

HIF-1 α 参与microRNAs调控骨代谢的研究进展

李婷婷¹ 张士花¹ 元宇² 邹军^{1*}

(¹上海体育学院运动科学学院, 上海 200438; ²华南师范大学体育科学学院, 广州 510631)

摘要 骨是具有持续性代谢更新能力的组织, 骨代谢平衡对于维持血钙稳态、骨折修复以及改变骨结构以更好地适应负荷需求有重要意义。研究表明, microRNAs广泛参与骨形成和骨吸收的调控。近年来, 关于缺氧诱导因子-1 α (hypoxia inducible factor-1 α , HIF-1 α)的研究热点逐渐涉及到骨代谢, 目前相关的细胞实验和动物实验已探索出部分调节机制, 但完整的调节网络仍有待研究。该文主要对HIF-1 α 参与microRNAs对骨代谢调控的研究进展进行了综述, 旨在为骨代谢性疾病的诊断和防治奠定理论基础。

关键词 microRNAs; HIF-1 α ; 骨代谢

Research Progress on the Involvement of HIF-1 α in the Regulation of Bone Metabolism by MicroRNAs

LI Tingting¹, ZHANG Shihua¹, YUAN Yu², ZOU Jun^{1*}

(¹School of Kinesiology, Shanghai University of Sport, Shanghai 200438, China;

²School of Physical Education and Sports Science, South China Normal University, Guangzhou 510631, China)

Abstract Bone is a kind of tissue with continuous metabolic renewal ability. The balance of bone metabolism is important for maintaining blood calcium homeostasis, repairing fractures, and changing bone structure to better adapt to load. Studies have shown that microRNAs are widely involved in the regulation of bone formation and bone resorption. In recent years, bone metabolism has been gradually involved in the researches which focus on HIF-1 α (hypoxia inducible factor-1 α). At present, some relevant cell experiments and animal experiments have explored part of the regulatory mechanisms, while the complete regulatory network remains to be studied. This study mainly reviews the research progress of HIF-1 α involved in the regulation of bone metabolism by microRNAs, and aims to provide a theoretical basis for the diagnosis and prevention of bone metabolic diseases.

Keywords microRNAs; HIF-1 α ; bone metabolism

低氧诱导因子-1 α (hypoxia inducible factor-1 α , HIF-1 α)是细胞缺氧反应中的重要转录因子, 通过调节基因转录来维持细胞中氧的供需平衡^[1]。哺乳动物细胞能够感知氧分压的变化并作出反应, 例如直接参与骨代谢的成骨细胞、破骨细胞、骨细胞, 以及间接参

与骨代谢的间充质干细胞、软骨细胞等^[2-3]。MiRNAs (microRNAs)是在不同的真核细胞中直接转录后抑制 mRNA靶标的一种长度约为22个核苷酸的内源性小RNA, 广泛参与哺乳动物骨代谢等各种生理过程的调控^[4]。研究表明, miRNAs可调控成骨细胞主导的骨形

收稿日期: 2020-05-29 接受日期: 2020-06-23

国家自然科学基金(批准号: 81901430、81871835)和上海市人类运动能力开发与保障重点实验室(上海体育学院)(批准号: 11DZ2261100)资助的课题

*通讯作者。Tel: 021-65507526, E-mail: zoujun777@126.com

Received: May 29, 2020 Accepted: June 23, 2020

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.81901430, 81871835) and the Key Laboratory for the Development and Protection of Human Athletic Ability in Shanghai (Shanghai University of Sport) (Grant No.11DZ2261100)

*Corresponding author. Tel: +86-21-65507526, E-mail: zoujun777@126.com

URL: <http://www.cjcb.org/arts.asp?id=5369>

成和破骨细胞主导的骨吸收^[5-6], 缺失某些miRNAs或干扰miRNAs的功能可能影响骨的正常生理活动, 使骨骼长度缩短、重量减轻, 严重影响骨骼生长和发育, 进而导致骨代谢性疾病的发生^[7]。

目前, 在miRNAs参与骨代谢调控的过程中将HIF-1 α 作为中间影响分子的研究还较少, miRNAs、HIF-1 α 与骨代谢三者间相互作用的机制更未明晰。因此, 本文主要介绍了HIF-1 α 和miRNAs共同参与调控骨代谢的最新研究进展, 旨在为骨代谢性疾病提供诊断与防治的理论依据。

