

论 著

(基础研究)

miR-125b 调控 Runx2/Osx 表达对骨髓间充质干细胞成骨机制的影响

彭 俊, 刘英杰, 宗 阳, 詹玉林

【摘要】 目的 分析 miR-125b 调控成骨细胞特异性转录因子 Runx2/Osx 表达对骨髓间充质干细胞(BMSCs)成骨机制的影响。**方法** 40 只雌性大鼠随机分为对照组、骨折模型组、骨折模拟物组、骨折抑制剂组各 10 只,建立大鼠股骨干闭合骨折模型(对照组除外),造模后分离培养 BMSCs,7 d 后骨折模拟物组转染 miRNA-125b 模拟物(mimic),骨折抑制剂组转染 miRNA-125b 抑制剂(inhibitor),观察 BMSCs 形态学、表达及增殖情况,应用 Western blot 法检测成骨基因[骨钙素(OCN)骨桥蛋白(OPN)、Osx、Runx2 蛋白]、成脂基因[过氧化物酶体增殖物激活受体(PPAR γ)]的表达。**结果** qPCR 显示 miR-125b 在骨折模型 BMSCs 中表达上调[(1.48 \pm 0.18) *vs* (0.95 \pm 0.12), $P < 0.05$];转染 7 d 时,骨折抑制剂组细胞质出现红染脂滴细胞,骨折模拟物组在第 14 天时出现一定脂肪细胞形态特征。骨折模拟物组 Runx2、OCN、Osx 分别为(0.20 \pm 0.03)、(0.45 \pm 0.05)、(0.34 \pm 0.04),均低于其他 3 组,而 PPAR γ (0.51 \pm 0.05)高于其他 3 组,骨折模拟物组 OPN(0.52 \pm 0.06)低于骨折抑制剂组(0.88 \pm 0.02),差异有统计学意义($P < 0.05$),而与对照组、骨折模型组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。**结论** miR-125b 可通过调控 Runx2/Osx 而负性调节 OCN 表达,正性调节 PPAR γ 、OPN 的表达,从而调控 BMSCs 成骨能力。

【关键词】 miR-125b;Osx;骨髓间充质干细胞;成骨;机制

【中图分类号】 R392.12

【文献标志码】 A

【文章编号】 1672-271X(2019)02-0124-06

【DOI】 10.3969/j.issn.1672-271X.2019.02.003

Effect of miR-125b regulating the expression of Runx2 / Osx on osteogenesis mechanism of bone mesenchymal stem cells

PENG Jun, LIU Ying-jie, ZONG Yang, ZHAN Yu-lin

(Department of Orthopedics, Eastern Hospital of Shanghai Sixth People's Hospital Affiliated to Shanghai University of Medicine & Health Sciences, Shanghai 201306, China)

【Abstract】 Objective To analyze the effect of miR-125b regulating the expression of Runx2/Osx on osteogenesis mechanism of bone mesenchymal stem cells (BMSCs). **Methods** Forty female rats were randomly divided into control group, fracture model group, fracture model with mimic group, fracture model with inhibitor group (10 rats per group). The rat models of femoral shaft closed fractures were established in the other three groups except control group. BMSCs were isolated and cultured after successful modeling. After 7 days, fracture model with mimic group was transfected with miR-125b mimic. The fracture model with inhibitor group was transfected with miRNA-125b inhibitor. The morphology, expression and proliferation of BMSCs were observed. The expressions of osteogenesis gene [osteocalcin (OCN) osteopontin (OPN), Osx, Runx2 protein] and lipogenic gene [peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPAR γ)] were detected by Western blot. **Results** qPCR showed that the expression of

