

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2022.11.009
文章编号: 1005-8982 (2022) 11-0051-06

实验研究·论著

Lnc-AK077216 基于 OPG/RANKL/RANK 通路 对破骨细胞分化成熟的调控作用

李坤, 喻锋, 余国庆, 陈志龙, 王晶
(鄂州市中心医院 骨科, 湖北 鄂州 436000)

摘要: **目的** 基于骨保护蛋白(OPG)/细胞核因子κB受体活化因子配体(RANKL)/细胞核因子κB受体活化因子(RANK)通路探究Lnc-AK077216对破骨细胞(OC)分化成熟的调控作用。**方法** 取对数生长期RAW264.7小鼠单核巨噬细胞,采用脂质体转染法将Lnc-AK077216-shRNA、Control-shRNA转染至RAW264.7细胞,分别设为转染组、空载组。另取未作处理细胞设为对照组。采用荧光显微镜观察转染率,并采用实时荧光定量聚合酶链反应(qRT-PCR)测定转染后Lnc-AK077216 mRNA相对表达量;抗酒石酸酸性磷酸酶(TRAP)染色检测诱导分化7 d后的OC数及阳性染色面积;采用qRT-PCR检测诱导分化培养3 d后各组OPG、RANKL、RANK mRNA相对表达量;采用Western blotting检测诱导分化培养3 d后各组OPG、RANKL、RANK蛋白相对表达量。**结果** 转染48 h后,荧光显微镜显示转染效率>70%;转染48 h后转染组Lnc-AK077216 mRNA相对表达量低于对照组和空载组($P < 0.05$);诱导分化前RAW264.7细胞多呈圆形且形态规则,诱导分化7 d后经TRAP染色,可观察到呈阳性的多核巨细胞,细胞有伪足、突起,且体积较大,表明生成OC;转染组OC数少于对照组和空载组($P < 0.05$),阳性染色面积小于对照组和空载组($P < 0.05$);转染组OPG mRNA和蛋白相对表达量高于对照组和空载组($P < 0.05$),RANKL、RANK mRNA和蛋白相对表达量均低于对照组和空载组($P < 0.05$)。**结论** 敲低Lnc-AK077216可抑制RAW264.7细胞向OC分化,其调控机制可能与上调OPG mRNA和蛋白表达,下调RANKL、RANK mRNA和蛋白表达有关。

关键词: Lnc-AK077216;骨保护蛋白;细胞核因子κB受体活化因子配体;细胞核因子κB受体活化因子;破骨细胞;分化

中图分类号: R681.4

文献标识码: A

Regulatory effect of Lnc-AK077216 on osteoclast differentiation and maturation through OPG/RANKL/RANK pathway

Kun Li, Feng Yu, Guo-qing Yu, Zhi-long Chen, Jing Wang
(Department of Orthopaedics, Ezhou Central Hospital, Ezhou, Hubei 436000, China)

Abstract: Objective To explore the regulatory effect of Lnc-AK077216 on osteoclast differentiation and maturation based on the OPG/RANKL/RANK pathway. **Methods** Mononuclear macrophages of RAW264.7 mice in logarithmic phase were taken, Lnc-AK077216-shRNA and Control-shRNA were transfected into RAW264.7 cells by liposome transfection method, which were set as transfection group and empty group. The other untreated cells were set as the control group. The transfection efficiency was observed with a fluorescence microscope, and the relative expression of Lnc-AK077216 mRNA after transfection was measured by real-time fluorescent quantitative polymerase chain reaction (qRT-PCR). Tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP) staining was used to detect OC

