

长链非编码 RNA 调控成骨分化作用机制的研究进展

王可, 曹新生, 石菲, 张舒

第四军医大学航空航天生物动力学教研室, 航空航天医学教育部重点实验室, 陕西西安 710032

摘要: 成骨分化是一个复杂的动态平衡过程, 参与成骨分化过程的细胞主要包括人类间充质干细胞、脂肪干细胞、前成骨细胞、人牙周膜干细胞和成骨细胞等。长链非编码 RNA 是一类转录本长度大于 200 bp 的非编码 RNA, 可作为人类基因组中一类重要的调控分子通过多种方式发挥其生物学功能, 其在成骨分化过程中也起着重要调控作用。本文重点概述长链非编码 RNA 调控成骨分化过程的作用机制及研究进展, 以期为相关研究提供思路。

关键词: 长链非编码 RNA; 成骨分化; 间充质干细胞; 成骨细胞

中图分类号: R 68 **文献标志码:** A **文章编号:** 2095-5227(2017)07-0696-04 **DOI:** 10.3969/j.issn.2095-5227.2017.07.025

网络出版时间: 2017-04-14 17:08

网络出版地址: http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3275.R.20170414.1708.014.html

Advances in the regulation mechanisms of long noncoding RNA on osteogenic differentiation

WANG Ke, CAO Xinsheng, SHI Fei, ZHANG Shu

Department of Aerospace Biodynamics, The Key Laboratory of Aerospace Medicine, Chinese Ministry of Education, The Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, Shaanxi Province, China

Corresponding author: ZHANG Shu. Email: shuzhang@fmmu.edu.cn

Abstract: The osteogenic differentiation is a complex dynamic balance involving the participations of human mesenchymal stem cells, adipose-derived stem cells, human periodontal ligament cells, pre-osteoblasts, osteoblasts and so on. As a kind of non-coding RNA with their transcripts of more than 200 bp in length, the long noncoding RNA (LncRNA) plays important roles as a regulatory molecule in a variety of mechanisms. Recent studies show that LncRNA also plays vital role in the osteogenic differentiation. In this review, we focus on the researches of regulation role of LncRNA on osteogenic differentiation in different cells and further introduce the progress in this area, expecting to provide basis for the following studies.

Keywords: long noncoding RNA; osteogenic differentiation; mesenchymal stem cell; osteoblast

全基因组测序结果表明, 在人类基因组中约 93% 的序列可被转录, 其中具有蛋白质编码功能的转录物不超过 2%, 而占转录组 98% 的是无蛋白质编码功能的非编码 RNA^[1]。根据非编码 RNA 的分子大小, 可将其分为小非编码 RNA 和长链非编码 RNA (long noncoding RNA, LncRNA)。与小非编码 RNA 相比, 人类对 LncRNA 的认识刚刚起步, 已有的研究发现 LncRNA 可在转录水平、转录后水平及表观遗传水平调控基因表达, 从而参与物种进化、胚胎发育、物质代谢和疾病发生等过程, 其重要作用逐渐受到人们的关注^[2]。骨骼是动态变化的器官, 骨骼系统通过自稳态维持长度及质量的稳定, 这涉及多种细胞、细胞因子、生化刺激物质共同调节^[3]。其中, 成骨分化是骨自稳态过程中的重要事件^[4]。成骨细胞可由人类间充质干细胞 (human mesenchymal stem cells, hMSCs)、脂肪干细胞 (adipose derived stem cells, ASCs)、人牙周膜干细胞 (human periodontal ligament stem cells, hPDLSCs) 等分化而成^[5-6],

其中以 hMSCs 为主^[7]。近年来, LncRNA 调控干细胞和成骨细胞的成骨分化进而影响骨生成的作用机制日益受到关注。本文将概述 LncRNA 的特征和起源, 并重点阐述 LncRNA 调控成骨分化过程的作用机制。