1 HIF-1 α 在骨代谢中的作用

1.1 HIF-1 α 的生物学功能

HIF-1是细胞缺氧反应中的重要元件, 由一个不稳定的 α 亚基和稳定的 β 亚基组成。HIF-1 β 通常过量存在, 因此主要由HIF-1 α 决定HIF-1的转录活性^[8]。作为细胞氧稳态的调节因子, 在低氧条件下, 由于泛素化减少和蛋白酶体介导的降解减少, HIF-1 α 在细胞中表达增加, 其通过核移位和基因表达调控细胞对氧化应激的适应性反应^[9]。胰岛素样生长因子(insulin like growth factor, IGF)和生长转化因子- α (transforming growth factor- α , TGF- α)等作为HIF的靶基因与其受体结合后激活信号转导通路, 使HIF-1 α 表达增加然后改变细胞增殖、分化等重要生理功能; 哺乳动物活动时血流的再分配致使部分器官组织处于缺氧的状态, HIF-1 α 分泌增多, 进而引起一系列的耐氧适应性反应。研究表明, HIF-1 α 广泛参与血管生成、糖代谢、铁代谢以及骨代谢等生物学过程的调控, 如通过调控血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)等下游因子促进血管生成, 通过靶向与葡萄糖摄取、糖酵解相关的基因和转铁蛋白受体等基因来改善糖代谢与铁代谢, 以及通过Wnt/ β -catenin等多种信号通路来调控骨代谢等^[10-11]。

1.2 HIF-1 α 参与骨代谢的调控

骨代谢是一个动态平衡的过程, 为了保持骨骼的机械完整性和调节钙磷水平, 破骨细胞与成骨细胞相互协调, 分解吸收骨质并重新合成新骨以维持骨组织的正常生理特性^[12]。由于骨组织中氧的生理浓度较低, 对氧浓度的变化相对于人体其他组织较敏感, 而HIF-1 α 表达水平与细胞氧浓度改变紧密相关, 因此, HIF-1 α 被认为是骨骼发育和骨稳态

的关键调节器^[13]。HIF-1 α 可通过骨形态发生蛋白(bone morphogenetic protein, BMP)、Wnt/ β -catenin、Notch等多种信号通路参与骨形成和吸收^[14-15]。研究发现, 在缺氧条件下Notch信号被激活时, HIF-1 α 被招募为Notch的反应启动子, 来维持各种干细胞的未分化状态。这种Notch和HIF-1 α 信号通路之间的调控关系与Notch和BMP/TGF- β 信号之间的调控关系非常相似, BMP/TGF- β 信号的激活通过细胞内介质Smad1、Smad3与Notch的胞内段(Notch intracellular domain, NICD)相互作用, 然后激活Notch信号^[16]。后来, BMP/TGF- β 参与HIF-1 α 在骨代谢中的作用机制得到了验证: HIF-1 α 的稳定表达显著减弱了BMP/TGF- β 促进骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs)软骨矿化的作用^[14]。

间歇性缺氧可以增加大鼠的骨密度, 同时增加碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)和骨形态发生蛋白-2(bone morphogenetic protein-2, BMP-2)的表达^[17]。在诱导胎盘来源的间充质干细胞(mesenchymal stem cell, MSC)的成骨分化过程中, 骨桥蛋白、骨钙素和ALP的表达随缺氧时HIF-1 α 表达的增加而增加^[11]。

此外, 组织缺氧会启动血管生成相关信号通路^[18], 血管形成能力的增强能够促进骨生成。在成骨细胞中过表达HIF- α 后, VEGF表达随之上调, 成骨分化能力增强。反之, 当小鼠成骨细胞特异性缺失HIF-1 α 时, 小鼠骨骼血管化较少、骨皮质较薄, 表明了HIF-1 α 在受成骨细胞影响的骨形成和更新中发挥重要作用^[19]。软骨内成骨高度依赖于生长板软骨细胞的正常功能^[3], 在小鼠软骨细胞中, 条件性敲除HIF-1 α 基因会引起影响软骨细胞生长停滞的关键效应因子p57的表达缺失, 从而使生长板软骨细胞凋亡, 进而导致严重的骨骼畸形, 提示HIF-1 α 在软骨细胞的增殖及分化中发挥着不可或缺的作用^[20]。

