

- F891 – 900
- 5 Chen NX, Moe SM. Pathophysiology of vascular calcification [J]. Curr Osteoporos Rep, 2015, 13(6):372 – 380
- 6 New SE, Aikawa E. Role of extracellular vesicles in de novo mineralization: an additional novel mechanism of cardiovascular calcification [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2013, 33(8):1753 – 1758
- 7 Shanahan CM, Crouthamel MH, Kapustin A, *et al.* Arterial calcification in chronic kidney disease: key roles for calcium and phosphate [J]. Circ Res, 2011, 109(6):697 – 711
- 8 Shanahan CM. Autophagy and matrix vesicles: new partners in vascular calcification [J]. Kidney Int, 2013, 83(6):984 – 986
- 9 Geng Y, Hsu JJ, Lu J, *et al.* Role of cellular cholesterol metabolism in vascular cell calcification [J]. J Biol Chem, 2011, 286(38):33701 – 33706
- 10 Yoshida T, Yamashita M, Hayashi M. Kruppel – like factor 4 contributes to high phosphate – induced phenotypic switching of vascular smooth muscle cells into osteogenic cells [J]. J Biol Chem, 2012, 287(31):25706 – 25714
- 11 Yao L, Sun YT, Sun W, *et al.* High phosphorus level leads to aortic calcification via β – catenin in chronic kidney disease [J]. Am J Nephrol, 2015, 41(1):28 – 36
- 12 Deng D, Diao Z, Han X, *et al.* Secreted frizzled – related protein 5 attenuates high phosphate – induced calcification in vascular smooth muscle cells by inhibiting the Wnt/ β – catenin pathway [J]. Calcif Tissue Int, 2016, 99(1):66 – 75
- 13 Razzaque MS. Phosphate toxicity and vascular mineralization [J]. Contrib Nephrol, 2013, 180:74 – 85
- 14 Han X, Wang LY, Diao ZL, *et al.* Apelin: a novel inhibitor of vascular calcification in chronic kidney disease [J]. Atherosclerosis, 2016, 244:1 – 8
- 15 Burns MP, Rebeck GW. Intracellular cholesterol homeostasis and amyloid precursor protein processing [J]. Biochim Biophys Acta, 2010, 1801(8):853 – 859
- 16 Stevenson J, Huang EY, Olzmann JA. Endoplasmic reticulum – associated degradation and lipid homeostasis [J]. Annu Rev Nutr, 2016, 36:511 – 542
- 17 Howe V, Sharpe LJ, Alexopoulos SJ, *et al.* Cholesterol homeostasis: how do cells sense sterol excess? [J]. Chem Phys Lipids, 2016, 199:170 – 178
- 18 Faust PL, Kovacs WJ. Cholesterol biosynthesis and ER stress in peroxisome deficiency [J]. Biochimie, 2014, 98:75 – 85
- 19 Dong XY, Tang SQ, Chen JD. Dual functions of Insig proteins in cholesterol homeostasis [J]. Lipids Health Dis, 2012, 11:173
- (收稿日期:2017 – 09 – 17)
- (修回日期:2017 – 10 – 08)

胰岛素样生长因子 1 (IGF – 1) 通过抑制 RUNX2 促进骨折愈合的机制研究

易知非 周 芳 谢增如

摘 要 **目的** 探讨 IGF – 1 信号促进骨折愈合的分子机制。**方法** 建立 IGF – 1 成骨细胞特异性敲除小鼠的骨折模型, 三点弯曲试验分析 IGF – 1 敲除组 (KO) 与对照组 (Con) 的最大载荷。通过 Q – PCR 和 TRAP 染色方法检测 KO 组和 Con 组成骨细胞分化指标的表达式破骨细胞的个数。分离并培养来自 KO 组和 Con 组小鼠的骨髓基质细胞 (BMSC), 经瞬时转染 si – RUNX2, 采用 Q – PCR 和 Western blot 法检测转染前后 BMSC 细胞中成骨细胞分化指标的表达式情况。**结果** 骨折后 10 天和 21 天, KO 组的最大载荷明显低于 Con 组。与 Con 组相比, KO 组愈合组织的 OCN 和 ALP 表达显著降低, 而 RUNX2 则明显提高, 且 TRAP 阳性破骨细胞数显著减少, 表明敲除 IGF – 1 破坏了小鼠的骨折愈合能力。通过瞬时转染 si – RUNX2 于 BMSC 细胞, 发现干扰 RUNX2 表达能够有效挽救因 IGF – 1 敲除而破坏的成骨细胞分化潜能。表明 RUNX2 参与 IGF – 1 信号调节的骨折愈合过程。**结论** IGF – 1 能够诱导成骨细胞分化和破骨细胞形成, 其诱导成骨细胞分化的机制可能是通过抑制 RUNX2 的表达, 这为骨折愈合的机制提供新的理论依据。