1 LncRNA 的特征、起源与主要作用

LncRNA 是在真核生物中新发现的一类长度大于 200 个核苷酸、没有长阅读框架、大多具有 mRNA 结构特征 (5' 帽式结构和 polyA 尾巴) 的 RNA^[8]。高通量基因测序技术的快速发展使大量 LncRNA 被发现, 目前认为 LncRNA 主要有以下来源: 1) 蛋白质基因在多种因素作用下断裂以后形成包含部分编码序列的 LncRNA; 2) 染色质重排过程中 2 个分开的未转录区域紧靠到一起形成具有多外显子序列的 LncRNA; 3) 短链非编码 RNA 中的某段序列多次复制后, 形成有功能的非编码逆转录基因或者无功能的非编码逆转录假基因; 4) 非编码 RNA 内部某段序列的重复复制, 产生了具有相邻重复序列的 LncRNA; 5) 转座子中插入一段序列而转录出 LncRNA^[9]。

传统观点认为, 真核生物基因表达调控直接通过蛋白-蛋白或蛋白-DNA 作用来实现。然而随着人们对非编码 RNA 认识的不断深入, RNA-DNA、RNA-蛋白、RNA-RNA 等调控方式逐渐被人类所认识, 形成了由 LncRNA 参与的复杂、精确而微妙的基因表达调控网络^[10]。此外, LncRNA 通过顺式作用直接调控邻近基因表达和反式作用调控远距离基因表达的方式, 形成了覆盖转录水平、转录

收稿日期: 2017-01-25

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31570939; 81471815; 31170889)
Supported by the National Natural Science Foundation of China (31570939; 81471815; 31170889)。

作者简介: 王可, 男, 硕士。研究方向: 航空航天医学。Email: hij99732@qq.com

通信作者: 张舒, 男, 博士, 教授, 博士生导师。Email: shuzhang@fmmu.edu.cn

后水平及表观遗传水平的调控网络^[2]。

转录水平调控机制:1)LncRNA作用于下游靶基因启动子区,干扰转录因子与启动子结合,从而抑制靶基因的转录;2)LncRNA通过竞争结合转录因子从而调控正义链下游蛋白质基因的转录;3)LncRNA与DNA通过碱基互补形成三螺旋复合物,影响靶基因转录;4)LncRNA与RNA聚合酶II相互作用调控基因转录;5)结合蛋白质,通过调节相应蛋白活性调控基因转录;6)LncRNA可编码具有重要功能的多肽^[11-12]。最新研究表明,Lnc00961可编码具有90个氨基酸长度的被命名为SPAR的多肽,它可特异性阻断mTORC1感知氨基酸的刺激能力从而抑制mTORC1蛋白复合物活性,有助于调节肌肉在损伤后的再生和修复能力^[13]。

转录后水平调控机制:1)降解mRNA:Gong等^[14]发现,一种称为半Stau1结合位点RNA的LncRNA,通过与mRNA 3'UTR Alu元件不完全配对,促进了Stau1与mRNA结合,导致mRNA降解;2)翻译调控:有些LncRNA通过碱基配对与互补mRNA形成双链RNA,增加了其稳定性,从而提高了蛋白翻译水平^[15];3)剪接调控:Bernard等^[16]发现,LncRNA-MALAT1通过与丝氨酸/精氨酸剪接因子相互作用,并且调控剪接因子在剪接斑点中分布和磷酸化水平,继而改变mRNA前体选择性剪接模式,从而影响突触形成相关基因表达;4)LncRNA作为内源性竞争性RNA(competing endogenous RNA, ceRNA)与miRNA相互调控;5)作为小RNA分子的前体参与调控^[12,17-18]。

表观遗传水平调控:1)DNA甲基化:LncRNA-Khps1a可与组织依赖甲基化差异区中3个CC(A/T)GG位点结合,从而使CpG岛甲基化水平下降,最后导致癌基因鞘氨醇激酶1的表达上调^[19];2)组蛋白修饰:LncRNA-Kcnq1ot1通过招募G9a、染色质重构蛋白复合物一多梳抑制复合体2(polycomb repressive complex 2, PRC2)及DNA甲基转移酶,使组蛋白甲基化,从而使父源染色体印记基因Kcnq1及其邻近基因表达沉默^[20-21];3)染色质重塑:HOTAIR通过与PRC2、赖氨酸特异性组蛋白脱甲基酶1、RE-1元件辅助沉默转录因子相互作用,使反义链HOXD位点组蛋白甲基化,导致染色质重构,从而反式抑制HOXD基因的表达,促进肿瘤的发生、浸润及转移^[22]。