收稿日期: 2022-01-22

[通信作者] 喻锋, E-mail: yufeng8108@163.com

number and positive staining area after 7 days of induced differentiation. qRT-PCR was used to determine the relative expression of OPG, RANKL, and RANK mRNA in each group after 3 days of induced differentiation. Western blot was used to determine the relative expression of OPG, RANKL, and RANK proteins in each group after 3 days of induced differentiation. **Results** After 48 hours of transfection, fluorescence microscopy showed that the transfection efficiency was $> 70\%$. After 48 hours of transfection, the relative expression levels of Lnc-AK077216 mRNA in the transfection group were lower than those in the control group and the empty group ($P < 0.05$). Before induction of differentiation, RAW264.7 cells were mostly round and regular in shape. After 7 days of induction, they were stained with TRAP. The formation of multinucleated giant cells with TRAP staining was observed. The cells had pseudopods and protrusions, and the volume was large, indicating that OC was generated. The number of OC in the stained group was less than that in the control group and the empty group ($P < 0.05$). The area of positive staining in the stained group was less than that in the control group and the empty group ($P < 0.05$). The relative expression of OPG mRNA and protein in the transfection group were higher than those in the control group and the empty group ($P < 0.05$). The relative expression levels of RANKL and RANK mRNA and the protein in the transfection group were lower than those in the control group and the empty group ($P < 0.05$). **Conclusion** Knockdown of Lnc-AK077216 can inhibit the differentiation of RAW264.7 cells to OC. The regulatory mechanism may be related to up-regulation of OPG, and down-regulation of RANKL and RANK.

Keywords: Lnc-AK077216; osteoprotective protein; nuclear factor κ B receptor activating factor ligand; nuclear factor κ B receptor activating factor; osteoclast; differentiation

人体中骨代谢的稳定性由骨重建维持, 包括成骨细胞(Osteoblast, OB)介导的骨形成、破骨细胞(Osteoclast, OC)介导的骨吸收^[1]。当骨重建平衡被打破, 骨量将异常减少或增加, 导致骨质疏松、骨关节炎、佩吉特病等骨破坏性疾病, 其中骨质疏松发病率居首位, 严重降低患者生活质量^[2]。目前骨质疏松治疗以基础药物、抗吸收药物、骨生成药物为主, 但前两类药物无诱导骨生成能力, 且安全性有待提升, 骨生成药物可刺激骨生成, 但容易导致内分泌紊乱。故进一步探讨新型治疗方式以改善骨质疏松疗效具有必要性。OC是机体中唯一具有骨吸收作用的细胞, 目前调节OC活性被认为是治疗骨质疏松较为直接、有效的方式。长链非编码RNA(long noncoding RNA, LncRNA)是新发现的一类非编码RNA分子, 几乎参与mRNA转录、拼接、降解、翻译等全部过程, 已有国内外研究证实其异常表达与OC活性关系密切^[3-5]。但目前鲜有关于Lnc-AK077216对OC分化成熟的调控作用及具体机制的研究。鉴于此, 本研究通过建立敲低Lnc-AK077216的RAW264.7细胞模型, 探讨Lnc-AK077216对OC分化成熟的调控作用, 并探讨相关调控机制, 为骨质疏松治疗提供依据。

1 材料与方法

1.1 细胞、主要试剂及仪器

RAW264.7小鼠单核巨噬细胞(中国科学院细胞库)。MEM α 培养基(上海康朗生物科技有限公司), 胎牛血清、DMEM培养基(美国Thermo Fisher Scientific公司), 磷酸盐缓冲液(PBS)[西格玛奥德里奇(上海)贸易有限公司], Trizol试剂盒(北京柏莱斯特科技发展有限公司), RT-Kit逆转录试剂盒[宝生物工程(大连)有限公司], QIAGEN208054荧光定量试剂盒[天根生化科技(北京)有限公司], 抗酒石酸性磷酸酶(tartrate resistant acid phosphatase, TRAP)染色试剂盒(美国Sigma公司), Bradford蛋白定量试剂盒(美国Thermo Fisher Scientific公司), ECL化学发光检测试剂盒(北京庄盟国际生物基因科技有限公司), 6XD-3光学显微镜(上海光学仪器一厂), BX61型荧光显微镜(日本Olympus株式会社), 实时荧光定量聚合酶链反应(qRT-PCR)仪、ChemiDoc XRS化学发光成像系统(美国Bio-Rad公司)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养、转染 RAW264.7细胞培养于MEM α 培养基(含10%胎牛血清、1%双抗), 于37 $^{\circ}$ C、5%二氧化碳培养箱中传代培养。取对数生长期细胞经胰蛋白酶消化, 以 8×10^4 个/mL接种于

24 孔板,置于培养箱中继续培养。观察细胞生长状态,当融合度达到 50% 左右时,吸弃上层培养液, PBS 洗涤 2 次。按照脂质体转染法操作说明书进行转染,转染 Lnc-AK077216-shRNA、Control-shRNA 的细胞分别设为转染组和空载组。每孔板加入 2 mL 高糖 DMEM 培养液(含 20% 胎牛血清,不含抗生素),继续培养 48 h,荧光显微镜下观察感染率。未经处理的 RAW264.7 细胞设为对照组。每组设置 5 个复孔。