关键词 骨折愈合 IGF – 1 RUNX2 成骨细胞 破骨细胞

中图分类号 R318 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2018.10.009

Mechanism of Insulin – like Growth Factor 1 (IGF – 1) Promoting Fracture Healing by Inhibiting RUNX2. Yi Zhifei, Zhou Fang, Xie

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81660368)

作者单位: 830054 乌鲁木齐, 新疆医科大学第一附属医院创伤科

通讯作者: 谢增如, 主任医师, 教授, 博士生导师, 电子信箱: xinhospital@163.com

Zengru. Department of Raumatology, First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Xinjiang 830054, China

Abstract Objective To investigate the molecular mechanism of IGF-1 promoting fracture healing. **Methods** The fracture model of osteoblast-specific IGF-1 knockout mice was established, and the maximum load of IGF-1 knockout group (KO) and control group (Con) were analyzed by three-point bending test. The makers of osteoblasts differentiation and number of osteoclasts of KO and Con group was detected by Q-PCR and TRAP staining. Bone marrow stromal cells from KO and Con mice were isolated and cultured, and transiently transfected with si-RUNX2, the markers of osteoblast differentiation in BMSC cells was detected by Q-PCR and western blot. **Results** At 10 days and 21 days after fracture, the maximum load in KO group was significantly lower than that in Con group. Compared with Con group, the expression of OCN and ALP in KO group decreased significantly, whereas RUNX2 increased significantly, and the number of TRAP positive osteoclasts decreased significantly, which indicated that IGF-1 knockdown impaired the fracture healing ability of mice. Via transient transfection si-RUNX2 into BMSC cells, interfering with RUNX2 expression can effectively rescue the osteoblast differentiation potential impaired by IGF-1 knockout. RUNX2 is implicated in the process of fracture healing with IGF-1 signaling. **Conclusion** IGF-1 can induce osteoblast differentiation and osteoclast formation. The possible mechanism of IGF-1 inducing osteoblast differentiation is through inhibition of RUNX2 expression, which provides a new theoretical basis for the mechanism of fracture healing.

Key words Fracture healing; IGF-1; RUNX2; Osteoblasts; Osteoclasts

胰岛素样生长因子1 (insulin-like growth factor 1, IGF-1) 是骨骼中最丰富的生长因子, 通过与其受体 IGF1R 结合形成促骨骼生长的信号系统^[1]。IGF-1 在骨骼发育和重塑中起重要作用, 其通过内分泌、旁分泌和自分泌等机制调控骨骼的生长, 包括介导生长激素和 PTH 调节的骨骼活性^[2]。一项临床研究表明, 生长激素 (GH)/IGF-1 轴受损与骨折愈合的质量相关, 且在患者的骨折愈合部位能够检测到 IGF 家族成员, 提示 IGF-1 参与骨折愈合的病理过程^[3,4]。

骨折愈合与骨骼的生成和重塑密切相关, 该过程包括细胞凝聚, 肥大性软骨形成, 基质矿化, 血管形成, 骨形成和通过破骨细胞活性的愈伤组织重构, 参与骨骼重塑的细胞主要包括成骨细胞 (osteoblast) 和破骨细胞 (osteoclasts), 而触发成骨细胞和破骨细胞生成的主要事件是骨髓基质细胞 (BMSC) 向成骨细胞的转变, 以及单核-吞噬细胞前体向破骨细胞的转变^[5-8]。在骨折愈合过程中, IGF-1 以自分泌/旁分泌的方式参与间充质细胞、骨膜细胞、成骨细胞、破骨细胞和软骨细胞的细胞增殖和分化, 成骨细胞也依赖于 IGF-1 信号来调节破骨细胞生成, IGF-1 刺激成骨细胞和软骨细胞的 VEGF 分泌以促进血管生成^[9-11]。这些研究结果提示成骨细胞通过协调不同细胞群之间的相互作用, 发挥骨折愈合的作用, 且这些细胞之间的通讯功能依赖于 IGF-1 的信号转导。然而, 骨折愈合过程中的 IGF-1 信号在成骨细胞与其他细胞通讯中的功能和机制尚未明晰, 研究发现 RUNX2 是 BMSC 转化成 osteoblast 的特定信号通路中的重要因子, 因此推测 IGF-1 可能通过调节 RUNX2 从而激活 BMSC 转化 osteoblast 的

