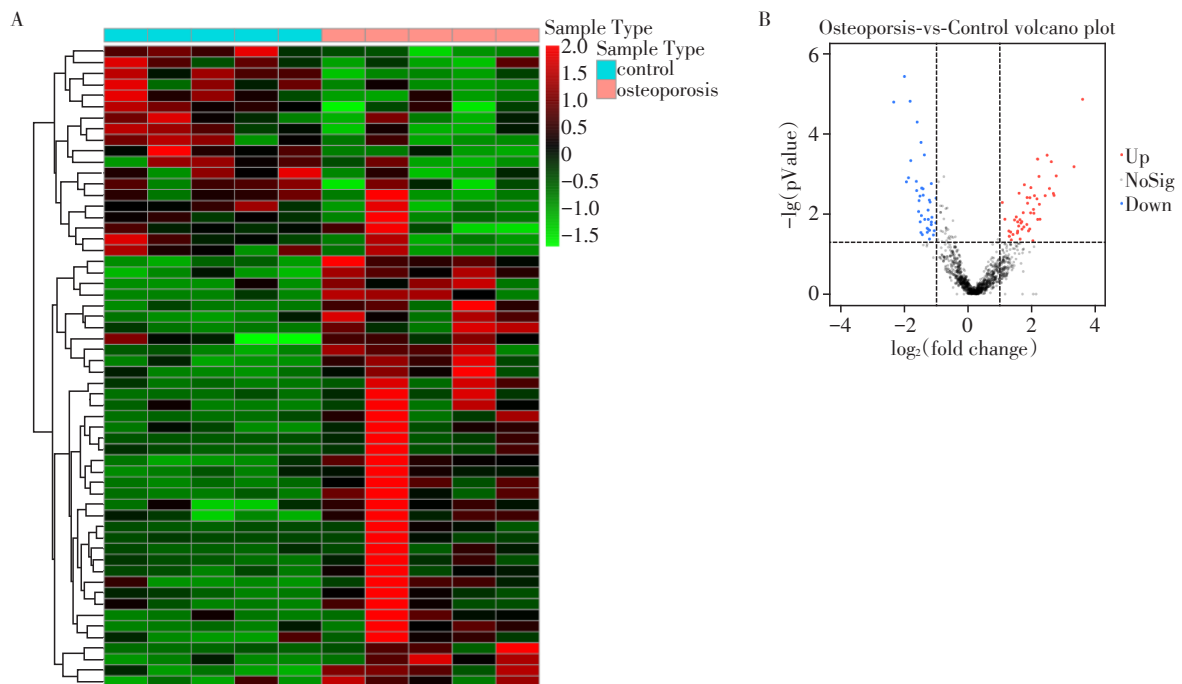
在lncRNA的DEG中,lncRNA RAD51-AS1未有过相关报道其与OP的关系。收集10例正常人及10例OP患者的骨髓血,并从中提取hBMSC验证RAD51-AS1的表达量。经过实时定量PCR验证,发



A: 根据 mRNA DEG 绘制火山图。红色圆点代表上调 DEG, 蓝色圆点代表下调 DEG; B: 与原发性骨质疏松相关 mRNA 的 DEG 的 GO 富集分析; C: 与原发性骨质疏松相关 mRNA 的 DEG 的 KEGG 富集分析。

图1 使用生物信息学方法对 GSE35956 进行分析

Figure 1 GSE35956 dataset was analyzed by using bioinformatics methods



A: 根据 lncRNA DEG 绘制基因热图; B: 根据 lncRNA DEG 绘制火山图。红色圆点代表上调 DEG, 蓝色圆点代表下调 DEG。

图2 对 GSE35956 进行 lncRNA 重注释并进行差异表达基因分析

Figure 2 LncRNA re-annotation and differential expression gene analysis for GSE35956

现 RAD51-AS1 在 hBMSC 中表达量较高,且相较于正常人的 hBMSC, lncRNA RAD51-AS1 在 OP 患者的 hBMSC 显著下调(图 3A)。