1.2.2 转染后 Lnc-AK077216 mRNA 相对表达量检测 采用 qRT-PCR 法检测空载组和转染组的 Lnc-AK077216 mRNA 相对表达量。收集转染 48 h 后的 RAW264.7 细胞, Trizol 试剂盒提取细胞总 RNA,取 2 μg 样本逆转录获取 cDNA。采用琼脂糖凝胶电泳法对产物进行鉴定,实施 qRT-PCR。按照 QIAGEN208054 荧光定量试剂盒说明书设置反应体系: $2 \times$ SYBR Green Master Mix 10.5 μL , 正反向引物各 0.7 μL (10 $\mu\text{mol/L}$), cDNA 1 μL , dd H₂O 7.6 μL 。反应条件: 95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 5 min; 95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 25 s, 60 $^{\circ}\text{C}$ 退火 20 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 60 s, 重复 40 个循环。Lnc-AK077216 正向引物: 5'-TGACAGTGCATGAGTGCACCGT-3', 反向引物: 5'-TGTGGACGTGACGCACCTCTATGC-3'; β -actin 正向引物: 5'-CCAGATGCCGTGACGGCACAAGTC-3', 反向引物: 5'-TGAAGTCGTACCATACCGTGGCA-3'。以 β -actin 为内参基因,采用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法计算目的基因相对表达量。所有实验重复 3 次求 Ct 均值。

1.2.3 TRAP 染色 取对数生长期 RAW 264.7 细胞以 1.5×10^4 个/孔接种于 96 孔板,待细胞铺满底部时采用 DMEM 高糖培养基(含 100 ng/mL RANKL)进行诱导分化,隔天换液,7 d 后行 TRAP 染色。移除孔中培养液,用 PBS 洗 3 次后吸除干净;室温下用 4% 多聚甲醛固定液固定 20 min,用 PBS 洗 3 次后吸除干净;加入配置好的 TRAP 染色液,置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵箱中孵育 40 min;弃去培养液,加入 PBS 100 μL /孔,显微镜下观察染色情况并计数,以 ≥ 3 个细胞核,且 TRAP 染色阳性为 OC 鉴定标准;使用 IPP 软件统计视野下 TRAP 阳性染色面积,每孔随机选取 3 个视野求均值。

1.2.4 各组细胞骨保护蛋白(OPG)/细胞核因子 κB 受体活化因子配体(RANKL)/细胞核因子 κB 受体活化因子(RANK) mRNA 相对表达量检测 收集各组诱导分化培养 3 d 的细胞,提取、鉴定总 RNA 方式及 qRT-PCR 法同 1.2.2。OPG 正向引物: 5'-TTGTACGTTGCACGCCAGTGCACG-3', 反向引物: 5'-TACAACCAACTGCCACGTTGCACG-3'; RANKL 正向引物: 5'-ACCGTGTACGTTGCACTGCACGT-3', 反向引物: 5'-GTGACTCCAGTGCCGTGCATGCCA-3'; RANK 正向引物: 5'-CTGACGTGCACGTGCCACGTGGCA-3', 反向引物: 5'-ATTGGAAACGGCACTTGAAGTGCAC-3'; β -actin 正向引物: 5'-TGACTGGCAGTCAGCATGCCGTGGC-3', 反向引物: 5'-TGTACGTGCACGTGCCACGGCCAC-3'。以 β -actin 为内参基因,采用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法计算目的基因相对表达量。所有实验重复 3 次求 Ct 均值。

