

非编码RNA调控人牙周膜干细胞成骨向分化的研究进展

王润婷^{1,2} 房付春^{1,2}

1.南方医科大学南方医院口腔科 广州 510515;

2.南方医科大学口腔医学院 广州 510515

[摘要] 牙周炎是一种常见的炎症性疾病,以牙齿支持结构的进行性损伤为特点,是我国成人牙齿丧失的主要原因。治疗牙周炎的目的不仅是通过控制炎症来阻止疾病发展,更重要的是获得牙周再生。人牙周膜干细胞具有成骨向分化潜能,有望在牙周组织修复再生的临床应用上发挥重要作用。非编码RNA(ncRNA)一般是指不编码蛋白质的RNA。伴随高通量检测技术的不断发展,发现了大量的种类丰富的ncRNA,其生物学功能也被不断揭示。越来越多证据显示,ncRNA在分子机制及细胞组织层面对疾病的发生、发展起重要调控作用,因此探索ncRNA调控机制可为牙周再生的研究提供新思路。本综述主要阐述了目前研究较多的几种ncRNA在人牙周膜干细胞成骨向分化中的调控机制。

[关键词] 非编码RNA; 牙周再生; 牙周膜干细胞; 成骨向分化

[中图分类号] Q 756 **[文献标志码]** A **[doi]** 10.7518/gjkq.2020018



开放科学(资源服务)
标识码(OSID)

Progress in research of non-coding RNAs in osteogenic differentiation of human periodontal ligament stem cells

Wang Runting^{1,2}, Fang Fuchun^{1,2}. (1. Dept. of Stomatology, Nanfang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China; 2. School of Stomatology, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China)

This study was supported by National Natural Science Foundation of China (81600882).

[Abstract] Periodontitis is a common inflammatory disease that is characterised by progressive damage to dental supporting structure. Periodontitis is the main cause of tooth loss in adults in China. The aim of periodontal treatment is not only to control inflammation and prevent disease development but also to obtain periodontal regeneration. Human periodontal ligament stem cells (PDLSCs), which are capable of osteogenic differentiation, are expected to play important roles in clinical application of periodontal tissue repair and regeneration. Non-coding RNAs (ncRNAs) generally refer to RNAs that do not encode proteins. The continuous development of high-throughput detection techniques has allowed the identification of a large number of ncRNAs and their biological functions. Increasing numbers of ncRNAs have been reported to function in the pathogenesis of diseases at molecular and cellular levels. Therefore, research on ncRNAs can provide new insights into periodontal regeneration. This review focuses on the regulatory mechanism of several ncRNAs in the osteogenic differentiation of human PDLSCs.

[Key words] non-coding RNA; periodontal regeneration; periodontal ligament stem cell; osteogenic differentiation

牙周炎是一种复杂的口腔慢性疾病,它破坏了牙周支持组织的结构完整性,包括牙龈、牙槽

骨、牙周膜及牙骨质^[1]。第四次全国口腔健康流行病学调查显示,我国35~44岁年龄组的牙周健康率为9.1%,65~74岁年龄组为9.3%,牙周炎是造成我国成人牙齿丧失的首要原因^[2]。牙周治疗的基本目标是控制牙周组织炎症,并在局部受损的牙周组织中形成再生。目前临床上常用的几种治疗方法,例如引导性组织再生、骨及生物活性物质移

[收稿日期] 2019-06-14; [修回日期] 2019-10-23

[基金项目] 国家自然科学基金(81600882)

[作者简介] 王润婷, 医师, 学士, Email: wrunting@163.com

[通信作者] 房付春, 副主任医师, 博士, Email: fangfuchun520@163.com

com

植术等，不能达到完全牙周组织再生的目的^[3]。

针对牙周炎最理想的治疗是牙周再生，牙周组织工程技术为牙周再生开辟了新路径^[4]。牙周组织工程是指在体外用理想的种子细胞和细胞外基质构建具有功能性的三维组织复合体，以植入牙周缺损部位，对缺损部位进行结构功能性重建，选择合适的种子细胞并提供适当的微环境是其成功的基础^[5]。牙周膜是存在于牙槽骨和牙骨质之间的结缔组织，是牙周组织修复、牙周营养和血管平衡的重要组成部分。人牙周膜干细胞（periodontal ligament stem cell）属于间充质来源的成体干细胞，其具有多向分化能力，在生命体内能够增殖并形成组织，从而维持自身的数量，在体外可以克隆性生长并自我更新，是牙周再生的重要种子细胞^[6-7]。因此，研究牙周膜干细胞成骨向分化的机制可为牙周再生和成骨组织工程的实际应用提供新思路。

