

文章编号: 1004-7220(2023)04-0844-07

# 力学刺激通过 microRNA 调控骨重建的研究进展

孙林, 严孟宁

(上海交通大学医学院附属第九人民医院 骨科, 上海市骨科内植物重点实验室, 上海 200011)

**摘要:** 骨骼结构完整性和骨量的维持需要一定的力学刺激。研究表明, 力学刺激可通过调控多种调节因子(例如激素、转录因子和信号分子等)参与骨重建过程。力学刺激可以通过调控微小 RNA (microRNA, miRNA) 表达在骨重建过程中起着至关重要的作用。然而, 受力学刺激调控的 miRNA 在骨重建过程中的作用和机制尚不完全清楚。本文综述受力学刺激调控的 miRNA 在骨重建过程中的作用及其机制, 并强调其在治疗骨质疏松中的潜在应用。

**关键词:** 骨重建; 微小 RNA; 骨质疏松; 力学刺激; 力学敏感性

中图分类号: R 318.01 文献标志码: A

DOI: 10.16156/j.1004-7220.2023.04.031

## Research Progress in Mechanical Stimulation Regulating Bone Remodeling Through MicroRNA

SUN Lin, YAN Mengning

(Shanghai Key Laboratory of Orthopaedic Implants, Department of Orthopaedic Surgery, Shanghai Ninth People's Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200011, China)

**Abstract:** The maintenance of bone structure integrity and bone mass requires a certain amount of mechanical stimulation. Studies have shown that mechanical stimulation can participate in bone remodeling processes by regulating various regulatory factors such as hormones, transcription factors, and signaling molecules. Mechanical stimulation plays a crucial role in bone remodeling by regulating the expression of microRNAs (miRNAs). However, the role and mechanism of miRNAs regulated by mechanical stimuli in bone remodeling are not fully understood. This review summarized the role and mechanism of miRNAs regulated by mechanical stimuli in bone remodeling, and their potential applications in the treatment of osteoporosis were emphasized as well.

**Key words:** bone remodeling; microRNAs (microRNA); osteoporosis; mechanical stimulation; mechanical sensitivity

骨质疏松症是一种常见的骨骼退行性疾病。随着人口老龄化日益加剧, 骨质疏松症的发病率不断增加, 已成为全球性的重大公共卫生问题<sup>[1]</sup>。骨质疏松主要由破骨细胞活性增强引起的骨吸收增加和成骨细胞活性降低所致的骨形成降低引起。其主要特征是骨微结构改变和全身性骨量减少, 引

起骨强度下降并导致骨折风险增加。骨质疏松性骨折导致的残疾严重降低了患者的生活质量, 给社会造成了巨大的经济负担<sup>[2]</sup>。药物治疗虽然在一定程度上可以缓解骨量的丢失, 但不可避免地存在副作用<sup>[3]</sup>。研究表明, 力学刺激可以增加骨量及骨密度, 改善骨结构及其生物力学性能<sup>[4]</sup>。然而, 力

收稿日期: 2023-07-20; 修回日期: 2023-08-10

基金项目: 国家自然科学基金项目(12272232)

通信作者: 严孟宁, 主任医师, E-mail: yanmengning@163.com

学刺激促进骨形成的确切机制尚不清楚。体外研究表明,力学刺激可以通过促进成骨细胞的增殖和分化,抑制破骨细胞骨吸收功能,从而改善骨重建<sup>[5]</sup>。

最近研究发现,微小 RNA (microRNA, miRNA) 在骨重建的调控中发挥重要作用。miRNA 是一种短链非编码 RNA,其通过特异性结合 mRNA 的 3' 非翻译区(3' untranslated region, 3' UTR)的互补序列,抑制蛋白质翻译,调控基因表达,从而调节细胞的生理学过程。近些年有研究报道,一些 miRNA 对力学刺激敏感,力学刺激可引起骨髓间充质干细胞 (bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs) 和成骨细胞中 miRNA 发生显著变化,提示对力学敏感的 miRNA 可能是力学刺激调节骨形成的主要机制之一<sup>[6]</sup>。在本文中,随着力学刺激施加而表达量发生改变的 miRNA 被定义为“力学敏感性 miRNA”<sup>[7]</sup>。然而,力学敏感性 miRNA 影响骨重建过程的机制尚不清楚。为进一步研究力学敏感性 miRNA 在调控骨重建中的作用,本文对力学敏感性 miRNA 表达及其在力学环境中调控成骨细胞、骨细胞及促进骨重建的作用及其机制进行综述。