1.2.5 各组细胞 OPG、RANKL、RANK 蛋白相对表达量检测 采用 Western blotting 检测各组细胞 OPG、RANKL、RANK 蛋白相对表达量。取各组诱导分化培养 3 d 的 RAW264.7 细胞,冰上操作,经预冷 PBS 洗涤 2 次,弃去 PBS。加入蛋白裂解液,置于离心管,冰上裂解 30 min,4 $^{\circ}\text{C}$ 13 000 r/min 离心 15 min (离心半径为 8 cm),取上清液,使用 Bradford 蛋白定量试剂盒进行检测。取 50 μg 样品加入 $5 \times$ SDS-PAGE 上样缓冲液,沸水浴 5 min。冰上冷却后以恒定电压进行聚偏二氟乙烯膜转膜,转膜后加入 50 g/L 脱脂奶粉,室温摇床孵育 2 h。将封闭好的聚偏二氟乙烯膜置入杂交袋,加入一抗(1:1 000)室温孵育过夜, TBTS 漂洗 15 min \times 3 次。再次将聚偏二氟乙烯膜置入杂交袋,加入二抗(1:8 000)室温孵育 1 h 后 TBTS 漂洗 10 min \times 3 次。将 ECL A、B 液等量混合,放入聚偏二氟乙烯膜,孵育 10 s,吸除膜上发光液,采用 ECL 化学发光成像系统对目的条带进行检测,以 OPG、RANKL、RANK 蛋白灰度值/内参 β -actin 灰度值表示蛋白相对表达量。

1.3 统计学方法

数据分析采用 SPSS 24.0 统计软件,计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,比较用方差分析,进一步两两比较采用 SNK- q 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 RAW264.7 细胞转染率

转染 48 h 后，荧光显微镜下观察同一视野里 RAW264.7 细胞转染情况，转染率 > 70%。见图 1。

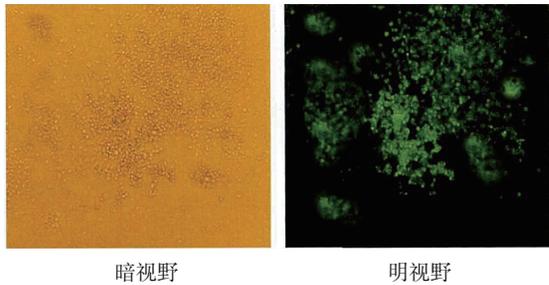


图 1 荧光显微镜下观察 RAW264.7 细胞转染率 (×100)

2.2 转染后细胞 Lnc-AK077216 mRNA 相对表达量下降

转染 48 h 后对照组、空载组、转染组细胞 Lnc-AK077216 mRNA 相对表达量分别为 (0.74 ± 0.08) 、 (0.71 ± 0.09) 、 (0.47 ± 0.05) ，经方差分析，差异有统计学意义 ($F = 19.324, P = 0.000$)，转染组 Lnc-AK077216 mRNA 相对表达量均低于对照组和空载组 ($P < 0.05$)；对照组与空载组比较，差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见图 2。

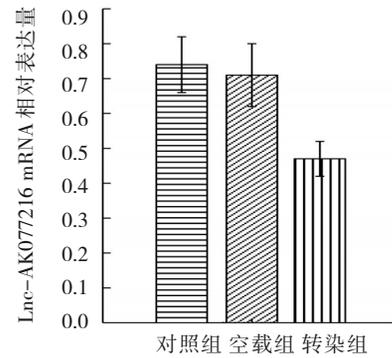


图 2 转染后各组 Lnc-AK077216 mRNA 相对表达量 ($\bar{x} \pm s$)

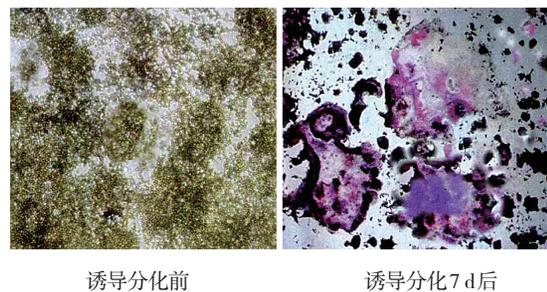


图 3 RAW 264.7 细胞诱导分化前、诱导分化 7 d 后 TRAP 染色结果 (×100)

2.3 诱导分化 RAW 264.7 细胞后的形态学变化

诱导分化前 RAW264.7 细胞多呈圆形且形态规则，诱导分化 7 d 后经 TRAP 染色，可观察到呈阳性的多核巨细胞，细胞有伪足、突起，且体积较大，表明生成 OC。见图 3。

2.4 各组 OC 数、阳性染色面积比较

各组 OC 数、阳性染色面积比较，经方差分析，差异有统计学意义 ($P < 0.05$)，转染组 OC 数少于对照组和空载组 ($P < 0.05$)，阳性染色面积小于对照组和空载组 ($P < 0.05$)；对照组与空载组 OC