为了探究 RAD51-AS1 在 hBMSC 中的作用,使用 Smart Silencer, 其中包括 3 条小干扰和 3 条反义寡核苷酸,防止对 RAD51-AS1 的脱靶效应。通过转染,在 hBMSC 中下调 RAD51-AS1 的水平,以转染打乱序列的小干扰作为对照。同时实时定量 PCR 检测干扰效率。结果显示,转染干扰 RAD51-AS1 表达的 hBMSC, RAD51-AS1 的表达水平显著下调(图 3B),证实其对 RAD51-AS1 干扰效果显著。

2.4 沉默 RAD51-AS1 对 hBMSC 增殖的影响

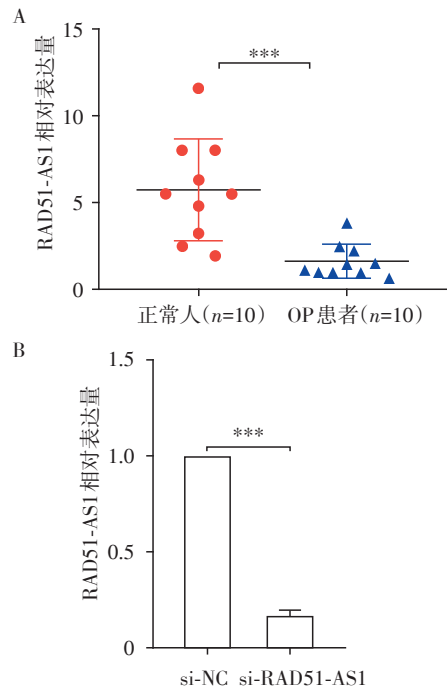
为了检测 RAD51-AS1 对 hBMSC 增殖的影响,沉默 RAD51-AS1 表达后进行了 MTT 及克隆形成实验研究 hBMSC 的增殖活力。MTT 结果显示,沉默 RAD51-AS1 后,相较于转染对照组,细胞的增殖活力明显降低(图 4A)。通过计算细胞克隆形成,发现沉默 RAD51-AS1 后, hBMSC 的克隆形成能力减弱(图 4B)。

2.5 沉默 RAD51-AS1 对 hBMSC 成骨分化的影响

为了探究 RAD51-AS1 在 hBMSC 中对成骨分化的影响,在体外使用成骨诱导液,诱导 hBMSC 成骨分化。在第 5 天的时候对其进行 ALP 染色。根据图所示,可以看出沉默 RAD51-AS1 后, ALP 的活性显著降低(图 5)。

3 讨论

本研究通过从 GEO 数据库中的基因芯片 GSE35956 进行 lncRNA 重注释和生物信息学分析,得到了 mRNA 和 lncRNA 的差异表达基因,并利用富集分析对 mRNA DEG 进行了 GO 分析和 KEGG 分析,挖掘其具体的生物过程、分子功能和信号通路,

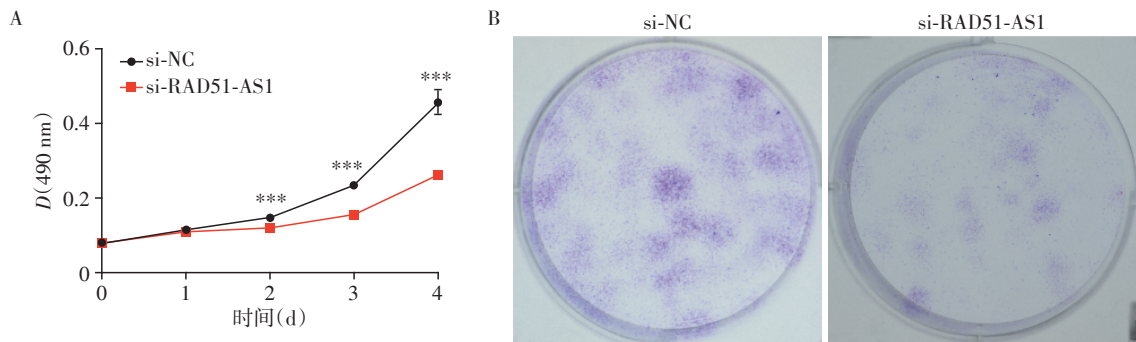


A: 10 例正常人及 10 例 OP 患者的骨髓间充质干细胞中 RAD51-AS1 的表达情况; B: 在骨髓间充质干细胞中沉默 RAD51-AS1 的表达。两组比较, *** $P < 0.001$ 。