信号^[12]。

本研究通过建立 IGF-1 敲除小鼠的骨折模型, 分离骨髓基质细胞 (BMSC) 及干扰 RUNX2 的方法, 证实 IGF-1 能够抑制骨髓基质细胞 RUNX2 的表达, 并通过抑制 RUNX2 进一步诱导成骨细胞的分化, 从而促进骨折愈合。

材料与方法

1. 材料: 选取 12 周龄的成骨细胞特异性 IGF-1 基因敲除小鼠 20 只为研究组 (KO 组), 12 周龄正常小鼠 20 只为对照组 (Con 组), 小鼠均购自新疆医科大学动物试验中心, RNA 提取试剂盒和反转录 cDNA 试剂盒购自美国 Promega 公司, 干扰 si-RUNX2 序列及引物合成均购自上海吉玛公司, IGF-1 抗体购自英国 Abcam 公司, TRAP 染色试剂盒和免疫组化购自美国 Sigma 公司。

2. 实验方法: (1) 非稳定型胫骨骨折模型的构建及生物力学检测: 使用啮齿动物气体麻醉仪器和异氟烷麻醉 12 周龄的 KO 组小鼠及 Con 组小鼠, 采用 Bose Electroforce 3200 仪, 创建小鼠无固定的闭合性胫骨骨折模型。骨折部位位于右侧骨干中上部, 以 0.05mm/s 的速率记录弯曲刚度和强度, 以三点弯曲法评价胫骨的生物力学特性, 即评估骨折腿部最大载荷。小鼠在骨折后 10 天和 21 天处死, 收集来自 KO 组小鼠及 Con 组小鼠的愈伤组织进行分析。(2) 免疫组化: 将愈伤组织样品放在 10% 甲醛中连续固定 1 天, 在 10% EDTA 溶液中脱钙 10 天后进行冷冻包埋。通过切片机纵向切割 7μm 厚的骨折部位的组织切片。一抗 IGF-1 抗体稀释比例 1:200, 以 PBS 代替一抗作为阴性对照。染色前用冷丙酮在 4℃ 固定

10~20min。PBS 清洗后,加入 3% H₂O₂ 灭活内源性过氧化物酶,20min 避光孵育后加入正常血清进行封闭,37℃,15min。滴加第一抗体:用滤纸吸去血清,滴加一抗 IGF-1 或 PBS,4℃ 过夜孵育后滴加生物素化的二抗,37℃ 孵育 40min 后滴加三抗,37℃ 孵育 40min。PBS 清洗后滴加 DAB 显色,镜下观察,适时终止(自来水冲终止)。自来水充分冲洗后使用苏木素在室温下复染 30s,自来水冲洗后,进行脱水和封片。

(3)骨髓基质细胞的分离培养及转染:3 只 12 周龄的 KO 组小鼠和 Con 组小鼠脱臼处死后,在 75% 乙醇浸泡 5min 后于无菌操作台上无菌条件下分离双侧股骨及胫骨。抽取适量含 10% FBS 的完全培养基冲洗骨髓腔,将骨髓冲入培养瓶,反复吹打骨髓细胞悬液,制成单细胞悬液。细胞悬液在 1000r/min 离心 5min 后收集细胞。将六孔板每孔 5×10^6 的细胞培养在含 10% 胎牛血清(FBS)的 α -MEM 培养基中,培养 7 天后,换成含有 10mmol/L β -甘油磷酸酯和 50mg/ml 抗坏血酸的培养基继续培养,每两天进行细胞换液。当生长密度达到 70%,转染 1 μ g si-RUNX2 片段于 BMSC 细胞中,转染后 48h,收集细胞用于后续的检测。