数、阳性染色面积比较，差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 1 和图 4。

表 1 各组 OC 数、阳性染色面积比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	OC 数/个	阳性染色面积 μm^2
对照组	237.58 ± 29.97	$322\ 567.56 \pm 42\ 561.32$
空载组	235.01 ± 30.14	$311\ 635.12 \pm 46\ 964.21$
转染组	106.86 ± 11.25^{①②}	$207\ 561.20 \pm 25\ 682.94^{①②}$
F 值	43.344	12.924
P 值	0.000	0.000

注：①与对照组比较， $P < 0.05$ ；②与空载组比较， $P < 0.05$ 。

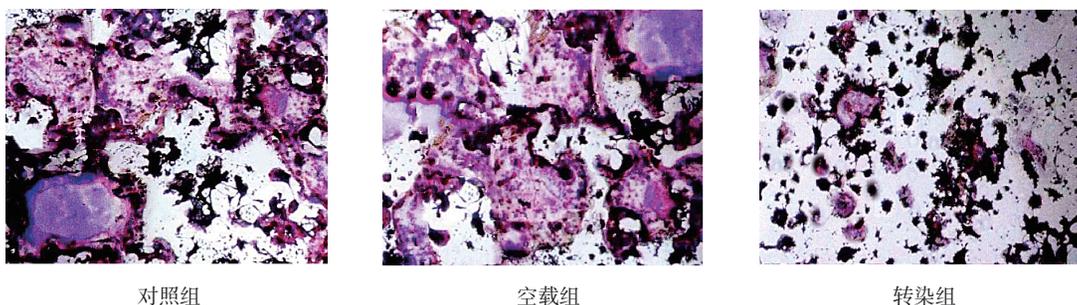


图 4 各组细胞 TRAP 染色结果 (×100)

2.5 各组细胞 OPG、RANKL、RANK mRNA 相对表达量比较

各组细胞 OPG、RANKL、RANK mRNA 相对表达量比较,经方差分析,差异有统计学意义($P < 0.05$),转染组 OPG mRNA 相对表达量高于对照组和空载组($P < 0.05$),RANKL、RANK mRNA 相对表达量低于对照组和空载组($P < 0.05$);对照组和空载组 OPG、RANKL、RANK mRNA 相对表达量比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 2。

表 2 各组细胞 OPG、RANKL、RANK mRNA 相对表达量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	OPG mRNA	RANKL mRNA	RANK mRNA
对照组	0.46 ± 0.05	0.62 ± 0.08	0.70 ± 0.08
空载组	0.48 ± 0.07	0.59 ± 0.06	0.69 ± 0.09
转染组	0.71 ± 0.08 ^{①②}	0.32 ± 0.04 ^{①②}	0.42 ± 0.05 ^{①②}
F 值	20.978	35.302	22.265
P 值	0.000	0.000	0.000

注:①与对照组比较, $P < 0.05$;②与空载组比较, $P < 0.05$ 。

2.6 各组细胞 OPG、RANKL、RANK 蛋白相对表达量比较

各组细胞 OPG、RANKL、RANK 蛋白相对表达量比较,经方差分析,差异有统计学意义($P < 0.05$),转染组 OPG 蛋白相对表达量高于对照组和空载组($P < 0.05$),RANKL、RANK 蛋白相对表达量低于对照组和空载组($P < 0.05$);对照组和空载组 OPG、RANKL、RANK 蛋白相对表达量比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 3 和图 5。

表 3 各组细胞 OPG、RANKL、RANK 蛋白相对表达量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	OPG 蛋白	RANKL 蛋白	RANK 蛋白
对照组	0.51 ± 0.06	0.79 ± 0.08	0.85 ± 0.09
空载组	0.49 ± 0.05	0.78 ± 0.09	0.82 ± 0.07
转染组	0.82 ± 0.09 ^{①②}	0.35 ± 0.06 ^{①②}	0.41 ± 0.05 ^{①②}
F 值	36.162	52.293	58.484
P 值	0.000	0.000	0.000