1 非编码RNA概述

非编码RNA（non-coding RNA，ncRNA）是当今生命科学领域发展最迅速的前沿研究领域之一，构成了一个存在于高等生物中巨大的、尚未被完全发现的RNA世界^[8]。人类基因组转录区高

达76%，但转录产物中只有不到2%是编码蛋白质的mRNA，其余均为ncRNA。ncRNA可根据其功能分为管家ncRNA和调控ncRNA，其中管家ncRNA包括：1）可参与蛋白质合成的ncRNA，如核糖体RNA、转运RNA、细胞质小RNA；2）可参与RNA加工的ncRNA，如细胞核内小RNA、核仁小RNA、催化性小RNA等。调控ncRNA可根据其大小和结构分为：1）短链ncRNA，长度小于200个核苷酸（nt），如微小RNA（microRNA，miRNA，miR）、小干扰RNA和与PIWI蛋白相互作用的RNA；2）长链非编码RNA（long noncoding RNA，lncRNA），长度大于200 nt；3）环状RNA（circular RNA，circRNA），转录后形成环状结构。其中miRNA、lncRNA、circRNA等因其重要的功能，受到广泛关注^[9]。

ncRNA的共同特点是均转录自基因组中的非翻译区或内含子区，但不翻译成蛋白质^[10]。在很长一段时间内，大部分ncRNA都被认为是基因组转录过程中的“噪音”，后研究逐步发现这些ncRNA通过与蛋白质或其他分子相结合来开启或关闭基因，从而在调控基因表达中发挥关键作用^[11]。本文主要综述了目前研究比较集中的几种ncRNA在牙周膜干细胞成骨向分化中的调控机制（详见表1）。

表 1 ncRNA参与牙周膜干细胞成骨分化调控

Tab 1 Regulation of ncRNAs on osteogenic differentiation of periodontal ligament stem cells

名称	类型	诱导方式	调控水平	调控作用	可能的靶基因或作用通路	文献
miR-24-3p	miRNA	矿化	转录后水平	抑制	靶向作用Smad5	[15]
miR-21	miRNA	矿化	转录后水平	抑制	靶向作用Smad5	[16]
		矿化	转录后水平	抑制	miR-21/Spry1调控轴介导TNF-α对牙周膜干细胞的抑制成骨作用	[17]
miR-203	miRNA	剪切力	转录后水平	抑制	靶向作用ACVR2B	[29]
		矿化	转录后水平	抑制	靶向作用RUNX2	[18]
miR-1305	miRNA	矿化	转录后水平	抑制	靶向作用RUNX2	[19]
miR-218	miRNA	矿化	转录后水平	抑制	靶向作用RUNX2	[20]
miR-214	miRNA	矿化	转录后水平	抑制	靶向作用ATF4	[21]
miR-17	miRNA	矿化	转录后水平	抑制	通过靶向作用β-连环蛋白1调节Wnt/β-连环蛋白信号通路	[22]
		矿化	转录后水平	抑制	通过靶向作用TCF3调节经典Wnt信号通路	[23-24]
miR-31	miRNA	矿化	转录后水平	抑制	靶向作用Satb2	[25]
miR-200c	miRNA	矿化	转录后水平	促进	抑制IL-6、IL-8和CCL-5	[26]
miR-543	miRNA	矿化	转录后水平	促进	靶向作用TOB2	[27]
miR-22	miRNA	矿化	转录后水平	促进	抑制HDAC6	[28]