(4)实时定量 QPCR 检测:采用 Promega 公司的 RNA 小提试剂盒提取各组小鼠愈合组织的 RNA。将提取的总 RNA 反转录成 cDNA 后,荧光定量 PCR 检测 OCN、ALP 和 RUNX2 的表达水平。各检测基因的 QPCR 引物见表 1。QPCR 结果采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算相对表达量。

(5)Western blot 法检测:各组 BMSC 细胞在转染后的 48h 于冰上加入 RIPA 蛋白裂解液并研磨至液态,至 4℃ 离心机以 12000r/min 离心 10min,吸取上清加入 4 倍体积的 SDS loading buffer,混匀后放入 100℃ 水浴 5min。取 30 μ g 的蛋白裂解液加入 8% SDS-PAGE 凝胶中分别以 60V 和 100V 电压进行蛋白浓缩和分离,然后转至 PVDF 膜,以 10% 脱脂奶粉室温封闭 2h 后,加入抗体,4℃ 过夜孵育后,ECL 发光液显色。

(6)TRAP 染色:抗酒石酸酸性磷酸酶(TRAP)为破骨细胞的特异性标志酶,采用美国 Sigma 公司的 TRAP 染色试剂盒对小鼠骨折愈合组织的破骨细胞进行染色,将组织爬片置于 37℃ 烘箱中烘烤 5min 后,加入 2.5% 体积的戊二醛于 4℃ 固定 10min,双蒸水清洗 3 次后,加入孵育液至 37℃ 孵育 50min,用苏木素复染后脱水和封片。

3. 统计学方法:采用 GraphPad Prism 6.05 统计学软件进行统计分析,Student's *t* 检验进行差异比较分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

表 1 QPCR 引物序列		
基因	引物名称	引物序列(5'→3')
OCN	正向引物	AGCATGTAGACTGCTGGGGCAA
	反向引物	CCTGCACTAGCTTTCTGCTGCCTTG
ALP	正向引物	CACAGACTCCCTGCTTTTGCT
	反向引物	TGCCTCAGAAGAGCTGAAAACTT
RUNX2	正向引物	ATGCATTAAAGATATGTTGCC
	反向引物	TGGAGTTGGGAAACACTTGA
β -actin	正向引物	CGGACAGGATTGACAGATTGATAGC
	反向引物	TGCCAGACTCTCGTTCTTATCG

结 果

1. 成骨细胞特异性敲除 IGF-1 降低骨折小鼠的胫骨最大载荷:结果显示在 KO 组小鼠愈合组织的成骨细胞中,IGF-1 蛋白表达较 Con 组小鼠显著降低,见图 1。采用三点弯曲法检测 KO 与 Con 小鼠的胫骨载荷能力,发现 KO 小鼠在骨折后 10 天和 21 天的胫骨最大载荷量明显低于 Con 小鼠,详见表 2。

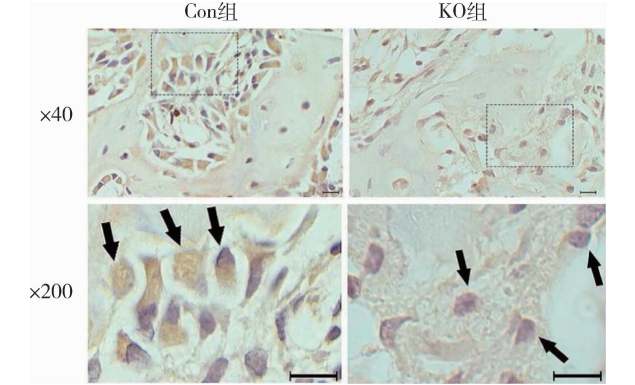


图 1 成骨细胞特异性敲除 IGF-1 小鼠的免疫组化染色
Con. 对照小鼠;KO. IGF-1 特异性敲除小鼠;黑色箭头表示 IGF-1 在成骨细胞中的表达

表 2 KO 组和 Con 组小鼠胫骨的三点弯曲检测	
组别	最大载荷(N)
Con(10 天)组	27.83 ± 3.34
KO(10 天)组	22.52 ± 2.26 *
Con(21 天)组	28.64 ± 3.10
KO(21 天)组	21.11 ± 3.02 *