2 LncRNA调控成骨分化作用机制研究

2.1 转录水平调控 Zhuang等^[23]研究发现,在多发性骨髓瘤病人中,hMSCs向成骨分化能力下降,同时LncRNA-MEG3表达下调。此前有研究表明SOX2可通过结合BMP4启动子抑制启动子活性^[24]。而MEG3正是作为辅因子与转录因子SOX2结合并使之从BMP4启动子上分离,从而促进BMP4转录,进而促进hMSCs成骨向分化。

此外,LncRNA也可通过与蛋白质作用发挥转录调节功能^[8]。Jin等^[5]研究发现,敲除LncRNA-MIR31HG不仅可以促进ASCs向成骨分化,还可以逆转炎症引起ASCs向成骨分化功能降低的效应,MIR31HG-NF- κ B调控环在这个过程中起到了重要作用。该研究表明,细胞质中的LncRNA-MIR31HG可以通过结合I κ B α (NF- κ B抑制因

子)并使之磷酸化,从而激活NF- κ B通路。反过来,炎症环境下NF- κ B通路被激活,使得广泛分布在核内的LncRNA-MIR31HG被转运至胞质内,NF- κ B亚基P65通过直接结合LncRNA-MIR31HG的启动子区域,从而促进MIR31HG的表达。另有研究表明,LncRNA-ANCR的下调可导致GSK3 β 表达下调^[25],而GSK3 β 已被证实可抑制 β -catenin的降解并促进其核转运^[26], β -catenin的核转运又可增加Runx2受体的活性^[27-29],进而促进hPDLSCs的成骨分化能力。

2.2 转录后水平调控 最近研究表明,大量LncRNA可作为ceRNA和miRNA相互抑制,形成精确调控网络来调控miRNA靶基因^[17]。一方面,LncRNA可作为海绵或诱饵,通过碱基配对与miRNA结合,进而导致miRNA降解^[30-32];另一方面,miRNA也可通过结合LncRNA引起LncRNA水平下降^[33]。Wang等^[6]研究证实,牙周炎可抑制hPMSCs向成骨分化的功能,且同时伴有LncRNA-POIR的表达下降。进一步研究表明,LncRNA-POIR可作为ceRNA,通过碱基互补配对原则识别结合诱导的沉默复合体中的miRNA,发挥miRNA海绵吸附作用,从而抑制miRNA-182的调控功能。受抑制的miRNA-182可使靶基因FoxO1表达降低,降低的FoxO1使其与TCF-4竞争性结合 β -catenin的能力减弱,进而导致抑制Wnt通路的能力下降,最终促进hPMSCs向成骨分化的功能。此外,炎症环境还可直接通过激活NF- κ B通路的方式增加miRNA-182的表达,从而导致LncRNA-POIR和miRNA-182调控网络的调节异常。Liang等^[34]研究发现在诱导hMSCs向成骨分化时,LncRNA-H19表达上调,H19可作为ceRNA抑制miRNA-141和miRNA-22的调控功能。而miRNA-141和miRNA-22可通过负性调节靶基因 β -catenin从而抑制Wnt/ β -catenin通路,进而抑制成骨分化。此外还有研究表明,在人类成骨细胞hFOB1.19上,miR-141过表达可通过降低H19/miRNA-675的水平来诱导成骨细胞凋亡^[35]。