注:①与对照组比较, $P < 0.05$;②与空载组比较, $P < 0.05$ 。

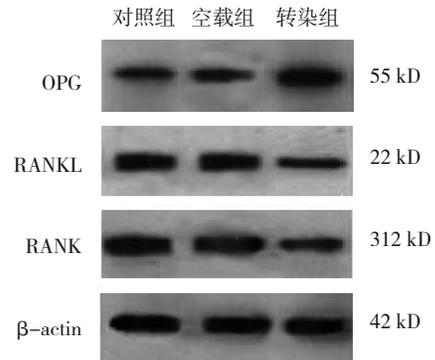


图 5 各组细胞 OPG/RANKL/RANK 通路蛋白表达

3 讨论

骨质疏松好发于老年群体,研究认为高龄、内分泌异常、肥胖、偏食、缺乏运动、遗传等均为其发生的危险因素^[6-7]。骨质疏松的直接病因是 OC 过度激活或破骨前体细胞向 OC 过度分化,导致骨吸收过程加速,并以骨组织显微结构变化、骨量降低等为主要病理改变^[8]。OC 经过细胞成熟和极化,骨吸收面细胞中生成肌动蛋白环,促使细胞膜形成微皱褶,与骨表面形成封闭区域,进而发挥骨吸收功能,参与骨质疏松进程。因此,研究影响 OC 分化活性的基因对于骨质疏松治疗具有重要意义。

本研究发现,转染组 Lnc-AK077216 mRNA 相对表达量低于对照组和空载组;转染组 OC 数少于对照组和空载组,TRAP 阳性染色面积小于对照组和空载组,提示敲低 LncRNA-AK077216 可显著抑制 RAW264.7 细胞向 OC 分化。LncRNA 具有基因表达调控功能,广泛参与细胞增殖、分化、凋亡等生物学行为过程^[10]。WANG 等^[11]表明,LncRNA LINC00311 可通过调控 Notch 信号通路促进骨质疏松模型大鼠中 OC 的增殖、分化。洪宇桁等^[12]研究证实,LncRNA NEAT1 在 OC 分化过程中过表达,且可促进 OC 分化并抑制 OB 分化进而诱发骨质疏松。表明调控 LncRNA 可能作为影响 OC 分化的途径之一。Lnc-AK077216 可通过介导相关信号通路调控 OB 形成,其异常表达可影响破骨前体细胞向 OC 分化的活性,导致骨量紊乱。本研究结果显示,诱导后 OC 数量减少。由此可见,敲降 Lnc-AK077216 可显著阻断 RAW264.7 细胞向 OC 分化的过程,该基因可能成为骨质疏松治疗的潜在靶点。

本研究结果提示敲低 Lnc-AK077216 对 RAW264.7 细胞向 OC 分化的抑制作用可能与调控 OPG、RANKL、RANK 表达有关。OPG/RANKL/RANK 信号通路是近年来发现的 OC 分化过程中重要的信号传导通路, 该通路被激活后可延缓 OC 凋亡, 通过复杂的机制促进骨基质吸收, 引发骨质疏松^[13-14]。破骨前体细胞或 OC 细胞表面 RANK 与 RANKL 结合后, 介导信号激活破骨前体细胞向成熟 OC 分化, 并抑制 OC 凋亡^[15]。OPG 可竞争性结合 RANKL, 阻断 RANKL 与 RANK 结合, 抑制破骨前体细胞分化, 促使成熟 OC 凋亡。LIU 等^[16]研究证实, Lnc-AK077216 可促进 NFATc1 表达, 而 NFATc1 是 OC 形成过程中必需的转录因子, 且去卵巢小鼠骨髓中 Lnc-AK077216、NFATc1 表达均上调。而 NFATc1 是 RANKL/RANK 信号系统下游关键转录因子^[17], 故结合本研究结论推测 Lnc-AK077216 可通过介导 OPG/RANKL/RANK 信号通路影响 OC 分化。

综上所述, 敲低 Lnc-AK077216 可抑制 RAW264.7 细胞向 OC 分化, 其调控机制可能与上调 OPG mRNA 及蛋白表达, 下调 RANKL 和 RANK mRNA 及蛋白表达有关, 提示 Lnc-AK077216 基因及其靶蛋白 OPG、RANKL、RANK 可能成为骨质疏松及其他骨破坏相关疾病治疗的潜在靶点, 为临床治疗提供理论依据。Lnc-AK077216 对 OC 分化的调控可能存在其他机制, 仍需进一步研究。

参 考 文 献 :