续表1

名称	类型	诱导方式	调控水平	调控作用	可能的靶基因或作用通路	文献
MEG3	lncRNA	矿化	转录水平	抑制	与hnRNPK结合,影响BMP2转录	[37]
ANCR	lncRNA	矿化	转录水平	抑制	通过调控GSK3β的表达抑制Wnt/β-连环蛋白信号通路,下调RUNX2	[38]
TUG1	lncRNA	矿化	转录后水平	抑制	ANCR/miR-758/Notch2	[40]
PCAT1	lncRNA	矿化	转录水平	促进	Lin28A蛋白作为TUG1的RBP形成正性调控网络	[36]
PCAT1	lncRNA	矿化	转录后水平	促进	PCAT1/miR-106a-5p/BMP2 PCAT1/miR-106a-5p/E2F5前馈调节网络	[41]
HIF1A-AS2	lncRNA	缺氧	转录后水平	促进	通过碱基配对与HIF-1α形成双链RNA,提高蛋白质翻译水平	[42]
CDR1	circRNA	矿化	转录后水平	促进	竞争性结合miR-7,使GDF5上调、Smad1/5/8及p38MAPK磷酸化	[46]

2 miRNA与牙周膜干细胞成骨向分化

miRNA是普遍存在的、内源性的非编码短链RNA,其长度通常为20~24 nt,在过去10年内被大量研究,其作用机制已经相对明确^[12]。miRNA通过靶向结合mRNA的3'-非翻译区(untranslated region, UTR)上的miRNA识别元件,在转录后水平导致mRNA降解或阻止其蛋白质翻译,且每个miRNA能够结合多个靶标^[13]。

笔者团队^[14]前期采用miRNA基因芯片技术检测牙周膜干细胞成骨诱导组和非诱导组miRNA表达量变化,结果显示在成骨诱导14 d后,共有116个miRNA出现显著差异表达,其中30个上调,86个下调,提示了miRNA在牙周膜干细胞成骨向分化中具有重要调控作用。

Li等^[15]同样采用基因芯片技术检测了分化的和未分化的牙周膜干细胞中miRNA的表达水平,观察到成骨向分化的牙周膜干细胞中miR-24-3p水平显著降低,进一步实验证明miR-24-3p可直接靶向转导蛋白Smad5的3'-UTR,抑制其蛋白质表达。Wei等^[16]亦发现miR-21可抑制Smad5的表达,从而抑制牙周膜干细胞的成骨向分化。此外,有学者^[17]研究发现,组织肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)-α可通过抑制miR-21/软脂酰化磷蛋白Spry1功能轴抑制牙周膜干细胞的成骨向分化。miR-203、miR-1305和miR-218可通过靶向调控核心结合蛋白因子Runt相关转录因子(Runt-related transcription factor, Runx) 2,对牙周膜干细胞的成骨向分化能力起抑制作用^[18-20]。miR-214可通过靶向活化转录因子(activating transcription

factor, ATF) 4抑制牙周膜干细胞的成骨向分化^[21],还可通过靶向β-连环蛋白1调节Wnt/β-连环蛋白信号传导途径参与牙周膜干细胞的成骨向分化^[22]。miR-17可以通过影响转录因子(transcriptional factor, TCF) 3的表达,激活Wnt通路发挥对牙周膜干细胞成骨向分化的调控^[23-24]。在高浓度葡萄糖介导的抑制牙周膜干细胞成骨向分化过程中,miR-31通过靶向特异性结合蛋白(special AT-rich sequence-binding protein, Satb) 2发挥调控作用^[25]。以上报道的均是通过miRNA经典途径靶向成骨相关基因发挥抑制作用。

除此之外,miRNA亦可以促进牙周膜干细胞成骨向分化。miR-200c可有效抑制牙周膜干细胞中的白细胞介素(interleukin, IL)-6、IL-8和趋化因子(chemokine, CCL)-5,增强成骨向分化^[26]。笔者团队^[27]前期研究发现,miR-543直接与ERBB2的转导子2,2(transducer of ERBB2,2, TOB2)mRNA的3'-UTR相互作用,在牙周膜干细胞中起促进成骨的作用。miR-22可通过抑制组蛋白去乙酰化酶(histone deacetylase, HDAC) 6表达促进牙周膜干细胞成骨向分化^[28]。