HIF-1 α 在骨吸收方面的影响尚存在争议。有研究表明, 缺氧使HIF-1 α 表达增加会诱导B淋巴细胞瘤-2(B-cell lymphoma-2, Bcl-2)基因刺激破骨细胞形成, 促进骨吸收^[21]。但近来也有研究表明, HIF-1 α 的激活显著减少了破骨细胞生成和破骨细胞性骨吸收^[22]。但是, 另有实验显示, HIF-1 α 适度地抑制破骨细胞形成过程中的细胞融合和分化, 却在功能上促进骨吸收^[23]。

2 MicroRNAs在骨代谢中的作用

2.1 MicroRNAs的生物学功能

MiRNAs广泛参与个体发育, 血管生成, 以及细胞分化、增殖、凋亡等生物学过程。MiRNAs作为内源性分子调节器, 是各种生物学过程中的关键调节因子^[24]。其作为核糖核蛋白(ribonucleoprotein, RNP)复合物的一部分与其他生物大分子一起构成RNA沉默诱导复合体(RNA-induced silencing complex, RISC), 能够调控下游基因的表达^[25]。MiRNAs调控基因表达的主要方式为将Argonaute蛋白引导到相关信使RNA(messenger RNA, mRNA)中的互补位点, 通过降解mRNA来调控基因表达, 还有一种方式是抑制蛋白质翻译^[26]。MiRNAs本身的表达在转录、加工和功能水平上受到许多因素的影响, 而靶mRNA的表达同样在表观遗传效应、启动子调控、RNA加工和稳定性及翻译等方面受到miRNAs的调控^[25]。

2.2 MicroRNAs参与骨代谢的调控

研究证实, miRNAs在成骨细胞和破骨细胞的分化以及功能方面起着重要作用^[5]。在病理条件下, miRNAs表达异常会导致骨骼代谢性疾病的发生发展^[27]。MiRNAs能够正向或负向调控成骨过程, 如miR-181a/b-1、miR-19b、miR-96各通过PTEN/PI3K/AKT、PTEN/PAKT/Runx2、Wnt通路促进成骨细胞生成与骨形成, miR-378、miR-148b-3p、miR-34a、miR-29b-3p等多种miRNAs都可作为成骨正向调控因子在骨质疏松症、股骨头坏死以及异位骨化等代谢性骨病的进程中发挥积极作用^[28-32]。也有一类miRNAs在成骨过程中起负调控或促进骨吸收的作用, 比如miR-23a、miR-9-5p、miR-1297和miR-204等通过靶向BMP、Wnt等信号通路抑制牙周间充质干细胞(periodontal ligament stem cells, PDLSCs)、BMSCs的成骨分化; miR-155通过同时参与AMPK、Wnt两条信号通路来促进破骨细胞活化与骨吸收^[33-35]。但由于单个miRNA能调节多个靶基因, 所以, 同一miRNA在骨代谢中也会发挥不同的调控作用, 例如低表达的miR-223既可减少破骨细胞生成, 也能促进成骨细胞的分化; 而miR-223过表达则具有促进破骨细胞分化并抑制成骨分化的双重作用^[36]。

3 HIF-1 α 参与microRNAs对骨代谢的调控

缺氧会对生命体各个系统产生不同的作用,

是miRNAs调控各类病理生理过程的影响因素之一。本研究通过最新版本的靶基因预测数据库TargetScanHuman(v7.2, Whitehead Institute for Biomedical Research, http://www.targetscan.org/vert_72/)预测靶向调控HIF-1 α 的miRNAs, 发现可能靶向作用于小鼠HIF-1 α 的miRNAs数量为20个, 可能靶向作用于大鼠HIF-1 α 的miRNAs为13个, 靶向作用于人HIF-1 α 的miRNAs为17个, 这些miRNAs广泛参与生命活动的各类生物学过程。其中, miR-199-5p和miR-155-5p等多个miRNAs都可靶向作用于以上3个物种的HIF-1 α 。有研究报道, HIF-1 α 是miR-199a-5p的一个靶点, 敲除miR-199a-5p可通过HIF-1 α -GSK3 β -mPTP轴保护缺血诱导的心肌细胞凋亡^[37]。而miR-155-5p则与骨代谢密切相关, 在常氧条件即没有HIF-1 α 参与的情况下, miR-155可抑制破骨细胞的活性和骨吸收。而在长时间缺氧时, miR-155-5p则作为HIF-1 α 的负调控因子, 虽然在一定程度上降低hBMSCs的增殖能力, 但却促进其成骨和成软骨分化^[38]。