## 1 miRNA 的产生及作用

miRNA 的产生是一个从细胞核开始的分步过程。miRNA 基因位于蛋白质编码基因和非编码 RNA (non-coding RNAs, ncRNA) 的内含子、基因间区或非编码 mRNA 样 RNA (mRNA-like noncoding RNAs, mlncRNAs) 外显子区。随着 RNA 聚合酶 II (RNA Polymerase II) 对 miRNA 基因的转录,可在细胞核中产生初级 miRNA (primary miRNA, pri-miRNA)。

pri-miRNA 是一种具有单个或多个茎环结构的长 RNA,其中含有 miRNA 的片段。在经典途径中, pri-miRNA 在细胞核中被 1 个包含 Drosha 的蛋白复合物切割, Drosha 是一种高度保守的 III 型 RNA 酶,其辅助因子为 DiGeorge 综合征染色体区域 8 (DiGeorge syndrome chromosomal region 8, DGCR8)。剪切反应产生了一种长度为 70-100 bp 的发卡结构,称之为 miRNA 前体 (precursor miRNA, pre-miRNA),在其 3' 端有 2 个核苷酸的外延结构。随后 pre-miRNA 结合 RNA-CTP 并被 Exportin 5 结合转运至细胞质。胞质中另一种 III 型 RNA 酶 Dicer

在其辅助因子反式激活应答 RNA 结合蛋白 (transactivation-response RNA-binding protein, TRBP) 和核心成分 Argonaute-2 (Ago2) 的协同下对 pre-miRNA 进行处理。这个过程的结果产生了 1 条由 22 个核苷酸组成的 miRNA 双链,一条链是成熟的 miRNA 单链,另一条链是会在随后过程中降解的乘客链 (passenger strand)。随后,成熟的 miRNA 被整合到效应 RNA 诱导的沉默复合体中 (RNA-induced silencing complex, RISC),从而发挥生理效应<sup>[8]</sup>。

有一类名为“mirtrons”的 miRNA,源于短内含子发夹通过一个替代途径进行合成,这个途径可以绕过 Drosha 的裂解,但依然需要剪接体系和套索去分支酶的作用。Mirtrons 这种 miRNA 利用重新加入核内经典 miRNA 的合成途径完成出核过程<sup>[9]</sup>。miRNA 通过 RISC 实现与靶 mRNA 的 3' 非翻译区 (3' UTR) 结合,从而诱导基因沉默:若两者碱基对是完全互补的,则靶 mRNA 在失活后将会被切割或降解;若两者碱基对仅部分互补时,则会抑制翻译<sup>[10]</sup>。miRNA 的产生及作用机制如图 1 所示。

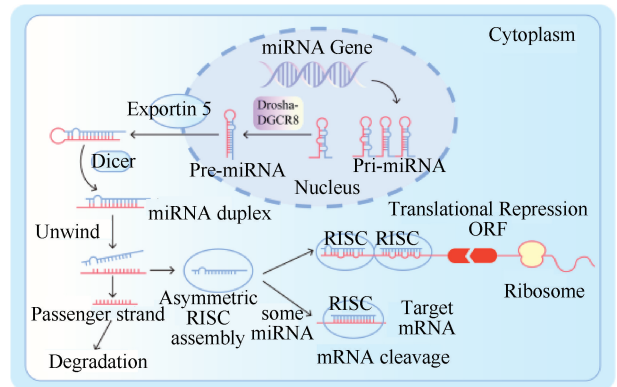


图 1 miRNA 的产生及作用

Fig. 1 Production and function of miRNA

研究表明,miRNA 在包括骨重建在内的多种生物学过程中发挥重要作用。miRNA 在骨形成中的重要性已通过成骨细胞特异性敲除 Dicer 得到证实。Dicer 是 miRNA 生物合成所必需的。敲除 Dicer 产生了骨矿化延迟的围产期表型,并随后增加了出生后小鼠的骨形成。此外,破骨细胞中 Dicer 的缺失不仅减少了破骨细胞的数量和体积,而且抑制了体内矿物质沉积率 (mineral apposition rate,