除了在矿化诱导液作用下调节牙周膜干细胞成骨向分化,miRNA也可在应力作用下发挥调控。Wei等^[29]发现,拉应力作用牙周膜干细胞后,有53个miRNA显著差异表达,其中26个上调,27个下调;进一步实验发现,miR-21与剪切应力密切相关,其直接作用于激活素受体(activin A receptor, ACVR) 2B基因的3'-UTR,从而抑制ACVR2B的表达,影响牙周膜干细胞成骨向分化。

miRNA除了靶向负调控基因的mRNA水平,

介导其降解或阻止其翻译以外, 还有其他几种调控机制^[30]。例如, miRNA可与其他功能蛋白质相结合; 可直接激活Toll样受体(Toll-like receptor, TLR)受体蛋白; 可提高蛋白质表达水平; 可靶向调控线粒体相关基因的mRNA; 可直接激活基因的转录过程; 可靶向负调控其他ncRNA的前体RNA; miRNA的前体pri-miRNA可翻译为多肽。目前的研究主要集中在miRNA的负向调控机制上, 对其他的调控机制鲜有涉及, 还需进一步探索。

3 lncRNA与牙周膜干细胞成骨向分化

lncRNA是长度为200~20 000 nt的ncRNA, 由于其长度较长, 分子形成二级结构甚至更高级结构, 使其调控的方式和机制大大复杂化。另外, lncRNA的可变剪切以及不同转录起始点又进一步增加了其调控的复杂性。lncRNA可以直接结合同源基因组DNA和RNA, 也可以通过形成复杂的二级结构与许多蛋白质相互作用, 在转录水平、转录后水平及表观遗传水平等多个层面上调控基因的表达, 从而参与许多重要的生物学过程, 如细胞存活、增殖、分化、染色质重塑和器官的形成等^[31]。

Zheng等^[32]利用RNA测序检测牙周膜干细胞成骨诱导3、7和14 d时lncRNA的表达变化, 显示17个lncRNA在3、7和14 d稳定上调, 31个稳定下调。Gu等^[33]通过RNA测序检测正常培养、成骨诱导7 d的牙周膜干细胞中lncRNA的表达变化, 与正常培养组相比, 诱导组777个lncRNA表达上调, 183个lncRNA表达下调。笔者团队^[34]前期对成骨诱导和未诱导的牙周膜干细胞采用lncRNA基因芯片检测, 发现在14 d有994个lncRNA出现上调表达, 1 177个lncRNA下调表达, 进一步通路分析显示, 共有83条信号通路参与牙周膜干细胞成骨向分化过程, 包括有丝分裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)及转化生长因子(transforming growth factor, TGF)- β 等通路; 编码-非编码基因共表达(coding-noncoding gene co-expression)分析结果显示, 出现差异表达的lncRNA与这些成骨相关mRNA之间存在着潜在的调控关系, 其中有131对基因之间存在负相关, 262对基因之间存在正相关。Huang

等^[35]利用RNA测序检测牙周膜干细胞在压应力作用下lncRNA的表达变化, 结果显示总共有90个lncRNA差异表达, 其中72个上调, 18个下调。目前, lncRNA在牙周膜干细胞成骨向分化方面的研究主要集中在转录及转录后水平。

3.1 转录水平调控

lncRNA可以与特定蛋白质结合, 影响该蛋白质在细胞发育过程中的功能, 进而影响下游基因的转录。

RNA结合蛋白(RNA binding protein, RBP)作为一种影响lncRNA调节功能的新型蛋白质, 也受到学者特别关注。He等^[36]利用生物信息学手段预测并筛选出lncRNA-牛磺酸上调基因(taurine upregulated gene, TUG)1, 并发现Lin28同源物A(Lin-28 homolog A, Lin28A)能与lncRNA-TUG1靶向结合, 作为参与牙周膜干细胞成骨向分化的RBP与lncRNA-TUG1相互作用, 形成lncRNA-RBP正性调控网络协同促进牙周膜干细胞成骨基因的表达, 进而部分实现lncRNA-TUG1促进牙周膜干细胞成骨向分化的作用。Liu等^[37]研究证明, 肿瘤抑制基因lncRNA母系印记(maternally expressed, MEG)3与RNA结合蛋白异质性细胞核核糖核蛋白(heterogeneous nuclear ribonucleoprotein, hnRNP)K结合后, 会影响骨形态发生蛋白(bone morphogenetic protein, BMP)2的转录, 进而抑制牙周膜干细胞的成骨向分化。

lncRNA也可干扰mRNA或其他ncRNA的转录。Jia等^[38]发现反分化非编码RNA(antidifferentiation noncoding RNA, ANCR/differentiation antagonizing noncoding RNA, DANCR)可以通过调控糖原合成激酶(glycogen synthase kinase, GSK)3 β 的表达, 抑制经典Wnt/ β -连环蛋白信号通路, 使RUNX2表达下调, 从而抑制牙周膜干细胞成骨向分化能力。