目前, HIF-1 α 参与miRNAs调控骨代谢的相关研究集中在近五年(表1), 其中具体的分子机制我们知之甚少。从机制上讲, miRNAs在各类细胞成骨调控中都是缺氧信号的关键介质, 调控骨形成是相关研究的焦点。

LEE等^[38]将BMSCs在低氧条件下培养后, 发现其增殖能力下降、迁移活动增强、成骨分化和成软骨分化增强; qRT-PCR结果显示, 相关成骨因子表达下调, 经分析其机制可能是由于缺氧状态加速了成骨过程中的序列基因表达, 使早期成骨标志物(ALP和Runx2)降低、晚期成骨相关基因(BMP-2)表达增加, 具体机制还需进一步研究; 此外, 该研究对miRNAs的分析表明, 缺氧时调控HIF-1 α 的miR-155-5p显著高表达, 虽然该研究并未将HIF-1 α 和miRNAs的变化与成骨效应的相互关系联系起来分析讨论, 但这为后来的研究提供了方向。关于雌激素对绝经后骨质疏松症影响的研究指出, HIF-1 α 是通过激活成骨细胞中VEGF的转录参与血管生成和成骨的关键因子, 成骨细胞HIF-1 α 和VEGF的蛋白表达与雌激素17 β -雌二醇(17 β -estradiol, E2)呈较大剂量和时间依赖性; 研究还发现, miR-210在大鼠BMSCs中高表达并促进VEGF在BMSCs中的表达与成骨分化, 由此推断HIF-1 α 与miR-210的最终效应一致, 通过促进BMSCs中VEGF的表达和成骨分化从而在改

表1 HIF-1 α 参与microRNAs调控骨代谢的过程

Table 1 HIF-1 α participates in the regulation of bone metabolism by microRNAs

MicroRNA名称	样本来源	概述	参考文献
MicroRNA name	Sample resources	Description	References
miR-340-5p	hMSC	HIF-1 α ↓, promote osteoblat differentiation	[39]
miR-497-195 cluster	Mouse endothelial cells	HIF-1 α protein↑, promote type H vessels formation and osteogenesis	[15]
miR-210	Broken bone specimens and osteoblasts; BMSCs	HIF-1 α ↑, promote angiogenesis and osteoblast proliferation and differentiation	[40-41]
miR-155-5p	hBMSCs	HIF-1 α ↓, enhance osteogenic and chondrogenic differentiation	[38]
miR-675-5P	hBMSCs	HIF-1 α ↑, promote osteogenesis	[42]
miR-31-5p	hMSCs	HIF-1 α ↑, inhibit osteoblasts differentiation	[43]
miR-21	BMSCs	HIF-1 α ↑, enhance osteogenesis	[44]
miR-20a	RAW264.7 mouse macrophage cells	HIF-1 α ↓, trigger osteoblast commitment	[45]
	Mice osteoblasts, BMMs	Inhibit osteoclast differentiation	
miR-34a-5p	Human osteoblast cells lines	HIF-1 α ↑, inhibit osteoclast formation	[46]
miR-20b	Osteosarcoma cell lines MG63 and U2OS	HIF-1 α ↓, downregulate the VEGF pathway proteins and suppress cell invasion and proliferation rate	[47]
miR-543	hFOB and OS cell lines (Saos2, MNNG/HOS, U2OS, and MG63) and HEK293T	Stablize HIF-1 α , promote glycolysis and cell proliferation in OS	[48]
miR-143-5p	Human OS tissues and the corresponding paratumour tissues; human OS cell lines (143B, HOS, MG-63, Saos-2, and U2OS) and the normal human osteoplastic cell line NHOst	HIF-1 α ↓, attenuate OS cell invasion and angiogenesis	[49]

↑: 表达水平升高; ↓: 表达水平降低。
↑: up-regulation; ↓: down-regulation.