Con. 对照小鼠;KO. IGF-1 特异性敲除小鼠;与 Con 同天数组比较, * $P < 0.05$

2. IGF-1 基因敲除破坏成骨细胞分化潜能和破骨细胞的形成:基于成骨细胞和破骨细胞是骨折愈合过程中参与骨骼重塑的重要细胞,为鉴定两种细胞在 KO 小鼠与 Con 小鼠中的状况,采用 QPCR 检测成骨细胞分化标记因子 OCN、ALP 和 Runx2 的表达,发现在骨折后的 10 天和 21 天,KO 组小鼠 OCN 和 ALP 表达明显低于 Con 组小鼠,而 RUNX2 则显著高于 Con

组 ($P < 0.01$); TRAP 染色结果显示在骨折后的 10 天和 21 天, KO 小鼠愈合组织中的 TRAP 阳性破骨细胞

数明显低于 Con 小鼠, 表明敲除 IGF-1 明显破坏成骨细胞的分化潜能和破骨细胞的形成, 详见图 2。

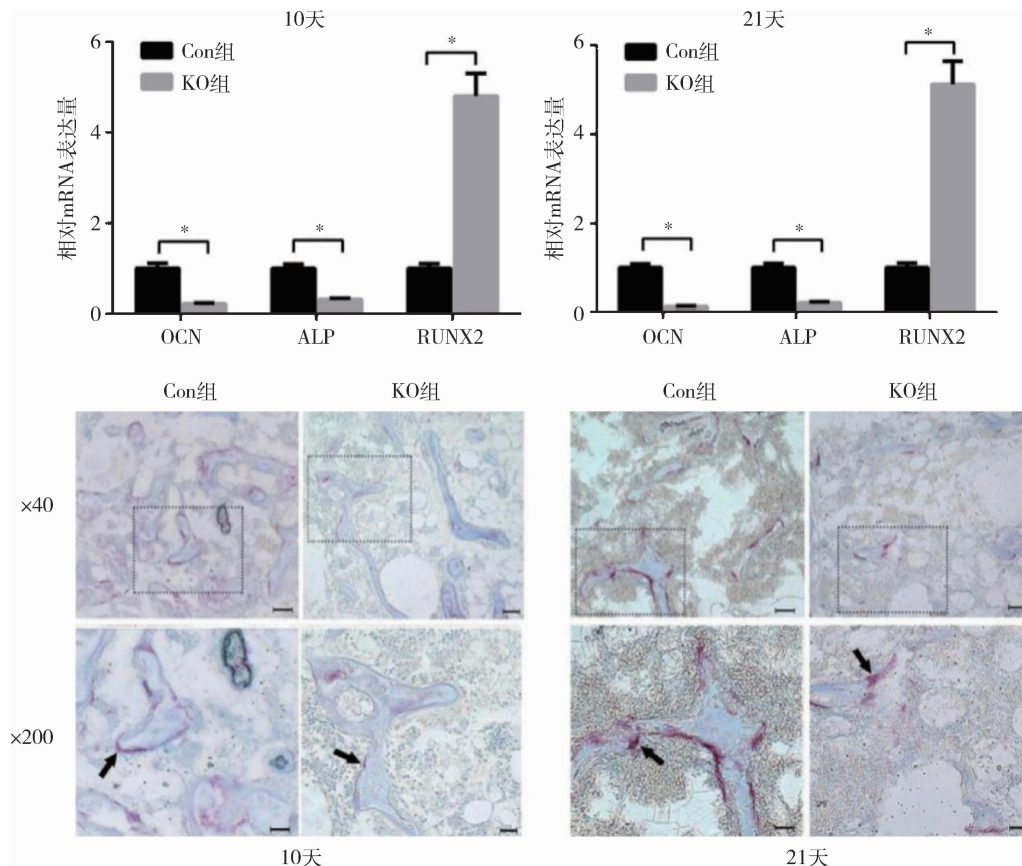


图2 IGF-1 基因敲除破坏成骨细胞分化潜能和破骨细胞的形成

Con. 对照小鼠; KO. IGF-1 特异性敲除小鼠; 黑色箭头表示破骨细胞; * $P < 0.05$

3. RUNX2 参与 IGF-1 调节成骨细胞的分化潜能: 为证明来自 KO 组小鼠的骨髓基质细胞 (BMSC) 的成骨能力受损, 通过分离培养 KO 组和 Con 组小鼠的 BMSC, QPCR 和 Western blot 法鉴定成骨细胞分化标记基因的表达, 如图 3 所示, 结果表明与来自 Con 组小鼠的 BMSC 细胞相比 (Con/BMSC), 来自 KO 组