3.2 转录后水平调控

许多lncRNA可以吸附miRNA, 与靶基因竞争结合miRNA, 从而影响各种生物过程中的靶因子活性。

牙周炎患者的牙周膜干细胞核因子(nuclear factor, NF)- κ B信号通路被激活, 使miR-182表达上调, lncRNA-POIR可以作为竞争性内源RNA(competing endogenous RNA, ceRNA)而与miR-182结合, 调节靶向基因叉头转录因子(fork-head box protein, Fox)O1在炎症牙周膜干细胞成

骨向分化过程中的表达。FoxO1可抑制经典Wnt信号通路,从而促进炎症牙周膜干细胞的成骨向分化,为牙周炎的治疗提供了新策略^[39]。

Peng等^[40]发现lncRNA-ANCR可与Notch通路受体(Notch receptor, Notch) 2基因竞争性结合miR-758,从而形成ANCR/miR-758/Notch2功能轴,在调节牙周膜干细胞的成骨向分化过程中起重要作用。Jia等^[41]发现,前列腺癌相关转录因子(prostate cancer-associated ncRNA transcript, lncRNA-PCAT) 1可以竞争性逆转miR-106a-5p对BMP2的抑制作用,激活BMP/Smad通路,此外还发现miR-106a-5p的另一个靶标E2F转录因子5(E2F transcription factor 5, E2F5)可以与lncRNA-PCAT1的启动子结合,形成PCAT1/miR-106a-5p前馈调节网络,继而增强牙周膜干细胞成骨向分化。

此外,Chen等^[42]发现,lncRNA缺氧诱导因子-1 α 反义RNA2(hypoxia inducible factor 1 α antisense RNA 2, HIF1A AS2)可以通过碱基配对与互补mRNA缺氧诱导因子(hypoxia inducible factor, HIF) 1 α 形成双链RNA,增加了其稳定性,提高了蛋白质翻译水平,从而促进牙周膜干细胞的成骨向分化。

3.3 表观遗传水平调控

从表观遗传学的角度来看,一些特异的lncRNA可以作为染色质修饰的协调者,参与蛋白质复合物的合成,改变DNA甲基化状态,从而控制相关基因的表达。已有研究报道,lncRNA可在表观遗传水平调控成骨向分化。Zhu等^[43]发现,lncRNA ANCR可与组蛋白甲基转移酶Zer1基因增强子同源物(enhancer of zeste homolog, EZH) 2结合,促进组蛋白H3第27位赖氨酸(Histone H3 on Lys27, H3K27)甲基化,进而抑制人胎儿成骨细胞的成骨向分化。目前关于lncRNA在表观遗传水平调控牙周膜干细胞成骨向分化方面鲜有涉及,仍需进一步探索。

lncRNA的发现补充了分子机制上的许多空白,其可以从转录、转录后和表观遗传3个层面进行基因表达的调控,几乎参与生命体所有进程。lncRNA在牙周膜干细胞成骨向分化中的研究主要集中在转录和转录后水平上,但绝大多数文章未对这些lncRNA进行亚细胞定位,而细胞质定位是lncRNA发挥功能的基础,尤其是ceRNA机制研究^[44]。由于lncRNA数量庞大以及其作用极为复

杂,目前研究透彻的lncRNA也只是冰山一角,lncRNA参与牙周膜干细胞成骨向分化的机制仍需进一步探索。

4 circRNA与牙周膜干细胞成骨向分化

circRNA的概念在1976年首次被提出,是一种新型的内源性ncRNA,现已被证实存在于多种生物体中。与线性RNA不同,circRNA的3'末端与5'末端结合在一起,形成共价闭合的连续环,独特闭环结构使其更能抵抗RNA酶R的消化作用,是理想的诊断生物标志物^[45]。越来越多的研究表明,circRNA参与胚胎发育、细胞活动和许多人类疾病的发生、发展。