LncRNA还可作为具有调控功能的小RNA分子(如miRNA)的前体分子来发挥调控功能^[12,36-37]。有研究表明,H19的外显子内含有前miRNA的编码序列,可通过经典的Dicer/Drosha酶切方式产生成熟的miR-675-3p和miR-675-5p^[38]。Huang等^[39]发现hMSCs向成骨分化时,LncRNA-H19和miRNA-675同时表达上调,表明H19通过产生miRNA-675发挥促成骨分化作用。进一步研究表明,H19/miRNA-675可下调TGF- β 1的mRNA以及蛋白水平,TGF- β 1的下调导致Smad3的磷酸化水平被抑制,使得入核的磷酸化Smad3减少,从而抑制了磷酸化Smad3招募HDAC4/5结合到Runx2的能力,导致了Runx2-Smad3p-HDAC4/5复合体的形成减少,进而促进了Runx2和OCN等成骨基因的表达。Liang等^[34]研究则证实,miRNA-675-5p可负调控LncRNA-H19,从而形成了LncRNA-H19-miRNA-675的反馈调控回路。

2.3 表观遗传水平调控 LncRNA通过表观遗传水平调控成骨分化的研究大多集中在组蛋白修饰方面。组蛋白有甲基化、乙酰化和泛素化等多种修饰形式,而不同的修饰类

型对基因表达的影响不同。研究表明,哺乳动物的LncRNA中有大约20%可结合PRC2^[40-41]。EZH2作为PRC2的组成部分,可诱发H3K27甲基化从而抑制基因转录^[42]。Zhu等^[43]研究发现,敲除hMSCs上的LncRNA-HoxA-AS3可增强其成骨分化能力。其机制为HoxA-AS3与EZH2结合引起H3K27甲基化,使得Runx2基因的表达受到抑制。Zhu等^[44]研究则表明,LncRNA-ANCR也可以通过与EZH2结合引起H3K27甲基化,进而抑制hMSCs的成骨分化。

Huang等^[39]研究证实,LncRNA-H19转录出的miRNA-675可直接抑制HDAC4/5的表达,受到抑制的HDAC4/5导致其抑制OCN启动子上组蛋白H4脱乙酰基作用的能力减弱,最终抑制了OCN基因的表达。Li等^[45]发现用成骨肽诱导鼠间充质干细胞成骨分化后,LncRNA-AK141205表达上调,LncRNA-AK141205可通过促进CXCL13启动子区H4组蛋白的乙酰化作用,从而促进CXCL13基因的表达。CXCL13是CXC趋化因子功能家族的一员,已有研究表明其可促进hMSCs的成骨分化^[46]。与Li等发现类似的是,Cao等^[47]研究表明高糖环境可通过抑制LncRNA-AK028326进而导致CXCL13 mRNA和蛋白水平的表达下调,影响hMSCs的成骨功能,但LncRNA-AK028326作用于CXCL13的方式尚未可知。Xu等^[48]研究则表明,TGF- β 可抑制去乙酰化酶1(sirtuin-1, SIRT1)的表达,下调的SIRT1可上调LncRNA-HIF1 α -AS1,LncRNA-HIF1 α -AS1通过促进HoxD10启动子区H3和H4组蛋白的乙酰化作用,从而促进HoxD10基因的表达。已有研究表明HoxD10作为一种肿瘤抑制因子,可促进成骨细胞分化^[49-50]。

2.4 其他机制 除上述LncRNA研究外,仍有部分与成骨分化相关的LncRNA作用机制尚未完全阐明。Cui等^[51]研究表明,在葡萄球菌A蛋白诱导骨内炎症环境下,hMSCs的成骨功能下降,同时LncRNA-NONHSAT009968表达下调,他们预测LncRNA-NONHSAT009968可通过顺式作用于临近靶基因Wnt3A,从而抑制成骨分化。此外,Tong等^[52]研究还发现在绝经后骨质疏松患者的血单核细胞上,LncRNA-DANCR表达上调,并通过上调IL6、TNF- α 的mRNA及蛋白水平的方式来促进骨的再吸收,最终导致骨丢失。但LncRNA-DANCR上调IL6、TNF- α 的作用机制仍未阐明。