小鼠的 BMSC 细胞 (KO/BMSC) 的 OCN 和 ALP 表达明显降低, 而 RUNX2 表达则明显提高 ($P < 0.01$)。细胞和组织水平的检测结果均提示 RUNX2 参与 IGF-1 信号的下游基因, 由于 RUNX2 是调节 BMSC 向成骨细胞分化的关键因子, 通过瞬时转染 si-RUNX2 于 KO/BMSC, 检测 OCN 和 ALP 表达变化, 结

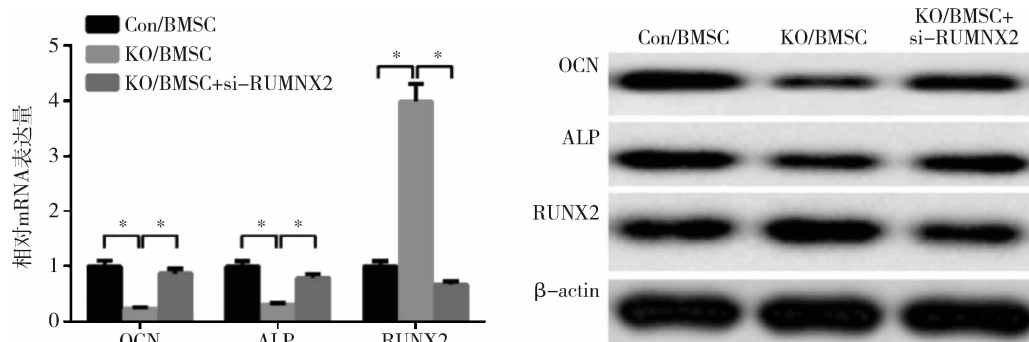


图3 RUNX2 参与 IGF-1 调节成骨细胞的分化潜能

Con/BMSC. 分离自对照小鼠的 BMSC 细胞; KO/BMSC. 分离自 KO 小鼠的 BMSC 细胞;

KO/BMSC + si-RUNX2. KO/BMSC 细胞瞬时转染 si-RUNX2; * $P < 0.05$

果显示转染 si-RUNX2 导致两者的表达明显提高,表明 RUNX2 参与 IGF-1 信号,且是抑制成骨细胞分化的关键因子。

讨 论

IGF-1 信号在骨骼发育和骨重塑中发挥显著的调节作用。在软骨成骨形成和骨折愈合过程中,未成熟的成骨细胞为偶联血管和成骨转化所必需^[13]。因此为了鉴定成骨细胞中 IGF-1 信号在骨折损伤修复过程中的作用,构建 IGF-1 敲除小鼠模型(KO),并通过生物力学测试发现这些 KO 小鼠的胫骨骨干最大载荷能力明显降低,证明敲除 IGF-1 能够减弱小鼠的皮质骨机械性。进一步通过 TRAP 染色发现在 KO 小鼠骨折后的 10 天和 21 天,其破骨细胞形成能力明显低于 Con 小鼠。这些数据表明 IGF-1 的敲除破坏了骨折愈合的能力。提取骨折部位愈伤组织的 RNA 检测成骨细胞分化相关基因表达,发现骨折后 10 天和 21 天的 KO 小鼠其 OCN 和 ALP 的 mRNA 水平较 Con 小鼠均明显降低,而 RUNX2 mRNA 水平则有所提高。提示敲除 IGF-1 破坏了成骨细胞的分化潜能。尽管已有研究显示成骨细胞在骨折愈合过程中的作用,但 IGF-1 信号如何在成骨细胞发育过程中转导鲜有报道。本研究从骨折后 21 天的 KO 及 Con 小鼠的骨髓中分离培养骨髓基质细胞(BMSC),QPCR 和 Western blot 法检测成骨细胞分化相关基因表达,发现 KO 小鼠的 BMSC 细胞中 OCN 和 ALP 的 mRNA 水平较 Con 小鼠均明显降低,表明来自 KO 小鼠的 BMSC 细胞的成骨潜能受损。