善雌激素缺乏所致的绝经后骨质疏松症中发挥重要作用^[40]。在HIF-1 α 与miR-210的进一步研究中SUN等^[41]发现: miR-210在缺氧后的人骨组织和MG-63骨肉瘤细胞系中均以依赖HIF-1 α 的方式上调, 最终抑制成骨细胞凋亡并促进其增殖。另有相关研究表明, miR-497~195簇通过维持内皮细胞Notch和HIF-1 α 蛋白活性来促进老年小鼠血管形成继而刺激骨形成^[15]; 已知Wnt/ β -catenin信号通路的激活可以促进BMSCs的成骨分化, 而 β -catenin是miR-340-5p的靶基因之一, 缺氧条件下人MSC中表达受到抑制的miR-340-5p使 β -catenin水平上升。因此, 缺氧时HIF-1 α 对成骨分化的影响显而易见^[39]。COSTA等^[42]的初步数据分析表明, 缺氧时miR-675-5p可能通过增加HIF-1 α 反应和激活Wnt/ β -catenin通路, 来启动复杂的分子机制促进hMSCs向成骨细胞分化。后有研究首次证明, HIF-1 α 是miR-31-5p的靶基因之一, 同时也是MSCs成骨分化的诱导剂, miR-31-5p表达的下调使HIF-1 α 表达增加, 进而触发hBMSCs的成骨分化^[43]。最新研究表明, miR-21通过PTEN/PI3K/AKT/HIF-1 α 途径促进BMSCs的成骨分化从而促进颌面部

骨骼再生^[44]。

对比HIF-1 α 参与miRNAs调控骨代谢中骨形成方面相对丰硕的研究成果, miRNAs通过HIF-1 α 调控骨吸收的研究则显得比较缺乏。细胞实验验证了miR-20a在低氧应激下在与自噬相关的破骨细胞分化中的作用, 提示HIF-1 α /miR-20a/ATG16L1调节轴可能是缺氧诱导破骨细胞分化的重要机制^[45]。此外, 还有假设认为成骨细胞HIF-1 α 的激活, 促进IL-33表达, IL-33随后通过miR-34a-5p/Notch1途径作用于骨髓基质细胞(bone marrow stromal cells, BMMs), 最终抑制破骨细胞的生成^[46]。但以上2个结论仅有细胞实验的支持, 还需动物模型来验证。

此外, HIF-1 α 和miRNAs在骨肿瘤的发生和发展过程中的作用主要体现在对肿瘤细胞血管生成的影响。因为骨形成与血管形成往往耦合, 因此肿瘤组织中血管生成可能间接影响骨的代谢。LIU等^[47]的结果表明, miR-20b的过表达影响HIF-1 α 表达, 继而下调VEGF的表达, 从而抑制骨肉瘤(osteosarcoma, OS)细胞的侵袭和增殖。后续研究指出, HIF-1 α 与miR-543之间的互相调控有助于维持HIF-1 α 的稳定,

并提示 miR-543/PRMT9/HIF-1 α 轴靶向糖酵解途径可能是一种潜在的根除 OS 细胞的治疗策略^[48]。另一项 OS 相关的研究结果表明, Wnt1 诱导的信号通路蛋白-1(Wnt1-induced signaling pathway protein-1, WISP-1)通过调控 FAK/JNK/HIF-1 α 信号通路和下调 miR-381 表达来促进 VEGF 的表达和血管生成^[50]。最近发现, 长链非编码 RNA(long non-coding RNA, lncRNA)也参与了该病理过程的调控, lncRNA TUG1 作为 miR-143-5p 的内源性竞争 RNA, 逆转 miR-143-5p 对 HIF-1 α 的抑制作用, 即 TUG1 通过 miR-143-5p/HIF-1 α 途径调控 OS 进展^[49]。除 HIF-1 α 、miRNAs 和骨代谢之间的作用机制需要深入研究之外, lncRNA 在其中的作用还可作为新的研究方向。

4 小结与展望

HIF-1 α 作为细胞内源性关键调节因子, 调控着广泛而精密的生物代谢网络, 同时也在 miRNAs 调控骨代谢的过程中发挥着重要的作用。近几年才陆续展开的缺氧条件下 miRNAs 对骨代谢调控的研究, 已经部分揭示了 HIF-1 α 与一些 miRNAs 共同参与骨代谢调控的调节机制, 这或许可为骨质疏松症等代谢性骨病提供一种新的预防及治疗策略。