3 结语

目前对于LncRNA的研究正如火如荼地展开,大量的功能性LncRNA在物种进化、胚胎发育、物质代谢和疾病发生过程中的重要作用不断被证实。然而,已被证实的功能性LncRNA仅是冰山一角,人们对其功能及机制的认识还不完善。特别是LncRNA对于成骨分化调控机制的研究相比于LncRNA在其他领域里的研究略显滞后,有许多已在其他领域被证实的LncRNA的作用机制尚未在成骨分化过程中得到证实。此外,在已被证实的机制中,究竟哪一种起到决定性作用还尚未可知。随着人们对于成骨分化研究的不断深入,新的发现必将层出不穷,从而不断弥补和完善LncRNA调控成骨分化机制的领域空白,最终为成

骨分化功能受损导致的疾病提供更为有效的靶向治疗方案。

参考文献

- 1 Finishing the euchromatic sequence of the human genome [J]. *Nature*, 2004, 431 (7011): 931-945.
- 2 Mercer TR, Dinger ME, Mattick JS. Long non-coding RNAs: insights into functions [J]. *Nat Rev Genet*, 2009, 10 (3): 155-159.
- 3 尹鹏滨,唐佩福,张里程,等.信号素3A在骨自稳态与骨重塑中的作用[J].解放军医学院学报,2014,35(12):1272-1274.
- 4 孙中洋,李东韬.成骨细胞钾、钙离子通道的研究进展[J].解放军医学院学报,2014,35(2):186-189.
- 5 Jin C, Jia L, Huang Y, et al. Inhibition of lncRNA MIR31HG Promotes Osteogenic Differentiation of Human Adipose-Derived Stem Cells [J]. *Stem Cells*, 2016, 34 (11): 2707-2720.
- 6 Wang L, Wu F, Song Y, et al. Long noncoding RNA related to periodontitis interacts with miR-182 to upregulate osteogenic differentiation in periodontal mesenchymal stem cells of periodontitis patients [J]. *Cell Death Dis*, 2016, 7 (8): e2327.
- 7 Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells [J]. *Science*, 1999, 284 (5411): 143-147.
- 8 Hung T, Chang HY. Long noncoding RNA in genome regulation: prospects and mechanisms [J]. *RNA Biol*, 2010, 7 (5): 582-585.
- 9 Ponting CP, Oliver PL, Reik W. Evolution and functions of long noncoding RNAs [J]. *Cell*, 2009, 136 (4): 629-641.
- 10 Goodrich JA, Kugel JF. Non-coding-RNA regulators of RNA polymerase II transcription [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2006, 7 (8): 612-616.
- 11 史华俊,刘忠,郭俊明.非编码长链RNA与基因表达调控[J].中国生物化学与分子生物学报,2012,28(9):781-787.
- 12 Wilusz JE, Sunwoo H, Spector DL. Long noncoding RNAs: functional surprises from the RNA world [J]. *Genes Dev*, 2009, 23 (13): 1494-1504.
- 13 Matsumoto A, Pasut A, Matsumoto M, et al. mTORC1 and muscle regeneration are regulated by the LINC00961-encoded SPAR polypeptide [J]. *Nature*, 2017, 541 (7636): 228-232.
- 14 Gong C, Popp MW, Maquat LE. Biochemical analysis of long non-coding RNA-containing ribonucleoprotein complexes [J]. *Methods*, 2012, 58 (2): 88-93.
- 15 Wu X, Brewer G. The regulation of mRNA stability in mammalian cells: 2.0 [J]. *Gene*, 2012, 500 (1): 10-21.
- 16 Bernard D, Prasanth KV, Tripathi V, et al. A long nuclear-retained non-coding RNA regulates synaptogenesis by modulating gene expression [J]. *EMBO J*, 2010, 29 (18): 3082-3093.
- 17 Salmena L, Poliseno L, Tay Y, et al. A ceRNA hypothesis: the Rosetta Stone of a hidden RNA language [J]. *Cell*, 2011, 146 (3): 353-358.
- 18 Ogawa Y, Sun BK, Lee JT. Intersection of the RNA interference and X-inactivation pathways [J]. *Science*, 2008, 320 (5881): 1336-1341.
- 19 Mattick JS. The genetic signatures of noncoding RNAs [J]. *PLoS Genet*, 2009, 5 (4): e1000459.
- 20 Magistri M, Faghihi MA, St Laurent G 3rd, et al. Regulation of chromatin structure by long noncoding RNAs: focus on natural antisense transcripts [J]. *Trends Genet*, 2012, 28 (8): 389-396.
- 21 Kanduri C. Kcnq1ot1: a chromatin regulatory RNA [J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2011, 22 (4): 343-350.
- 22 Tsai MC, Manor O, Wan Y, et al. Long noncoding RNA as modular scaffold of histone modification complexes [J]. *Science*, 2010, 329 (5992): 689-693.