RUNX2 具有将 BMSC 细胞转化成骨细胞的能力,但其只能将成骨细胞维持在未成熟阶段^[14]。已有的研究发现 RUNX2 过表达能够抑制成骨细胞成熟和成骨细胞向骨细胞的转变^[15,16]。本研究发现,IGF-1 的敲除能够显著提高 BMSC 细胞中 RUNX2 的表达,但成骨细胞分化标记基因 OCN 和 ALP 的表达水平显著下降,提示 RUNX2 可能是未成熟成骨细胞中 IGF-1 信号调节的重要靶点。为证明 RUNX2 参与 IGF-1 调节的成骨细胞分化和成熟,本研究通过瞬时干扰 KO/BMSC 细胞中的 RUNX2 基因,并经 QPCR 和 Western blot 法检测发现 RUNX2 干扰后,OCN 和 ALP 的表达明显回升,证明 RUNX2 是 IGF-1 信号调节成骨细胞分化和成熟的重要靶点。

综上所述,未成熟成骨细胞中的 IGF-1 信号的破坏能够显著改变骨折愈合的过程。本研究表明骨折愈合过程中成骨细胞与其他细胞群,如 BMSC 和破

骨细胞受到 IGF-1 信号直接或间接的调控而存在紧密的联系。而 RUNX2 参与 IGF-1 的信号转导,且是未成熟成骨细胞向成熟成骨细胞发育过程中的重要抑制基因,这为 IGF-1 信号促进骨折愈合的机制探索提供新的理论依据。

参考文献

- Xue P, Wu X, Zhou L, *et al.* IGF1 promotes osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells derived from rat bone marrow by increasing TAZ expression[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2013, 433(2):226-231
- Bikle DD, Sakata T, Leary C, *et al.* Insulin-like growth factor I is required for the anabolic actions of parathyroid hormone on mouse bone[J]. *J Bone Miner Res*, 2002, 17(9):1570-1578
- Weiss S, Henle P, Bidlingmaier M, *et al.* Systemic response of the GH/IGF-I axis in timely versus delayed fracture healing[J]. *Growth Horm IGF Res*, 2008, 18(3):205-212
- Myers TJ, Yan Y, Granero-Molto F, *et al.* Systemically delivered insulin-like growth factor-I enhances mesenchymal stem cell-dependent fracture healing[J]. *Growth Factors*, 2012, 30(4):230-241
- 陈晨, 张刚, 谷铭勇, 等. 骨细胞网络结构对骨形成和骨吸收的影响[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2016, 22(1):120-124
- Takayanagi H. Osteoimmunology: shared mechanisms and crosstalk between the immune and bone systems[J]. *Nat Rev Immuno*, 2007, 7(4):292-304
- Furuya M, Kikuta J, Fujimori S, *et al.* Direct cell-cell contact between mature osteoblasts and osteoclasts dynamically controls their functions in vivo[J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1):300
- Xu F, McDonald JM. Disorders of bone remodeling[J]. *Annu Rev Pathol*, 2011, 6(1):121-145
- Wang Y, Nishida S, Elalieh HZ, *et al.* Role of IGF-I signaling in regulating osteoclastogenesis[J]. *J Bone Miner Res*, 2006, 21(9):1350-1358
- Bikle DD, Wang Y. Insulin like growth factor-I: a critical mediator of the skeletal response to parathyroid hormone[J]. *Curr Mol Pharmacol*, 2012, 5(2):135-142
- Ferretti C, Vozzi G, Falconi M, *et al.* Role of IGF1 and IGF1/VEGF on human mesenchymal stromal cells in bone healing: two sources and two fates[J]. *Tissue Eng Part A*, 2014, 20(17-18):2473-2482
- Long F. Building strong bones: molecular regulation of the osteoblast lineage[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2012, 13(1):27-38
- Maes C, Kobayashi T, Selig MK, *et al.* Osteoblast precursors, but not mature osteoblasts, move into developing and fractured bones along with invading blood vessels. [J]. *Developmental Cell*, 2010, 19(2):329-344
- Komori T. Regulation of osteoblast differentiation by transcription factors[J]. *J Cell Biochem*, 2006, 99(5):1233-1239
- Yang JW, Jeong BC, Park J, *et al.* PHF20 positively regulates osteoblast differentiation via increasing the expression and activation of Runx2 with enrichment of H3K4me3[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1):8060
- Chen C, Tang Z, Song Q, *et al.* Downregulated microRNA-23b promotes BMP9-mediated osteogenesis in C2C12 myoblast cells by targeting Runx2[J]. *Mol Med Rep*, 2016, 13(3):2492-2498

(收稿日期:2018-02-25)

(修回日期:2018-03-11)