然而目前关于 miRNAs 通过 HIF-1 α 调控骨代谢的研究结果, 大部分都指向骨代谢中的骨形成方面, 而涉及骨吸收的研究成果少之又少, 且部分研究缺乏动物实验的验证。此外, 骨代谢的调控是一个非常复杂的生理过程, 因此, 其完整的网络分子调节机制仍有待进一步地研究去证实与完善。

参考文献 (References)

- [1] CHOUDHRY H, HARRIS A L. Advances in hypoxia-inducible factor biology [J]. *Cell Metab*, 2018, 27(2): 281-98.
- [2] MOTYL K J, GUNTUR A R, CARVALHO A L, et al. Energy metabolism of bone [J]. *Toxicol Pathol*, 2017, 45(7): 887-93.
- [3] STEGEN S, LAPERRÉ K, EELÉN G, et al. HIF-1 α metabolically controls collagen synthesis and modification in chondrocytes [J]. *Nature*, 2019, 565(7740): 511-5.
- [4] BARTEL D P. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function [J]. *Cell*, 2004, 116(2): 281-97.
- [5] 匡嘉兵, 申文娟, 马永刚, 等. miR-455-3p 靶向 HIPK2 调控高糖环境下成骨细胞的增殖和凋亡 [J]. *中国组织工程研究* (KUANG J B, SHEN W J, MA Y G, et al. Effect of miR-455-3p targeting HIPK2 on proliferation and apoptosis of osteoblasts induced by high glucose [J]. *Chineses Journal of Tissue Engineering Research*), 2020, 24(11): 1641-6.
- [6] 朱伟, 孙琴, 张博燃, 等. c-fos 在破骨细胞分化中的作用及机

- 制 [J]. *临床口腔医学杂志* (ZHU W, SUN Q, ZHANG B R, et al. The role and mechanism of c-fos in osteoclast differentiation [J]. *Journal of Clinical Stomatology*), 2019, 35(1): 3-7.
- [7] PENZKOFER D, BONAUE A, FISCHER A, et al. Phenotypic characterization of miR-92a^{-/-} mice reveals an important function of miR-92a in skeletal development [J]. *PLoS One*, 2014, 9(6): e101153.
- [8] KAEHLIN W G, RATCLIFFE P J. Oxygen sensing by metazoans: the central role of the HIF hydroxylase pathway [J]. *Mol Cell*, 2008, 30(4): 393-402.
- [9] LI H S, ZHOU Y N, LI L, et al. HIF-1 α protects against oxidative stress by directly targeting mitochondria [J]. *Redox Biol*, 2019, 25: 101109.
- [10] LEE J W, BAE S H, JEONG J W, et al. Hypoxia-inducible factor (HIF-1) α : its protein stability and biological functions [J]. *Exp Mol Med*, 2004, 36(1): 1-12.
- [11] GU Q, GU Y, SHI Q, et al. Hypoxia promotes osteogenesis of human placental-derived mesenchymal stem cells [J]. *Tohoku J Exp Med*, 2016, 239(4): 287-96.
- [12] KHOSLA S. Pathogenesis of age-related bone loss in humans [J]. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2013, 68(10): 1226-35.
- [13] ARNETT T R, GIBBONS D C, UTTING J C, et al. Hypoxia is a major stimulator of osteoclast formation and bone resorption [J]. *J Cell Physiol*, 2003, 196(1): 2-8.
- [14] SATHY B N, DALY A, GONZALEZ-FERNANDEZ T, et al. Hypoxia mimicking hydrogels to regulate the fate of transplanted stem cells [J]. *Acta Biomater*, 2019, 88: 314-24.
- [15] YANG M, LI C J, SUN X, et al. MiR-497 approximately 195 cluster regulates angiogenesis during coupling with osteogenesis by maintaining endothelial Notch and HIF-1 α activity [J]. *Nat Commun*, 2017, 8: 16003.
- [16] GUSTAFSSON M V, ZHENG X, PEREIRA T, et al. Hypoxia requires notch signaling to maintain the undifferentiated cell state [J]. *Dev Cell*, 2005, 9(5): 617-28.
- [17] OISHI S, SHIMIZU Y, HOSOMICHI J, et al. Intermittent hypoxia influences alveolar bone proper microstructure via hypoxia-inducible factor and VEGF expression in periodontal ligaments of growing rats [J]. *Front Physiol*, 2016, 7: 416.
- [18] STEINBRECH D S, MEHRARA B J, SAADEH P B, et al. VEGF expression in an osteoblast-like cell line is regulated by a hypoxia response mechanism [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2000, 278(4): C853-60.
- [19] WANG Y, WAN C, DENG L, et al. The hypoxia-inducible factor α pathway couples angiogenesis to osteogenesis during skeletal development [J]. *J Clin Invest*, 2007, 117(6): 1616-26.
- [20] SCHIPANI E, RYAN H E, DIDRICKSON S, et al. Hypoxia in cartilage: HIF-1 α is essential for chondrocyte growth arrest and survival [J]. *Genes Dev*, 2001, 15(21): 2865-76.
- [21] BOZEC A, BAKIRI L, HOEBERTZ A, et al. Osteoclast size is controlled by Fra-2 through LIF/LIF-receptor signalling and hypoxia [J]. *Nature*, 2008, 454(7201): 221-5.
- [22] MA Z, YU R, ZHAO J, et al. Constant hypoxia inhibits osteoclast differentiation and bone resorption by regulating phosphorylation of JNK and I κ B α [J]. *Inflamm Res*, 2019, 68(2): 157-66.
- [23] HULLEY P A, BISHOP T, VERNET A, et al. Hypoxia-inducible factor 1- α does not regulate osteoclastogenesis but enhances bone resorption activity via prolyl-4-hydroxylase 2 [J]. *J Pathol*, 2017, 242(3): 322-33.