MAR)和骨形成率(bone formation rate, BFR)<sup>[7]</sup>。越来越多的证据表明,miRNA参与了不同组织和细胞对于各种力学刺激的细胞生物学过程。最近的研究发现,一些力学敏感性的miRNA对于成骨细胞和骨细胞的调控以及体内骨重建过程发挥着重要作用。

## 2 力学敏感性 miRNA 对骨重建影响

骨重建高度依赖于力学刺激,在长时间卧床休息或航天飞行期间微重力的条件下,运动员的骨量增加和航天员的骨丢失证明了这一点。力学刺激主要通过增加成骨细胞数量,促进其活性,上调其募集,从而刺激骨形成,增加骨量。相反,缺乏力学刺激通过抑制骨形成和促进破骨细胞生成及随后的骨吸收降低骨量。传统上,骨细胞和成骨细胞被认为是负责感知力学刺激的细胞,它们在骨重建中的作用已被广泛报道,而力学刺激对破骨细胞影响报道较少,破骨细胞对力学刺激的响应机制尚不完全清楚<sup>[11]</sup>。因此,本文主要综述力学敏感性miRNA调控成骨细胞和骨细胞对骨重建的影响。

### 2.1 力学敏感性 miRNA 与成骨细胞

力学敏感性miRNA表达随着力学刺激变化而改变,进而影响成骨分化。经过牵张应变刺激的MC3T3-E1细胞miRNA微阵列(miRNA microarray)数据表明,miR-3077-5P、miR-3090-5p、miR-3103-5p、miR-191以及miR-3070a显著上调;相比之下,miR-466i-3p、miR-466h-3p、miR-218以及miR-33下调。同时,在力学刺激组可以上调碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP), osterix, 骨钙素(osteocalcin, Ocn), Runt相关的转录因子2(Runt-related transcription factor 2, Runx2)的mRNA水平,同时骨形态发生蛋白-2(bone morphogenetic protein-2, BMP-2)和BMP-4的蛋白质水平也会随之升高<sup>[12]</sup>。此外,靶基因分析表明,这些力学敏感性miRNA可能参与成骨分化。研究表明,在力学卸载的情况下,成骨细胞中miR-138-5P表达上调,成骨分化能力下降。双荧光素酶报告实验证实,miR-138-5p通过靶向微管肌动蛋白交联因子1(microtubule actin crosslinking factor 1, MACF1)从而抑制成骨细胞分化<sup>[13]</sup>。

在牙周韧带干细胞(periodontal ligament stem cells, PDLSCs)的全基因组miRNA表达谱中,在牵

张应变刺激下,miR-1246、miR-5096、miR-638、miR-663、miR-21、miR-4492和miR-4734的表达增加,而miR-3195、miR-4281以及miR3178表达降低。而在牙周韧带细胞(periodontal ligament cells, PDLCS)研究中,在牵张应变刺激72h后,PDLCS表达miR-195-5P、miR-424-5P、miR-1297、miR-3607-5P、miR-145-5p、miR-4328和miR-224-5p显著降低。流体剪切应力(fluid shear stress, FSS)可促进MC3T3-E1成骨相关基因表达,提升ALP活性以及促进矿化,与此同时,也伴随着MC3T3-E1细胞中miR-20a、miR-21、miR-19b、miR-34a、miR-140和miR-200b表达的下调<sup>[14]</sup>。