- [1] CHEN X, WANG Z Q, DUAN N, et al. Osteoblast-osteoclast interactions[J]. *Connect Tissue Res*, 2018, 59(2): 99-107.
- [2] ENSRUD K E, CRANDALL C J. Osteoporosis[J]. *Ann Intern Med*, 2017, 167(3): ITC17-ITC32.
- [3] 曹志林, 曲晓怡, 成功, 等. 长链非编码 RNA LINC00311 对骨质疏松大鼠破骨细胞增殖能力的影响[J]. *中华实验外科杂志*, 2019, 36(5): 912-914.
- [4] LEE C P, HUANG Y N, NITHIYANANTHAM S, et al. LncRNA-*Jak3*: *JAK3* coexpressed pattern regulates monosodium urate crystal-induced osteoclast differentiation through *Nfatc1/Ctsk* expression[J]. *Environ Toxicol*, 2019, 34(2): 179-187.
- [5] QUAN H Y, LIANG M M, LI N, et al. LncRNA-AK131850 sponges MiR-93-5p in newborn and mature osteoclasts to enhance the secretion of vascular endothelial growth factor a promoting vasculogenesis of endothelial progenitor cells[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 46(1): 401-417.
- [6] BIJELIC R, MILICEVIC S, BALABAN J. Risk factors for osteoporosis in postmenopausal women[J]. *Med Arch*, 2017, 71(1): 25-28.
- [7] COSMAN F, HATTERSLEY G, HU M Y, et al. Effects of abaloparatide-SC on fractures and bone mineral density in subgroups of postmenopausal women with osteoporosis and varying baseline risk factors[J]. *J Bone Miner Res*, 2017, 32(1): 17-23.
- [8] SLEEMAN A, CLEMENTS J N. Abaloparatide: a new pharmacological option for osteoporosis[J]. *Am J Health Syst Pharm*, 2019, 76(3): 130-135.
- [9] ONO T, NAKASHIMA T. Recent advances in osteoclast biology[J]. *Histochem Cell Biol*, 2018, 149(4): 325-341.
- [10] QIAN X Y, ZHAO J Y, YEUNG P Y, et al. Revealing lncRNA structures and interactions by sequencing-based approaches[J]. *Trends Biochem Sci*, 2019, 44(1): 33-52.
- [11] WANG Y, LUO T B, LIU L, et al. LncRNA LINC00311 promotes the proliferation and differentiation of osteoclasts in osteoporotic rats through the notch signaling pathway by targeting DLL3[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 47(6): 2291-2306.
- [12] 洪宇桁, 雪原. lncRNA NEAT1 过表达促进破骨细胞分化并抑制成骨细胞分化诱发骨质疏松[J]. *天津医科大学学报*, 2019, 25(1): 5-9.
- [13] TYROVOLA J B. The "Mechanostat" principle and the osteoprotegerin-OPG/RANKL/RANK system part II. The role of the hypothalamic-pituitary axis[J]. *J Cell Biochem*, 2017, 118(5): 962-966.
- [14] 韩书阁, 程瑞清, 王洪洁, 等. 稳定期 COPD 合并骨质疏松的男性患者血清 MMP-9、TNF- α 与 OPG/RANK/RANKL 系统相关性研究[J]. *国际呼吸杂志*, 2018, 38(19): 1470-1475.
- [15] KOVÁCS B, VAJDA E, NAGY E E. Regulatory effects and interactions of the Wnt and OPG-RANKL-RANK signaling at the bone-cartilage interface in osteoarthritis[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(18): 4653.
- [16] LIU C, CAO Z, BAI Y, et al. LncRNA AK077216 promotes RANKL-induced osteoclastogenesis and bone resorption via NFATc1 by inhibition of NIP45[J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(2): 1606-1617.
- [17] 王晨. 重组腺病毒介导 siCXCR2 抑制磨损颗粒诱导破骨细胞分化成熟的作用[D]. 重庆: 重庆医科大学, 2016.

(张西倩 编辑)

本文引用格式: 李坤, 喻锋, 余国庆, 等. Lnc-AK077216 基于 OPG/RANKL/RANK 通路对破骨细胞分化成熟的调控作用[J]. *中国现代医学杂志*, 2022, 32(11): 51-56.

Cite this article as: LI K, YU F, YU G Q, et al. Regulatory effect of Lnc-AK077216 on osteoclast differentiation and maturation through OPG/RANKL/RANK pathway[J]. *China Journal of Modern Medicine*, 2022, 32(11): 51-56.