基金项目:上海健康医学院种子基金(HMSF-17-22-026)
作者单位:201306 上海,上海健康医学院附属第六人民医院东院骨科(彭 俊、刘英杰、宗 阳、詹玉林)
通信作者:詹玉林, E-mail: bondwe@163.com

miR-125b was up regulated in BMSCs of the fracture model $[(1.48 \pm 0.18) \text{ vs } (0.95 \pm 0.12)]$ ($P < 0.05$). Red stained lipid droplet cells appeared in the cytoplasm of fracture model with inhibitor group at 7 days after transfection. In fracture model with mimic group, morphological characteristics of adipocytes appeared on the 14th day. Runx2, OCN and Osx in fracture model with mimic group $[(0.20 \pm 0.03), (0.45 \pm 0.05), (0.34 \pm 0.04)]$ were lower than those in the other three groups, while PPAR γ (0.51 ± 0.05) was higher than that in the other three groups. OPN in fracture model with mimic group was lower than that in fracture model with inhibitor group $[(0.52 \pm 0.06) \text{ vs } (0.88 \pm 0.02)]$ ($P < 0.05$). But there was no significant difference between control group and fracture model group ($P > 0.05$).

Conclusion The miR-125b may negatively regulate the expression of OCN by regulating Runx2/Osx, and positively regulate the expression of PPAR γ and OPN, thus regulate the osteogenesis of BMSCs.

[Key words] miR-125b; Osx; bone marrow mesenchymal stem cells; osteogenesis; mechanism

0 引言

大量研究发现,骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs)具有多向分化能力、免疫原型小、增殖能力强、来源充足、取材广泛等优点,目前在组织工程及临床骨折患者中广泛使用,因此分析 BMSCs 成骨分化机制有重要意义^[1]。MicroRNA(miRNA)是参与各种基因调控过程的非编码小 RNA,其中 miR-125b 在细胞进程中起着重要作用,尤其是在调细胞增殖及分化中,研究表明 miR-125b 可通过调节 BMSCs 的成骨分化,然而 miR-125b 是如何调控 BMSCs 的成骨分化还需进一步探索^[2-3]。成骨细胞特异性转录因子 Osterix(Osx)是在转录因子 Runx2 之后发现的成骨分化关键转录因子,研究发现缺乏 Osx 的小鼠软骨内成骨及膜内成骨缺乏,成骨细胞分化的各种标志物表达也下降,对骨髓干细胞分化起着重要作用,有研究^[4]表明 miR-125b 通过 Cbfb 调节间充质干细胞成骨分化。本研究主要分析 miR-125b 通过调控 Runx2/Osx 对 BMSCs 成骨及成脂基因的影响,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 选取 SPF 级 Sprague Dawley(SD)雌性大鼠 40 只,周龄 6~8 周,平均 (7.04 ± 0.72) 周;体重在 190~215 g,平均 (200.19 ± 10.14) g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,合格证号:SCXK(京)2012-0001,于洁净实验室正常喂养(室温 20~

24℃,相对湿度 40%~60%,12 h 昼夜交替光照),试验期间均予以自由摄食、饮水。随机分为对照组、骨折模型组、骨折模拟物组、骨折抑制剂组,每组 10 只。除对照组外,其他 3 组大鼠建立股骨干闭合骨折模型,造模后分离培养 BMSCs,7 d 后骨折模拟物组转染 miRNA-125b 模拟物(mimic),骨折抑制剂组转染 miRNA-125b 抑制剂(inhibitor),各组周龄、体重比较差异无统计学意义($P > 0.05$),有可比性。本研究实验过程符合动物实验中心伦理学标准。

1.1.2 实验耗材及仪器 主要材料:胎牛血清(10099-141);0.01 mol/L PBS(20012,吉诺);miRNA 提取分离试剂盒(DP501)、miR-NC 购于天根公司;PMSF(Amresco 公司);茜素红(RASMX-90021,Cyagen 公司);Western 及 IP 细胞裂解液;SDS-PAGE 凝胶(上海钰森生物技术);Trizma[®]base(V900483-500G,VEtec);Western 一抗稀释液(P0023A,碧云天生物工程)、辣根过氧化物酶标记山羊抗小鼠 IgG(H+L)(A0216,碧云天生物工程);BMP-2 购买于上海 Prime Gene Bio-Tech Co.,Ltd,货号:D10802031。主要仪器:细胞培养皿(430167,Corning 公司);DMEM 低糖培养基(11885-084,Gibco 公司);CO₂ 恒温培养箱(MCO-15AC,Sanyo 公司);L-500 离心机;CKX41 倒置显微镜(Olympus 公司);罗氏 LightCycler[®]96 荧光定量 PCR 仪;荧光化学发光成像系统(ChemiQ4600,上海勤翔仪器);低温高速离心机(D3024R 型,大龙兴创实验仪器有限公司);电泳仪(BIO RAD)。