如前所述,有一些力学敏感性miRNA可促进成骨分化。为了进一步探究力学敏感性miR-21对于拉伸诱导PDLSCs成骨分化的功能,Wei等<sup>[15]</sup>研究了拉伸时间与miR-21之间的相关性分析。miR-21和成骨标志基因如Runx2、OCN等的表达随着拉伸时间的延长而逐步上升。此外,miR-21的靶基因激活素受体IIB型(activin receptor type IIB, Acvr2b)部分抑制了拉伸诱导的ALP活性以及Runx2和Ocn基因的表达,提示力学敏感性miR-21通过靶向抑制Acvr2b进而促进拉伸诱导的PDLSC的成骨分化。根据报道,miR-21通过直接靶向抑制MC3T3-E1细胞中的Smad7来促进成骨分化水平并且增加基质矿化<sup>[16]</sup>。研究表明,在对MC3T3-E1进行力学拉伸的过程中,miR-33的表达会随之逐渐降低,同时miR-33-5p的敲除部分可阻止FSS诱导的成骨分化<sup>[17]</sup>。miR-33-5p不仅对于力学刺激敏感,在MC3T3-E1细胞中的力学卸载也有反应。针对miR-33-5P正向调控成骨细胞分化,Wang等<sup>[18]</sup>探讨了miR-33-5p在力学卸载情况下对于成骨细胞活性中的作用。该研究发现,miR-33-5P过表达后可部分抵消力学卸载情况下对于MC3T3-E1成骨分化的抑制作用,而作为miR-33-5p的靶基因高迁移率蛋白a2(high mobility group AT-hook 2, HMGA2)已被证实对成骨分化具有负向调控作用。

FSS也被用于研究力学刺激对于PDLCS的影响。研究发现,固定递增的FSS不仅可以调节PDLCS的增殖和分化,同时还可以上调miR-132的表达。此外,经FSS处理后,磷脂酰肌醇3-激酶(phosphatidylinositol-3 kinase, PI3K)、蛋白激酶B



(protein kinase B, PKB)、哺乳动物雷帕霉素靶标蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)和核糖体蛋白 S6 激酶(ribosomal protein S6 kinase, p70S6K)蛋白的磷酸化水平显著提高,然而加入 miR-132 抑制剂后可阻断这些蛋白的磷酸化水平。在后续研究中发现, FSS 诱导的 miR-132 上调可激活 mTOR 信号通路,促进 PDLC 成骨分化<sup>[19]</sup>。FSS 是骨组织中一种常见的力学刺激,可激活多种信号转导通路,启动成骨细胞的合成代谢反应,导致细胞增殖和分化增加。当 MC3T3-E1 细胞暴露于 FSS 时, miR-140-5p 显著下调。Wang 等<sup>[20]</sup>随后证实了上调 miR-140-5p 可抑制成骨细胞增殖,而下调 miR-140-5p 可促进成骨细胞增殖。双荧光素酶报告实验证实 VEGFA 是 miR-140-5p 的直接靶基因。此外,转染 mimic-140-5p 可抑制 FSS 诱导的 VEGFA 蛋白水平上调,提示 FSS 通过 miR-140-5p 调控 VEGFA 蛋白表达。进一步研究发现,VEGFA 可促进成骨细胞增殖。最后,该研究证明了 miR-140-5p 通过 VEGFA 调控成骨细胞增殖。

微重力(microgravity)可以抑制成骨细胞增殖,促进细胞凋亡,这与减少对骨骼的机械应力有关,导致废用性骨质疏松,但详细机制尚不清楚。Xu 等<sup>[21]</sup>证明了成骨细胞在模拟微重力条件下 miR-138-5p 表达上调,同时抑制其增殖并诱导凋亡。此外,沉默 miR-138-5p 的表达部分缓解了 miR-138-5p 对 MC3T3-E1 细胞增殖和凋亡的影响。进一步研究发现,在模拟微重力环境下,抗衰老酶 1(sirtuin 1, SIRT1)表达下调,且与 miR-138-5p 的表达呈负相关,表明 miR-138-5p 通过靶向 SIRT1 抑制成骨细胞增殖,促进成骨细胞凋亡。

Sun 等<sup>[22]</sup>研究发现力学敏感性 miR-103 在力学卸载的情况下参与了成骨细胞增殖。力学卸载可诱导 miR-103 表达增加以及 EdU (5-Ethynyl-2'-deoxyuridine) 阳性细胞数量减少,这表明 miR-103 与 MC3T3-E1 细胞增殖呈现负相关。miR-103 的靶基因 Cav1.2 (calcium voltage-gated channel) 是一种 L 型电压敏感钙离子通道,在力学卸载环境下表达会发生下调,但这一下调可以被 miR-103 抑制剂所挽救<sup>[22]</sup>。综上所述,力学刺激可通过力学敏感性 miRNA 完成对成骨细胞增殖的调控。