图 3 RAD51-AS1 在骨髓间充质干细胞的表达及差异
Figure 3 The expression and differences of RAD51-AS1 in hBMSC

发现 PI3K-Akt 及 cAMP 信号通路在骨质疏松中的发挥中重要作用。通过对差异表达的 lncRNA 进行筛选,发现 lncRNA RAD51-AS1 在骨质疏松患者中显著下调,并使用体外实验,发现 RAD51-AS1 对 hBMSC 的增殖及成骨分化的能力。

通过富集分析结合可以看出, PI3K-Akt 信号通路及 cAMP 信号通路在 OP 的发展中起到重要作用。既往研究显示, PI3K/Akt/mTOR 在控制细胞生长、增殖、生存、代谢、血管生成、转录和翻译方面发挥着关键作用。mTOR 抑制剂被证明可以积极调节破



A: MTT 实验检测沉默 RAD51-AS1 后对骨髓间充质干细胞增殖活力的影响; B: 平板克隆形成实验检测沉默 RAD51-AS1 后对骨髓间充质干细胞增殖的影响。

图 4 沉默 RAD51-AS1 影响骨髓间充质干细胞的增殖能力
Figure 4 Silencing of RAD51-AS1 affects the proliferative ability of hBMSC

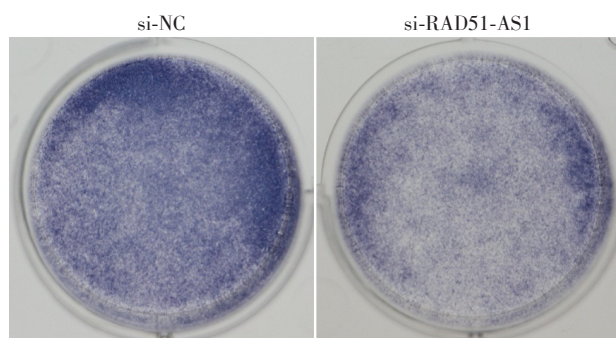


图5 ALP染色检测沉默RAD51-AS1对骨髓间充质干细胞成骨分化的影响

Figure 5 ALP staining detects the effect of silencing RAD51-AS1 on osteogenic differentiation of hBMSC

骨细胞的生成,增加肿瘤小鼠的骨量^[10]。同时,PI3K/Akt 信号通路促进人骨髓间充质干细胞成骨分化,增强hBMSC在骨再生中的治疗作用^[11-12]。不仅如此,PI3K/Akt/mTOR 信号通路还与经典 Wnt/ β -catenin 信号通路和 RANK/RANKL 信号通路等多种分子信号通路相互作用,从而参与维持骨稳态。cAMP 信号通路主要通过调节盐诱导激酶(salt-inducible kinase, SIK)发挥调节骨代谢的作用。研究提出,通过cAMP 调节抑制 SIK 是 PTH1R 在骨骼发育和重塑中作用的核心,导致在成骨细胞和骨细胞中,骨量显著增加^[13]。以上研究证明,PI3K-Akt 及 cAMP 信号通路在促进成骨和抑制破骨的过程中发挥积极作用,能够有效改善 OP 的进程。所以,未来可以针对 PI3K-Akt 及 cAMP 信号通路进行深入研究,继续探讨其在 OP 的诊断及治疗价值,对于未来进一步研发新的抗 OP 药物尤为重要。