1.2 方法

1.2.1 大鼠股骨干骨折模型的建立 对骨折模型组、骨折模拟物组、骨折抑制剂组大鼠建立骨折模型,取 10% (0.33 mL/100 g) 水合氯醛行腹腔麻醉,术区常规消毒,取右侧股骨干外侧切口,将直径为 0.45 mm 不锈钢针在切口处刺入骨髓至约股骨转子间窝水平,关闭术口,再次以稀碘消毒术口。术毕将大鼠转移至载物台,右大腿置于冲击台。以 200 g 砝码自 20 cm 高处落下(依据大鼠体重适度调整),使该侧肢体股骨骨折。以烤灯照射直至苏醒,放入笼中自由饮水、饮食;术后连续 3 d 腹腔注射青霉素钠 8 万单位,1 次/d,术口常规消毒。

1.2.2 BMSCs 的分离与培养 采用骨髓贴壁法:以 100 mg/L 水合氯醛麻醉大鼠,应用 75% 酒精浸泡 3 min,碘伏消毒 2 次,无菌条件下取出双侧股骨与腔骨,5 mL 注射器抽取培养液反复冲洗骨髓腔 2~3 次,离心,加入 6 mL 完全培养基,种植在 25 cm² 培养瓶中,在 37 ℃、饱和湿度、5%CO₂ 的培养箱中培养,2 d 后首次换液,后每 3 d 换液 1 次,待多数成纤维集落 70%~80% 融合时,以 2.5 g/L 胰蛋白酶消化细胞,原代按 1:1 比例传代,此后按 1:2 传代,待 BMSC 细胞完全铺展开并状态良好后即可用于实验。

1.2.3 成骨诱导方法 弃去 10% 胎牛血清 DMEM/F12 培养基后,以 0.01 mol/L PBS 洗涤细胞,后更换为含 BMP-2 (100 ng/mL) 培养基,将其置于孵箱中 (5% CO₂, 37 ℃), 2~3 d 换液 1 次。

1.2.4 细胞转染 取经 BMP-2 处理后的对数生长期 HMSC-bm 细胞系,加入 0.25% 胰蛋白酶消化细胞,细胞呈单个存在时转移至新 EP 管中,1000 r/min 离心 5 min,加不含胎牛血清的不完全培养液接种至细胞培养板中,在 37 ℃、5%CO₂ 培养箱中培养。当细胞融合度达到 60% 时,将对照 miR-NC、不完全培养基、miR-125b mimics、miR-25b inhibitor 混合后后加入至对照组、骨折模型组、骨折模拟物组、骨折抑制剂组,滴加到 24 孔板表面,37 ℃、5%CO₂ 转染 48 h。