- 23 Zhuang W, Ge X, Yang S, et al. Upregulation of lncRNA MEG3 Promotes Osteogenic Differentiation of Mesenchymal Stem Cells From Multiple Myeloma Patients By Targeting BMP4 Transcription [J]. *Stem Cells*, 2015, 33 (6): 1985-1997.
- 24 Fang WT, Fan CC, Li SM, et al. Downregulation of a putative tumor suppressor BMP4 by SOX2 promotes growth of lung squamous cell carcinoma [J]. *Int J Cancer*, 2014, 135 (4): 809-819.
- 25 Jia Q, Jiang W, Ni L. Down-regulated non-coding RNA (lncRNA-ANCR) promotes osteogenic differentiation of periodontal ligament stem cells [J]. *Arch Oral Biol*, 2015, 60 (2): 234-241.
- 26 Davidson G, Wu W, Shen J, et al. Casein kinase 1 gamma couples Wnt receptor activation to cytoplasmic signal transduction [J]. *Nature*, 2005, 438 (7069): 867-872.
- 27 Gaur T, Lengner CJ, Hovhannisyants H, et al. Canonical WNT signaling promotes osteogenesis by directly stimulating Runx2 gene expression [J]. *J Biol Chem*, 2005, 280 (39): 33132-33140.
- 28 Rodríguez-Carballo E, Ulsamer A, Susperregui AR, et al. Conserved regulatory motifs in osteogenic gene promoters integrate cooperative effects of canonical Wnt and BMP pathways [J]. *J Bone Miner Res*, 2011, 26 (4): 718-729.
- 29 Cho YD, Kim WJ, Yoon WJ, et al. Wnt3a stimulates Mepe, matrix extracellular phosphoglycoprotein, expression directly by the activation of the canonical Wnt signaling pathway and indirectly through the stimulation of autocrine Bmp-2 expression [J]. *J Cell Physiol*, 2012, 227 (6): 2287-2296.
- 30 Xing CY, Hu XQ, Xie FY, et al. Long non-coding RNA HOTAIR modulates c-KIT expression through sponging miR-193a in acute myeloid leukemia [J]. *FEBS Lett*, 2015, 589 (15): 1981-1987.
- 31 Cai H, Xue Y, Wang P, et al. The long noncoding RNA TUG1 regulates blood-tumor barrier permeability by targeting miR-144 [J]. *Oncotarget*, 2015, 6 (23): 19759-19779.
- 32 Deng L, Yang SB, Xu FF, et al. Long noncoding RNA CCAT1 promotes hepatocellular carcinoma progression by functioning as let-7 sponge [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2015, 34: 18.
- 33 Yoon JH, Abdelmohsen K, Kim J, et al. Scaffold function of long non-coding RNA HOTAIR in protein ubiquitination [J]. *Nat Commun*, 2013, 4: 2939.
- 34 Liang WC, Fu WM, Wang YB, et al. H19 activates Wnt signaling and promotes osteoblast differentiation by functioning as a competing endogenous RNA [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 20121.
- 35 He P, Zhang Z, Huang G, et al. miR-141 modulates osteoblastic cell proliferation by regulating the target gene of lncRNA H19 and lncRNA H19-derived miR-675 [J]. *Am J Transl Res*, 2016, 8(4): 1780-1788.
- 36 Huntzinger E, Izaurralde E. Gene silencing by microRNAs: contributions of translational repression and mRNA decay [J]. *Nat Rev Genet*, 2011, 12 (2): 99-110.
- 37 Bartel DP. MicroRNAs: target recognition and regulatory functions [J]. *Cell*, 2009, 136 (2): 215-233.
- 38 Cai X, Cullen BR. The imprinted H19 noncoding RNA is a primary microRNA precursor [J]. *RNA*, 2007, 13 (3): 313-316.