hBMSC 作为成骨细胞的来源,其增殖和成骨活性活性的降低或抑制是诱导 OP 症患者骨丢失的主要因素^[14-15]。lncRNA 可以通过调节 hBMSC 的各方面功能,从而影响 OP 的进程^[16]。同时,lncRNA RAD51-AS1 目前已经被证实参与多种肿瘤疾病的发展,如上皮性卵巢癌和结直肠癌等^[17-18]。不仅如此,RAD51-AS1 可以通过影响 RAD51 的活性,影响同源重组(HR)和 DNA 双链断裂(DSB)修复,导致基因组不稳定和肿瘤发展^[19]。然而,RAD51-AS1 是否能够通过调节 hBMSC 的增殖和分化改善 OP,对此尚不明确。本研究发现,lncRNA RAD51-AS1 在 OP 患者中显著下调。同时,通过 MTT 和克隆形成实验发现,在沉默 RAD51-AS1 后 hBMSC 的增殖能力显著下降。在对 hBMSC 进行体外诱导成骨分化培养,发现沉默 RAD51-AS1 后 hBMSC 的 ALP 活

性显著下降。但是未来仍需要构建干扰或过表达 RAD51-AS1 的慢病毒载体,通过长期稳定影响 RAD51-AS1 的表达后,完善茜素红实验及体内异位成骨实验,更好地阐明 RAD51-AS1 对成骨分化的影响。

综上,本研究首次证实 RAD51-AS1 在 OP 患者的 hBMSC 中显著下调,并发现了 RAD51-AS1 在 hBMSC 中促进增殖及成骨分化的能力。未来仍需要对 RAD51-AS1 影响成骨和成脂分化的平衡进行深入研究,探讨并发现 RAD51-AS1 在改善 OP 中的具体作用机制。同时,仍需要继续收集并扩大临床样本量,进一步验证 RAD51-AS1 作为 OP 的在诊断中所发挥的重要作用,为治疗 OP 提供更好的理论基础和实验支持。

[参考文献]

- [1] YANG T L, SHEN H, LIU A Q, et al. A road map for understanding molecular and genetic determinants of osteoporosis[J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2020, 16(2):91-103
- [2] COMPSTON J E, MCCLUNG M R, LESLIE W D. Osteoporosis[J]. *Lancet*, 2019, 393(10169):364-376
- [3] LIZNEVA D, YUEN T, SUN L, et al. Emerging concepts in the epidemiology, pathophysiology, and clinical care of osteoporosis across the menopausal transition [J]. *Matrix Biol*, 2018, 71-72:70-81
- [4] YAO R W, WANG Y, CHEN L L. Cellular functions of long noncoding RNAs [J]. *Nat Cell Biol*, 2019, 21(5):542-551
- [5] 刘易昕,何强,张大鹏,等. 大鼠骨质疏松模型的建立及其骨髓间充质干细胞内差异 lncRNA 初步分析[J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2022, 42(1):30-34, 46
- [6] XU F, LI W, YANG X, et al. The roles of epigenetics regulation in bone metabolism and osteoporosis [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2020, 8:619301
- [7] DEOGHARIA M, GURHA P. The “guiding” principles of noncoding RNA function [J]. *Wiley Interdiscip Rev RNA*, 2021:e1704
- [8] MERCER T R, MUNRO T, MATTICK J S. The potential of long noncoding RNA therapies [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2022, 43(4):269-280
- [9] ZHANG X, SUN S, PU J K, et al. Long non-coding RNA expression profiles predict clinical phenotypes in glioma [J]. *Neurobiol Dis*, 2012, 48(1):1-8
- [10] IRELLI A, SIRUFO M M, SCIPIONI T, et al. mTOR links tumor immunity and bone metabolism: what are the clinical implications? [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(23):5841
- [11] YANG A, LU Y, XING J, et al. IL-8 enhances therapeutic effects of BMS on bone regeneration via CXCR2-mediated