## 2.2 力学敏感性 miRNA 与骨细胞

骨细胞是骨骼中最丰富的细胞,占个体所有骨组织细胞的 98%。作为骨组织中的优势细胞,骨细胞响应力学刺激,感知并将力学刺激整合到生化信号中,从而调节骨形成和骨吸收。然而,骨细胞如何将力学刺激转化为生物信号,调控骨形成(成骨细胞的活性)或骨吸收(破骨细胞的活性)仍未完全阐明。最近,通过研究骨细胞对力学拉伸应变的响应,发现了一些力学敏感性 miRNA,它们在骨重建中发挥了重要作用。Zeng 等<sup>[23]</sup>通过在 0.5 Hz 频率下以 2.5 应变对小鼠 MLO-Y4 骨细胞系进行拉伸应变刺激 8 h,检测了拉伸应变组和未拉伸组的 miRNA 表达水平并进行比较。miRNA 微阵列和 qRT-PCR 结果鉴定出 10 个力学敏感性 miRNA: miR-713、miR-706、miR-703、miR-574-3p、miR-467b-3p、miR-466i-5p、miR-466f-5p 和 miR-208a-3p,与未拉伸组相比上调,miR-29b-3p 和 miR-361-3p 下调。进一步研究发现,拉伸应变组骨细胞中胰岛素样生长因子 1 (insulin-like growth factor 1, IGF-1) 表达水平升高,而 miR-29b-3p 表达水平降低,表明 miR-29b-3p 可能通过靶向 IGF-1 调控骨形成。实验结果表明,在力学响应过程中,miR-29b-3p 对成骨细胞没有直接作用,miR 通过骨细胞这一中介调节成骨细胞的分化,因为力学刺激上调了骨细胞的 miR-29b-3p,降低了 MLO-Y4 的 IGF-1 分泌。

骨和其他组织的力学敏感反应需要转化生长因子  $\beta$  (transforming growth factor beta, TGF $\beta$ ) 和 Wnt 通路通过尚未明确的机制进行协调的信号传导。Dole 等<sup>[24]</sup>对 OCY454 骨细胞中的力学敏感性 miRNA 进行全面分析,通过 small-RNAseq 鉴定了 60 个力学敏感性 miRNA,在对小鼠胫骨的体内后肢加载和 OCY454 细胞 FSS 处理后,miR-100 的表达受到抑制。尽管 FSS 在骨细胞中同时激活 TGF $\beta$  和 Wnt 信号,但只有激活 TGF $\beta$  通路才可抑制 miR-100 的表达,而 miR-100 反过来通过靶向抑制 Frizzled 受体 (FZD5/FZD8) 的表达来拮抗 Wnt 信号。因此,抑制 miR-100 的表达可抑制 FSS 和 TGF $\beta$  诱导的 Wnt 信号。因此,力学敏感性 miRNA 可通过参与调控骨细胞中的力学信号通路,实现力学信号转化为生物信号,有利于骨细胞对于力学刺激的响应。

### 3 力学敏感性 miRNA 在骨质疏松中的潜在应用

骨质疏松症的发生是由于骨重建的失调,这个过程需要骨形成的成骨细胞和骨吸收的破骨细胞。目前主要的骨质疏松治疗方法抑制破骨细胞介导的骨吸收,但由于成骨细胞介导的骨形成同时减少,治疗效果有限<sup>[25]</sup>。目前,骨质疏松症的诊断主要基于骨密度仪(DEXA)对骨量的评估<sup>[26]</sup>。然而骨质疏松症不只是骨密度值的改变,探索骨质疏松症相关生物标记物可以反映骨密度所不具备的信息,更加有效地辅助诊断及预测骨折风险,可作为疾病进展控制的参考点。力学敏感性 miRNA 作为力学刺激调控骨重建过程的重要中间介质,在临床上对于骨质疏松的诊断及治疗具有极强的应用前景。