1.2.5 qPCR 取适量细胞样本加 1 mL 裂解液,加入 1/5 裂解液体积的氯仿,剧烈震荡后静置 5 min,

离心 15 min,吸取上清液至另一 RNase free EP 管,加入无水乙醇,混匀,转入吸附柱,弃掉吸附柱 miR-spin,加无水乙醇混匀,保留 miRelute,向吸附柱中加入 500 μL 去蛋白液 MRD,静置 2 min,弃废液,向吸附柱 miRelute 中加入 500 μL 漂洗液 RW,静置 2 min。将吸附柱 miRelute 转移至新的 1.5 mL RNase-free 管,放置 5 min 充分晾干,向吸附柱加入 15~30 μL RNase-free ddH₂O,放置 2 min,离心,测定 miRNA 浓度。在 0.2 mL 无 RNA 酶的 EP 管中配制混合液 (5×miScript Hispec buffer 4 μL+10×miScript Nucleics mix 2 μL+miScript reverse transcriptase mix 2 μL+总 RNA 500 ng,无核酶的水至 20 μL), 37 ℃, 60 min, 95 ℃, 5 min, 4 ℃, 60 min 得到的 cDNA 加入 80 μL 无酶水稀释备用。后进行定量 PCR 反应, 20 μL 反应体系, 95 ℃, 15 min, 1 次; 94 ℃, 15 s, 60 ℃, 30 s, 70 ℃, 30 s, 40 次。上机扩增检测,利用 2^{-ΔΔC_t} 法计算相对表达量。

1.2.6 细胞茜素红染色法 取 12 孔板,每孔加 1×PBS 冲洗,加 2 mL 4% 中性甲醛固定 30 min,每孔加 1 mL 茜素红染液染 3~5 min,采用 10% 氯化十六烷基吡啶洗脱茜素红,吸走茜素红染液,以 1×PBS 冲洗 2~3 次,将培养板置于显微镜下观察成骨染色效果。

1.2.7 Western blot 检测 以 Western 检测法测定成骨基因[骨钙素 (osteocalcin, OCN)、骨桥蛋白 (osteopontin, OPN)、Osx、Runx2 蛋白]和成脂基因[过氧化物酶体增殖物激活受体 (peroxisome proliferator activated receptor γ, PPARγ)] 水平。

1.3 统计学分析 采用 SPSS 19.0 软件处理数据,计量资料以均数±标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,组间比较采用独立样本 *t* 检验,以 *P* ≤ 0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 大鼠原代 BMSCs 细胞分离培养结果 倒置显微镜下观察到 24 h 后细胞均贴壁生长,成骨样细胞多呈长梭形,集落样分布,稍有短突触与邻近细胞连接。见图 1。

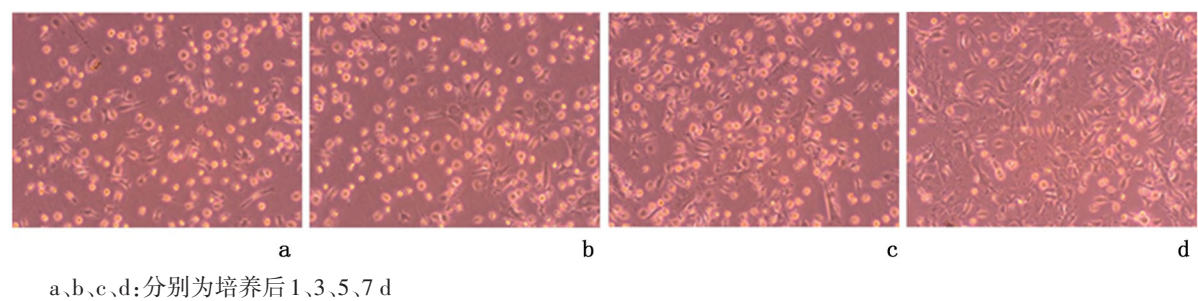


图1 原代BMSCs细胞分离培养结果镜下观察(×100)

2.2 qPCR 检测 miR-125b 在骨折模型中的表达
qPCR 检测结果显示,miR-125b 在骨折模型(骨折模型组、骨折模拟物组、骨折抑制剂组)BMSCs 相对表达量(1.48 ± 0.18)高于对照组(0.95 ± 0.12),差异有统计学意义($P<0.05$)。

2.3 茜素红染色法检测 BMSCs 增殖情况 茜素红染色法显示,转染 7 d 时,骨折抑制剂组细胞开始变形,细胞质内出现红染脂滴细胞,骨折模拟物组则在第 14 天时出现脂肪细胞变形、细胞质内呈现红染脂滴细胞的脂肪细胞形态与特征,