- ed PI3k/Akt signaling pathway[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 48(1):361-370
- [12] YE C, ZHANG W, HANG K, et al. Extracellular IL-37 promotes osteogenic differentiation of human bone marrow mesenchymal stem cells via activation of the PI3K/AKT signaling pathway [J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10(10):753
- [13] NISHIMORI S, O'MEARA M J, CASTRO C D, et al. Salt-inducible kinases dictate parathyroid hormone 1 receptor action in bone development and remodeling[J]. *J Clin Invest*, 2019, 129(12):5187-203
- [14] WANG Y, DENG P, LIU Y, et al. Alpha-ketoglutarate ameliorates age-related osteoporosis via regulating histone methylations[J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1):5596
- [15] ZHENG J, GUO H, QIN Y, et al. SNHG5/miR-582-5p/RUNX3 feedback loop regulates osteogenic differentiation and apoptosis of bone marrow mesenchymal stem cells[J]. *J Cell Physiol*, 2020, doi: 10.1002/jcp.29527
- [16] XIE Z Y, WANG P, WU Y F, et al. Long non-coding RNA: the functional regulator of mesenchymal stem cells [J]. *World J Stem Cells*, 2019, 11(3):167-179
- [17] ZHANG X, LIU G, QIU J, et al. E2F1-regulated long non-coding RNARAD51-AS1 promotes cell cycle progression, inhibits apoptosis and predicts poor prognosis in epithelial ovarian cancer[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1):4469
- [18] LI C, WANG P, DU J, et al. LncRNA RAD51-AS1/miR-29b/c-3p/NDRG2 crosstalk repressed proliferation, invasion and glycolysis of colorectal cancer[J]. *IUBMB Life*, 2021, 73(1):286-298
- [19] GAZY I, ZEEVI D A, RENBAUM P, et al. TODRA, a lncRNA at the RAD51 locus, is oppositely regulated to RAD51, and enhances RAD51-dependent DSB (double strand break) repair [J]. *PLoS One*, 2015, 10(7):e0134120

[收稿日期] 2022-03-29

(本文编辑:唐震)

(上接第1092页)

- [9] XIONG Y, ZHOU L. The signaling of cellular senescence in diabetic nephropathy[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2019, 2019:7495629
- [10] 刘苏, 徐巍龙, 查敏, 等. miR-296-5p在糖尿病肾病db/db小鼠血浆外泌体中的表达及功能[J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2022, 42(1):14-22
- [11] ZHAO X, CHEN Y, TAN X, et al. Advanced glycation end-products suppress autophagic flux in podocytes by activating mammalian target of rapamycin and inhibiting nuclear translocation of transcription factor EB[J]. *J Pathol*, 2018, 245(2):235-248
- [12] BAO L, CAI X, DAI X, et al. Grape seed proanthocyanidin extracts ameliorate podocyte injury by activating peroxisome proliferator-activated receptor- γ coactivator 1 α in low-dose streptozotocin-and high-carbohydrate/high-fat diet-induced diabetic rats[J]. *Food Funct*, 2014, 5(8):1872-1880
- [13] MATOBA K, TAKEDA Y, NAGAI Y, et al. Unraveling the role of inflammation in the pathogenesis of diabetic kidney disease[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(14):3393
- [14] MOHANY M, ALANAZI A Z, ALQAHTANI F, et al. LCZ696 mitigates diabetic-induced nephropathy through inhibiting oxidative stress, NF-kappaB mediated inflammation and glomerulosclerosis in rats[J]. *Peer J*, 2020, 8:e9196
- [15] NAKANO Y, UCHIYAMA M, ARIMA T, et al. PPAR α agonist suppresses inflammation after corneal alkali burn by suppressing proinflammatory cytokines, MCP-1, and nuclear translocation of NF- κ B[J]. *Molecules*, 2018, 24(1):114
- [16] YOON J W, PAHL M V, VAZIRI N D. Spontaneous leukocyte activation and oxygen-free radical generation in end-stage renal disease[J]. *Kidney Int*, 2007, 71(2):167-172
- [17] HILLMER E J, ZHANG H, LI H S, et al. STAT3 signaling in immunity[J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2016, 31:1-15
- [18] SAID E, ZAITONE S A, ELDOSOKY M, et al. Nifuroxazide, a STAT3 inhibitor, mitigates inflammatory burden and protects against diabetes-induced nephropathy in rats[J]. *Chem Biol Interact*, 2018, 281:111-120

[收稿日期] 2022-01-27

(本文编辑:唐震)