#### 3.1 力学敏感性 miRNA 可作为治疗骨质疏松的潜在靶点

衰老和截瘫患者是骨质疏松的高发人群,这可能是由于缺乏力学负荷或体力活动从而扰乱了承重骨的稳态平衡<sup>[27]</sup>。众所周知,中老年小鼠对力学刺激的敏感性和反应性都弱于青壮年小鼠,这便导致了中老年小鼠的骨量在骨形成过程中是逐渐减少的。越来越多的研究表明,与年龄相关的 miRNA 也参与调节骨形成。miRNA-188 被鉴定为年龄相关的 miRNA,其为 BMSC 向成骨细胞和脂肪细胞分化的关键调节因子<sup>[28]</sup>。值得注意的是,在小鼠和人的 BMSC 中,miR-188 水平与不仅年龄呈正相关,同时也与骨小梁形成参数(BV/TV、Tb. N)和胫骨最大力学载荷呈负相关。随着年龄的增长,敲低小鼠体内 miR-188 后降低了骨形成和胫骨力学强度的下降速率。相反,在转基因小鼠中过表达 miR-188 后显示出骨形成和胫骨最大力学负荷的显著降低。从机制上看,miR-188 通过靶向组蛋白去乙酰化酶 9 (hystone deacetylase 9, Hdac9) 抑制 BMSCs 的成骨分化。此外,加入 miR-188 抑制剂发现可以缓解年龄诱导的骨质疏松,同时降低了股骨最大力学负荷<sup>[29]</sup>。此外,外部力学卸载可导致骨微结构的恶化,特别是在骨小梁骨室结构恶化和力学性能的减弱。研究表明,miR-103 家族在体内力学卸载情况下对骨形成起到抑制作用,给予 miR-103a 抑制剂可

部分抵消后肢去负荷引起的骨形成减少,可有效延缓骨质疏松进展<sup>[30]</sup>。

#### 3.2 力学敏感性 miRNA 可作为诊断骨质疏松的生物学标志物

力学敏感性 miRNA 有希望作为诊断骨质疏松症的生物标志物,其可在血浆和血清中稳定存在。卧床是模拟力学卸载的可靠模型, Li 等<sup>[32]</sup>测定了 16 个个体在头低位卧床 45 d 后血浆的循环 miRNA 谱。结果显示, miR-103、miR-130a、miR-1234、miR-1290、miR-151-5p、miR-151-3p、miR-148a、miR-199a-3p、miR-20a、miR-363、miR-451a 等 11 个 miRNA 在卧床 45 d 后表达量显著降低;而力学刺激恢复 10 d 后,除 miR-148a、miR-199a-3p、miR-151-3p 外,其余 miRNA 表达量均有所恢复。此外,还发现一些 miRNA,特别是 miR-1234,与骨形成参数呈正相关<sup>[31]</sup>。miR-214、miR-139-3p、miR-339-3p、miR-132-3p、miR-487b、miR-2985 和 miR-34b 在后肢去负荷的动物骨骼中的表达发生了变化。值得注意的是,在人骨质疏松的骨标本中,miR-214 水平随自然年龄的变化而变化,并且在后肢卸载 28 d 后从骨中分离的 Alp+ 细胞增加,这表明 miR-214 可能对力学卸载具有潜在的敏感性,并在骨形成中起着至关重要的作用<sup>[33]</sup>。此外,miR-214 已被证明可通过与多种蛋白质编码基因结合抑制成骨细胞的成骨分化或骨形成,如 C2C12 成肌细胞中的 Osterix,成骨细胞中的转录激活因子 4 (activating transcription factor 4, ATF4) 以及 BMSC 中成纤维生长因子 (fibroblast growth factors, FGFs)<sup>[34]</sup>。因此,miR-214 不仅可以作为诊断骨质疏松症的生物标志物,同时抑制 miR-214 表达可能会成为一个新的治疗骨质疏松的有效靶点。

### 4 总结与展望

生物体尺度的力学刺激可通过多条信号通路的协同调控引起细胞尺度的变化,而细胞通过整合这些信号产生统一的生物反应的机制仍然是力学生物学中的一个主要问题。骨重建过程中的力学转导是一个复杂的多层面过程,由于 miRNA 可以控制一个或多个通路中的几个基因的表达,因此 miRNA 很可能在骨重建的力学转导过程中协调变化。miRNA 通过同时靶向多个通路,在细胞内产生