- 39 Huang Y, Zheng Y, Jia L, et al. Long Noncoding RNA H19 Promotes Osteoblast Differentiation Via TGF- β 1/Smad3/HDAC Signaling Pathway by Deriving miR-675 [J]. *Stem Cells*, 2015, 33 (12): 3481-3492.
- 40 Rinn JL, Kertesz M, Wang JK, et al. Functional demarcation of active and silent chromatin domains in human HOX loci by noncoding RNAs [J]. *Cell*, 2007, 129 (7): 1311-1323.
- 41 Khalil AM, Guttman M, Huarte M, et al. Many human large intergenic noncoding RNAs associate with chromatin-modifying complexes and affect gene expression [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106 (28): 11667-11672.
- 42 Cao R, Wang L, Wang H, et al. Role of histone H3 lysine 27 methylation in Polycomb-group silencing [J]. *Science*, 2002, 298 (5595): 1039-1043.
- 43 Zhu XX, Yan YW, Chen D, et al. Long non-coding RNA HoxA-AS3 interacts with EZH2 to regulate lineage commitment of mesenchymal stem cells [J]. *Oncotarget*, 2016, 7 (39): 63561-63570.
- 44 Zhu L, Xu PC. Downregulated lncRNA-ANCR promotes osteoblast differentiation by targeting EZH2 and regulating Runx2 expression [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2013, 432 (4): 612-617.
- 45 Li H, Zhang Z, Chen Z, et al. Osteogenic growth peptide promotes osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells mediated by lncRNA AK141205-induced upregulation of CXCL13 [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2015, 466 (1): 82-88.
- 46 Tian F, Ji XL, Xiao WA, et al. CXCL13 Promotes Osteogenic Differentiation of Mesenchymal Stem Cells by Inhibiting miR-23a Expression [J]. *Stem Cells Int*, 2015, 2015: 632305.
- 47 Cao B, Liu N, Wang W. High glucose prevents osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells via lncRNA AK028326/CXCL13 pathway [J]. *Biomed Pharmacother*, 2016, 84: 544-551.
- 48 Xu Y, Wang S, Tang C, et al. Upregulation of long non-coding RNA HIF 1 α -anti-sense 1 induced by transforming growth factor- β -mediated targeting of sirtuin 1 promotes osteoblastic differentiation of human bone marrow stromal cells [J]. *Mol Med Rep*, 2015, 12(5): 7233-7238.
- 49 Zhao X, Lu Y, Nie Y, et al. MicroRNAs as critical regulators involved in regulating epithelial-mesenchymal transition [J]. *Curr Cancer Drug Targets*, 2013, 13 (9): 935-944.
- 50 Barham G, Clarke NM. Genetic regulation of embryological limb development with relation to congenital limb deformity in humans [J]. *J Child Orthop*, 2008, 2 (1): 1-9.
- 51 Cui Y, Lu S, Tan H, et al. Silencing of Long Non-Coding RNA NONHSAT009968 Ameliorates the Staphylococcal Protein A-Inhibited Osteogenic Differentiation in Human Bone Mesenchymal Stem Cells [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2016, 39 (4): 1347-1359.
- 52 Tong X, Gu PC, Xu SZ, et al. Long non-coding RNA-DANCR in human circulating monocytes: a potential biomarker associated with postmenopausal osteoporosis [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2015, 79 (5): 732-737.