- [24] BARTEL D P. Metazoan microRNAs [J]. Cell, 2018, 173(1): 20-51.
- [25] MOHR A M, MOTT J L. Overview of microRNA biology [J]. Semin Liver Dis, 2015, 35(1): 3-11.
- [26] SCHIRLE N T, SHEU-GRUTTADURIA J, MACRAE I J. Structural basis for microRNA targeting [J]. Science, 2014, 346(6209): 608-13.
- [27] 黄大耿, 郝定均, 张峰, 等. 绝经后骨质疏松症差异microRNA表达及靶基因分析[J]. 中华创伤杂志(HUANG D G, HAO D J, ZHANG F, et al. Differentially expressed microRNA and target gene analysis in patients with postmenopausal osteoporosis [J]. Chinese Journal of Trauma), 2019, 35(11): 1038-43.
- [28] ZHANG B, LI Y, YU Y, et al. MicroRNA-378 promotes osteogenesis-angiogenesis coupling in BMMSCs for potential bone regeneration [J]. Anal Cell Pathol (Amst), 2018, 2018: 8402390.
- [29] SUN M, HU L, WANG S, et al. Circulating microRNA-19b identified from osteoporotic vertebral compression fracture patients increases bone formation [J]. J Bone Miner Res, 2020, 35(2): 306-16.
- [30] MA S, WANG D D, MA C Y, et al. microRNA-96 promotes osteoblast differentiation and bone formation in ankylosing spondylitis mice through activating the Wnt signaling pathway by binding to SOST [J]. J Cell Biochem, 2019, 120(9): 15429-42.
- [31] MOLLAZADEH S, FAZLY BAZZAZ B S, NESHATI V, et al. Overexpression of microRNA-148b-3p stimulates osteogenesis of human bone marrow-derived mesenchymal stem cells: the role of microRNA-148b-3p in osteogenesis [J]. BMC Med Genet, 2019, 20(1): 117.
- [32] ZHENG H, LIU J, TYCKSEN E, et al. MicroRNA-181a/b-1 over-expression enhances osteogenesis by modulating PTEN/PI3K/AKT signaling and mitochondrial metabolism [J]. Bone, 2019, 123: 92-102.
- [33] ZHANG Y, LI S, YUAN S, et al. MicroRNA-23a inhibits osteogenesis of periodontal mesenchymal stem cells by targeting bone morphogenetic protein signaling [J]. Arch Oral Biol, 2019, 102: 93-100.
- [34] WANG Q, WANG C H, MENG Y. microRNA-1297 promotes the progression of osteoporosis through regulation of osteogenesis of bone marrow mesenchymal stem cells by targeting WNT5A [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2019, 23(11): 4541-50.
- [35] MAO Z, ZHU Y, HAO W, et al. MicroRNA-155 inhibition up-regulates LEPR to inhibit osteoclast activation and bone resorption via activation of AMPK in alendronate-treated osteoporotic mice [J]. IUBMB Life, 2019, 71(12): 1916-28.
- [36] XIE Y, ZHANG L, GAO Y, et al. The multiple roles of microRNA-223 in regulating bone metabolism [J]. Molecules, 2015, 20(10): 19433-48.
- [37] LIU D W, ZHANG Y N, HU H J, et al. Downregulation of microRNA199a5p attenuates hypoxia/reoxygenation-induced cytotoxicity in cardiomyocytes by targeting the HIF-1 α -GSK3 β -mPTP axis [J]. Mol Med Rep, 2019, 19(6): 5335-44.