对照组、骨折模型组细胞形态无明显变化,未见红染细胞。见图 2。

2.4 Western blot 检测 4 组成骨基因、成脂基因的表达 对照组、骨折模型组 Runx2、OCN、OPN、Osx、PPAR γ 比较差异无统计学意义($P>0.05$);骨折模拟物组 Runx2、OCN、Osx 低于其他 3 组,而 PPAR γ 高于其他 3 组,骨折模拟物组 OPN 低于骨折抑制剂组,而与对照组、骨折模型组比较差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 1。

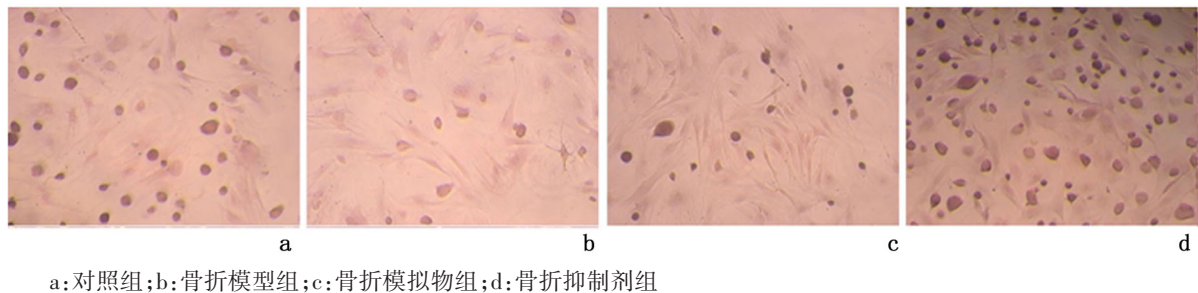


图2 各组转染 7 d BMSCs 增殖情况检测(茜素红染色法 ×100)

表1 Western 法检测 4 组成骨基因、成脂基因的表达($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	Runx2	OCN	OPN	Osx	PPAR γ
对照组	10	$0.38\pm0.05^{*#}$	$0.52\pm0.06^{*#}$	$0.56\pm0.07^{*#}$	$0.50\pm0.06^{*#}$	$0.27\pm0.04^{*#}$
骨折模型组	10	$0.35\pm0.06^{*#}$	$0.51\pm0.06^{*#}$	$0.57\pm0.06^{*#}$	$0.46\pm0.05^{*#}$	$0.26\pm0.03^{*#}$
骨折模拟物组	10	0.20 ± 0.03	0.45 ± 0.05	0.52 ± 0.06	0.34 ± 0.04	0.51 ± 0.05
骨折抑制剂组	10	$0.68\pm0.07^{*}$	$0.89\pm0.09^{*}$	$0.88\pm0.02^{*}$	$0.79\pm0.08^{*}$	$0.18\pm0.02^{*}$
<i>F</i> 值		135.882	90.543	88.613	103.333	150.370
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

与骨折模拟物组比较,* $P<0.05$;与骨折抑制剂组比较,# $P<0.05$

3 讨 论

植骨材料不足为目前临床骨折患者骨缺损修复中所面临的主要问题,而采用组织工程骨移植为当前解决植骨材料不足的主要方法之一,植骨种子细胞为该研究的核心内容^[5-6]。BMSCs 为一种成体干细胞,具有多项分化潜能,可分化为软骨细胞、脂肪细胞及心肌细胞等,是骨移植的种子细胞主要来源,而 BMSCs 向成骨细胞的诱导分化是成骨的关键因素^[7-8]。

miRNAs 为一类含 19~25 个核苷酸的小分子非编码 RNA,可与靶基因结合而抑制靶 mRNA 翻译,使靶 mRNA 得到降解,达到转录后调控目的,其中 miR-125b 是最早发现的 miRNAs 之一,有研究显示 miR-125b 可参与 BMSCs 的成骨分化,但目前关于 miR-125b 调控 BMSCs 成骨分化的机制研究多集中在 Smad4 等蛋白上,而在转录分子水平上的研究较少^[9]。Osx 及 Runx2 均是成骨细胞分化、骨形成过程中重要的转录因子,在成骨细胞分化过程中,Runx2 调控间质细胞向前成骨细胞分化,Osx 则在前成骨细胞向成骨细胞分化过程中起着作用^[10],但 miR-125b 是否可通过调控 Runx2/Osx 而影响 BMSCs 成骨的研究尚未见报道。