统一的生物学反应。越来越多的研究表明,miRNA 参与了骨细胞和成骨细胞的力学敏感性反应。力学刺激可通过多种途径影响骨重建,而力学敏感性 miRNA 并不是唯一途径。但力学刺激通过调控力学敏感性 miRNA 可以有效促进骨重建已得到广泛的研究报道。如何利用力学敏感性 miRNA 向临床应用方向转化,仍然是一个重要的研究命题。同时,由于破骨细胞生成和破骨细胞活性在不同力学刺激下也会发生改变,研究破骨细胞与力学敏感性 miRNA 之间的相互关系,在未来会是一个引人注目的研究方向。尽管本文综述了力学刺激通过力学敏感性 miRNA 对骨重建的调控作用及其机制,但没有对力学刺激是通过何种机制或途径实现对 miRNA 表达的调控进行阐述,力学敏感性 miRNA 对于力学刺激的响应机制仍有待进一步的研究。

#### 参考文献:

- [ 1 ] COTTS KG, CIFU AS. Treatment of osteoporosis [ J ]. *J Am Med Assoc*, 2018, 319(10) : 1040-1041.
- [ 2 ] BROWN C. Osteoporosis: Staying strong [ J ]. *Nature*, 2017, 550(7674) : S15-s17.
- [ 3 ] BENEDETTI MG, FURLINI G, ZATI A, *et al.* The effectiveness of physical exercise on bone density in osteoporotic patients [ J ]. *Biomed Res Int*, 2018; 4840531.
- [ 4 ] SHAW SR, ZERNICKE RF, VAILAS AC, *et al.* Mechanical, morphological and biochemical adaptations of bone and muscle to hindlimb suspension and exercise [ J ]. *J Biomech*, 1987, 20(3) : 225-234.
- [ 5 ] LIU P, TU J, WANG W, *et al.* Effects of mechanical stress stimulation on function and expression mechanism of osteoblasts [ J ]. *Front Bioeng Biotechnol*, 2022, 10 (830722).
- [ 6 ] GUO Y, WANG Y, LIU Y, *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.
- [ 7 ] HECHT N, JOHNSTONE B, ANGELE P, *et al.* Mechanosensitive MiRs regulated by anabolic and catabolic loading of human cartilage [ J ]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2019, 27(8) : 1208-1218.
- [ 8 ] KIM VN. MicroRNA biogenesis: Coordinated cropping and dicing [ J ]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2005, 6(5) : 376-385.
- [ 9 ] OKAMURA K, HAGEN JW, DUAN H, *et al.* The mirtron pathway generates microRNA-class regulatory RNAs in *Drosophila* [ J ]. *Cell*, 2007, 130(1) : 89-100.
- [ 10 ] MENGARDI C, LIMOUSIN T, RICCI EP, *et al.* microRNAs stimulate translation initiation mediated by HCV-like IRESes [ J ]. *Nucleic Acids Res*, 2017, 45(8) : 4810-4824.
- [ 11 ] SUN W, LI Y, LI J, *et al.* Mechanical stimulation controls osteoclast function through the regulation of Ca<sup>2+</sup>-activated Cl<sup>-</sup> channel anoctamin 1 [ J ]. *Commun Biol*, 2023, 6(1) : 407.
- [ 12 ] WANG Y, ZOU X, GUO Y, *et al.* Mechanical strain affects some microRNA profiles in pre-osteoblasts [ J ]. *Cell Mol Biol Lett*, 2015, 20(4) : 586-596.
- [ 13 ] CHEN Z, ZHAO F, LIANG C, *et al.* Silencing of miR-138-5p sensitizes bone anabolic action to mechanical stimuli [ J ]. *Theranostics*, 2020, 10(26) : 12263-12278.
- [ 14 ] MAI ZH, PENG ZL, ZHANG JL, *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.
- [ 15 ] WEI F, LIU D, FENG C, *et al.* microRNA-21 mediates stretch-induced osteogenic differentiation in human periodontal ligament stem cells [ J ]. *Stem Cells Dev*, 2015, 24(3) : 312-319.
- [ 16 ] LI H, YANG F, WANG Z, *et al.* MicroRNA-21 promotes osteogenic differentiation by targeting small mothers against decapentaplegic 7 [ J ]. *Mol Med Rep*, 2015, 12 (1) : 1561-1567.
- [ 17 ] WANG H, SUN Z, WANG Y, *et al.* miR-33-5p, a novel mechano-sensitive microRNA promotes osteoblast differentiation by targeting Hmga2 [ J ]. *Sci Rep*, 2016, 6: 23170.
- [ 18 ] WANG H, HU Z, SHI F, *et al.* Osteoblast-targeted delivery of miR-33-5p attenuates osteopenia development induced by mechanical unloading in mice [ J ]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(2) : 170.
- [ 19 ] QI L, ZHANG Y. The microRNA 132 regulates fluid shear stress-induced differentiation in periodontal ligament cells through mTOR signaling pathway [ J ]. *Cell Physiol Biochem*, 2014, 33(2) : 433-445.
- [ 20 ] WANG X, GENG B, WANG H, *et al.* Fluid shear stress-induced down-regulation of microRNA-140-5p promotes osteoblast proliferation by targeting VEGFA via the ERK5 pathway [ J ]. *Connect Tissue Res*, 2022, 63(2) : 156-168.
- [ 21 ] XU L, ZHANG X, LI G, *et al.* Inhibition of SIRT1 by miR-138-5p provides a mechanism for inhibiting osteoblast proliferation and promoting apoptosis under simulated microgravity [ J ]. *Life Sci Space Res*, 2023, 36: 59-69.