- [38] LEE J S, PARK J C, KIM T W, et al. Human bone marrow stem cells cultured under hypoxic conditions present altered characteristics and enhanced *in vivo* tissue regeneration [J]. Bone, 2015, 78: 34-45.
- [39] DU K, LI Z, FANG X, et al. Ferulic acid promotes osteogenesis of bone marrow-derived mesenchymal stem cells by inhibiting microRNA-340 to induce beta-catenin expression through hypoxia [J]. Eur J Cell Biol, 2017, 96(6): 496-503.
- [40] LIU X D, CAI F, LIU L, et al. MicroRNA-210 is involved in the regulation of postmenopausal osteoporosis through promotion of VEGF expression and osteoblast differentiation [J]. Biol Chem, 2015, 396(4): 339-47.
- [41] SUN G, PENG H. HIF-1 α -induced microRNA-210 reduces hypoxia-induced osteoblast MG-63 cell apoptosis [J]. Biosci Biotechnol Biochem, 2015, 79(8): 1232-9.
- [42] COSTA V, RAIMONDI L, CONIGLIARO A, et al. Hypoxia-inducible factor 1 α may regulate the commitment of mesenchymal stromal cells toward angio-osteogenesis by mirna-675-5P [J]. Cytotherapy, 2017, 19(12): 1412-25.
- [43] COSTA V, CARINA V, CONIGLIARO A, et al. miR-31-5p is a LIPUS-mechanosensitive microRNA that targets HIF-1 α signaling and cytoskeletal proteins [J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(7): 1569.
- [44] YANG C, LIU X, ZHAO K, et al. miRNA-21 promotes osteogenesis via the PTEN/PI3K/Akt/HIF-1 α pathway and enhances bone regeneration in critical size defects [J]. Stem Cell Res Ther, 2019, 10(1): 65.
- [45] SUN K T, CHEN M Y, TU M G, et al. MicroRNA-20a regulates autophagy related protein-ATG16L1 in hypoxia-induced osteoclast differentiation [J]. Bone, 2015, 73: 145-53.
- [46] KANG H, YANG K, XIAO L, et al. Osteoblast hypoxia-inducible factor-1 α pathway activation restrains osteoclastogenesis via the interleukin-33-microRNA-34a-Notch1 pathway [J]. Front Immunol, 2017, 8: 1312.
- [47] LIU M, WANG D, LI N. MicroRNA-20b downregulates HIF-1 α and inhibits the proliferation and invasion of osteosarcoma cells [J]. Oncol Res, 2016, 23(5): 257-66.
- [48] ZHANG H, GUO X, FENG X, et al. MiRNA-543 promotes osteosarcoma cell proliferation and glycolysis by partially suppressing PRMT9 and stabilizing HIF-1 α protein [J]. Oncotarget, 2017, 8(2): 2342-55.
- [49] YU X, HU L, LI S, et al. Long non-coding RNA Taurine upregulated gene 1 promotes osteosarcoma cell metastasis by mediating HIF-1 α via miR-143-5p [J]. Cell Death Dis, 2019, 10(4): 280.
- [50] TSAI H C, TZENG H E, HUANG C Y, et al. WISP-1 positively regulates angiogenesis by controlling VEGF-A expression in human osteosarcoma [J]. Cell Death Dis, 2017, 8(4): e2750.