miR-125b 起源于 pre-miR-125b-1 (位于 11 号染色体的 11q24.1) 及 pre-miRNA-125b-2 (位于 21 号染色体的 21q21.1),本次研究中,倒置显微镜下可观察到培养 24 h 后,骨折模型大鼠 BMSCs 细胞均贴壁生长,成骨样细胞多长梭形,集落样分布,稍有短突触与邻近细胞连接,同时 qPCR 检测结果显示 miR-125b 在骨折模型 BMSCs 中表达上调,因此 miR-125b 在骨折模型 BMSCs 中呈高表达状态,在骨折模型中,BMSCs 细胞数量降低,增殖能力差,成骨能力弱^[11],因而考虑 miR-125b 可能在骨折模型 BMSCs 成骨中发挥一定作用。本次研究中,茜素红染色法显示,转染 7 d 时,骨折抑制剂组细胞开始变形,细胞质内出现红染脂滴细胞,骨折模拟物组则在第 14 天时出现一定的脂肪细胞形态与特征,对照组、骨折模型组细胞形态无明显变化,未见红染细胞,表明在细胞诱导分化时,miR-125b 在细胞内的表达是

减弱的,此外向细胞导入外源的 miR-125b 后,细胞成骨分化受到抑制,这种现象提示 miR-125b 参与了 BMSCs 成骨分化的调控过程^[12]。

转录因子 Runx2 在成骨细胞分化过程中起着关键作用,Osx 与 Runx2 处于同一转录途径,位于 Runx2 的下游,其表达需要 Runx2 的存在,因此 Osx 与 Runx2 均是成骨细胞分化、骨形成中的两个转录因子,在成骨细胞分化过程中,Runx2 调控间质细胞向前成骨细胞分化,Osx 则在前成骨细胞向成骨细胞分化中起着作用^[13-14]。安敏^[15]的研究发现,在成脂诱导液作用下,成骨样细胞及骨样细胞可诱导分化为脂肪细胞,在该分化过程中,成骨特异性基因 Runx2 表达逐渐下降,成脂特异性基因 PPAR γ 表达上调,骨样细胞在向脂肪细胞分化过程中 PPAR γ 表达逐渐上调。本次研究结果显示,骨折模拟物组 Runx2、OCN、Osx 低于其他 3 组,而 PPAR γ 高于其他 3 组,骨折模拟物组 OPN 低于骨折抑制剂组,而与对照组、骨折模型组比较差异无统计学意义,表明 miR-125b 超表达可调控 BMSCs 细胞成骨分化,miR-125b 对 BMP-2 干扰表达可促进成骨分化,miR-125b 在对 BMP-2 诱导的 BMSCs 成骨分化上起着重要作用,其机制可能为通过作用于 Osx 而显著下调成骨基因 Runx2、OCN、OPN 表达水平,上调成脂基因 PPAR γ ,这充分说明 miR-125b 可能直接作用于 Osx,间接作用于 Runx2,而在 BMSCs 成骨分化中起着重要作用^[16-17]。此外本研究中 miRNAs 虽然是瞬时转染,但仍找到了 miR-125b 可通过长时间(14 d)影响终末成骨分化的确定依据,在目前研究结果上,本研究证实 miR-125b 可通过 Runx2/Osx 而调节早期骨生成,茜素红染色结果也进一步提示 miR-125b 可直接作用于 Osx 而间接作用于 Runx2 以调控 BMSCs 的成骨成脂分化,这为后期在多种骨疾病、血液病等疾病中研究 miR-125b-Runx2/Osx 通路提供了理论依据。