- [22] SUN Z, CAO X, ZHANG Z, *et al.* Simulated microgravity inhibits L-type calcium channel currents partially by the up-regulation of miR-103 in MC3T3-E1 osteoblasts [J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 8077.
- [23] ZENG Q, WANG Y, GAO J, *et al.* miR-29b-3p regulated osteoblast differentiation via regulating IGF-1 secretion of mechanically stimulated osteocytes [J]. *Cell Mol Biol Lett*, 2019, 24: 11.
- [24] DOLE NS, YOON J, MONTEIRO DA, *et al.* Mechanosensitive miR-100 coordinates TGF $\beta$  and Wnt signaling in osteocytes during fluid shear stress [J]. *Faseb J*, 2021, 35(10): e21883.
- [25] JOHN AA, XIE J, YANG YS, *et al.* AAV-mediated delivery of osteoblast/osteoclast-regulating miRNAs for osteoporosis therapy [J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2022, 29: 296-311.
- [26] AIBAR-ALMAZÁN A, VOLTES-MARTÍNEZ A, CASTELLOTE-CABALLERO Y, *et al.* Current status of the diagnosis and management of osteoporosis [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(16): 9465.
- [27] MIRZAALI M J, SCHWIEDRZIK JJ, THAIWICHAI S, *et al.* Mechanical properties of cortical bone and their relationships with age, gender, composition and microindentation properties in the elderly [J]. *Bone*, 2016, 93: 196-211.
- [28] HE WZ, YANG M, JIANG Y, *et al.* MiR-188-3p targets skeletal endothelium coupling of angiogenesis and osteogenesis during ageing [J]. *Cell Death Dis*, 2022, 13(5): 494.
- [29] LI CJ, CHENG P, LIANG MK, *et al.* MicroRNA-188 regulates age-related switch between osteoblast and adipocyte differentiation [J]. *J Clin Invest*, 2015, 125(4): 1509-1522.
- [30] SUN Z, WANG H, WANG Y, *et al.* MiR-103-3p targets the m(6) A methyltransferase METTL14 to inhibit osteoblastic bone formation [J]. *Aging Cell*, 2021, 20(2): e13298.
- [31] CHEN J, LI K, PANG Q, *et al.* Identification of suitable reference gene and biomarkers of serum miRNAs for osteoporosis [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 36347.
- [32] LI D, LIU J, GUO B, *et al.* Osteoclast-derived exosomal miR-214-3p inhibits osteoblastic bone formation [J]. *Nat Commun*, 2016, 7: 10872.
- [33] YUAN Y, GUO J, ZHANG L, *et al.* MiR-214 attenuates the osteogenic effects of mechanical loading on osteoblasts [J]. *Int J Sports Med*, 2019, 40(14): 931-940.
- [34] ZHUO Z, WAN Y, GUAN D, *et al.* A loop-based and AGO-incorporated virtual screening model targeting AGO-mediated miRNA-mRNA interactions for drug discovery to rescue bone phenotype in genetically modified mice [J]. *Adv Sci*, 2020, 7(13): 1903451.