综上所述,miR-125b 可通过调控 Runx2/Osx 而影响 BMSCs 成骨分化的进行,继而可能在骨折愈合与骨不连中发挥重要作用,因此以 miR-125b 为靶点开发的药物有望用于骨折等多种骨疾病的治疗。

[参考文献]

- [1] 范国峰,沙杜鹃,徐 鹏,等.超声联合微泡促进骨髓间充质干细胞迁移的实验研究[J].东南国防医药,2014,16(1):20-22.
- [2] Chen J, Qiu M, Dou C, *et al.* MicroRNAs in bone balance and osteoporosis[J]. *Drug Dev Res*, 2015, 76(5):235-245.
- [3] Du X, Li X, Chen L, *et al.* Hepatic miR-125b inhibits insulin signaling pathway by targeting PIK3CD[J]. *J Cell Physiol*, 2018, 233(8):6052-6066.
- [4] 黄 科.miR-125b 通过 Cb β 调节间充质干细胞成骨分化的分子机制研究[D].第三军医大学,2014.
- [5] 张苗苗,包翠芬,王 艳,等.ZHX3 基因沉默对 BMSCs 中成骨相关因子表达的影响[J].天津医药,2015,43(12):1356-1360.
- [6] 刘 凯,李宗杰,吴海卫,等.重组人促红细胞生成素联合骨髓间充质干细胞移植对大鼠体外循环肾炎症反应的影响[J].医学研究生学报,2016,29(4):364-368.
- [7] Grottkau BE, Yang X, Zhang L, *et al.* Comparison of Effects of Mechanical Stretching on Osteogenic Potential of ASCs and BMSCs[J]. *Bone Res*, 2013, 1(3):282-290.
- [8] 高 璐,郑洪新,陈谊敬,等.补肾中药成分配伍调控 Runx2、OSX 对大鼠 BMSCs 成骨分化的影响[J].世界中西医结合杂志,2014,9(4):425-429.
- [9] Hu HL, Nie ZQ, Lu Y, *et al.* Circulating miR-125b but not miR-125a correlates with acute exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease and the expressions of inflammatory cytokines[J]. *Med*, 2017, 96(51):e9059.
- [10] 李 钧,童 哲,魏 勇,等.miR-125b 靶向 Smad4 调控非创伤性股骨头坏死骨髓基质干细胞成骨分化与增殖的相关性[J].中国老年学杂志,2017,37(1):306-307.
- [11] 汪华清.miR-125b 调控人骨髓间充质干细胞成骨机制的研究[D].第三军医大学,2015.
- [12] 陆细红,邓 敏,贺洪辉,等.miR-125b 通过靶向抑制 Smad4 调控骨髓间充质干细胞成骨分化[J].中南大学学报(医学版),2013,38(4):341-346.
- [13] Wu R, Wang N, Li M, *et al.* Experimental study on the facilitative effects of miR-125b on the differentiation of rat bone marrow mesenchymal stem cells into neuron-like cells[J]. *Cell Biology International*, 2013, 37(8):812-819.
- [14] 吕本浩,李劲峰,马 源,等.双基因重组载体转染乙醇诱导的兔干细胞对其成脂与成骨基因表达的影响[J].中华实验外科杂志,2017,34(12):2187-2190.
- [15] 安 敏.小鼠成骨样细胞和骨样细胞在体外成脂分化的实验研究[D].遵义医学院,2015.
- [16] 代光明,任 磊,陈 虹,等.下调骨细胞 TGF- β /Smad4 信号可抑制小鼠 BMSCs 成骨及破骨分化[J].基础医学与临床,2017,37(6):786-791.
- [17] Fu X, Li Y, Huang T, *et al.* Runx2/Osterix and Zinc Uptake Synergize to Orchestrate Osteogenic Differentiation and CitrateContaining Bone Apatite Formation[J]. *Adv Sci*, 2018, 28, 5(4):1700755.

(收稿日期:2018-06-25; 修回日期:2018-07-26)

(责任编辑:叶华珍; 英文编辑:朱一起)