Gu等^[33]通过RNA测序检测正常培养、成骨诱导7 d的牙周膜干细胞中circRNA的表达变化,与正常培养组相比,诱导组766个circRNA表达上调,690个circRNA表达下调,基因分类分析(gene ontology, GO)、Kyoto基因与基因组数据库分析预测,circRNA可能通过亲本基因参与基础生物学过程,包括干细胞的成骨向分化;miRanda预测发现,其中1382个差异表达的circRNA可与148个miRNA结合,并与744个mRNA竞争miRNA结合位点。这些circRNA与miRNA组成了复杂的ceRNA网络图,其中circRNA PTPRG、EXOC4、PRKCA及SETBP1可与多个miRNA结合,同一个miRNA也可与多个circRNA相结合,这些circRNA可能作为miRNA吸附“海绵”,调控牙周膜干细胞成骨向分化。Li等^[46]研究发现,circRNA CDR1充当miR-7海绵,调控生长分化因子(growth differentiation factor, GDF) 5的上调和Smad1/5/8及p38 MAPK的磷酸化,从而促进牙周膜干细胞的成骨向分化。Wang等^[47]发现circRNA在机械力诱导牙周膜干细胞成骨向分化过程中亦有变化。以上研究证实,circRNA可能在牙周膜干细胞的成骨过程中起重要调控作用。

目前,circRNA在牙周膜干细胞成骨向分化研究中多集中于ceRNA机制,但在其他领域的研究中,还存在其他作用机制。例如,circRNA可在转录和剪接水平上调节基因表达^[48-49],还可与蛋白质相互作用形成特定复合物进而发挥作用^[50]。总之,circRNA的功能及其相关机制可能是多种多样的,其可能影响病理、生理过程,作为疾病的诊断或预测生物标志物,也可提供新的潜在治疗靶

点。探讨circRNA在牙周膜干细胞成骨向分化过程中的作用及功能,可能为牙周再生治疗提供具有应用潜力的新方向。

5 挑战与展望

目前牙周病临床治疗方法主要包括基础及手术治疗,但这些方法仍无法完全修复已破坏的牙周组织。近年来,再生医学的发展为口腔多种组织修复再生提供了新的策略,牙周膜干细胞有望在牙周组织修复再生的临床应用上发挥重要作用,为重度牙周疾病患者的治疗开拓新途径。在牙周膜干细胞成骨向分化的过程中,有众多转录因子及信号通路参与,每种因子和信号通路都处于十分复杂的调控网络之中,其确切机制尚不完全清楚,且尚有一些因子及信号通路未被完全发现。

尽管面临挑战,但以ncRNA调控牙周膜干细胞为基础的牙周病治疗方法是十分有前景的。已有大量研究证实ncRNA在转录、转录后及表观遗传等多个水平调控基因表达,参与细胞分化、个体发育和疾病发生与发展等多种生物学进程,如miRNA在再生医学和肿瘤的发生与发展中起到关键作用;lncRNA可利用多种作用模式来调节基因表达,并广泛参与细胞过程;circRNA可能成为研究疾病发病机制、诊断和预后的理想候选标志物。因此,进一步加强ncRNA对牙周膜干细胞成骨向分化机制的研究,不仅可以扩展对ncRNA复杂世界的理解,也有助于通过调控牙周膜干细胞的分化方向,为牙周组织再生提供理论依据。

6 参考文献

- [1] Pihlstrom BL, Michalowicz BS, Johnson NW. Periodontal diseases[J]. *Lancet*, 2005, 366(9499): 1809-1820.
- [2] 王兴. 第四次全国口腔健康流行病学调查报告[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2018: 25-34.
Wang X. The fourth national oral health epidemiological survey[M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2018: 25-34.
- [3] Graziani F, Karapetsa D, Mardas N, et al. Surgical treatment of the residual periodontal pocket[J]. *Periodontol* 2000, 2018, 76(1): 150-163.
- [4] Vaquette C, Pilipchuk SP, Bartold PM, et al. Tissue engineered constructs for periodontal regeneration: current status and future perspectives[J]. *Adv Healthc Mater*, 2018, 7(21): e1800457.
- [5] Iviglia G, Kargozar S, Baino F. Biomaterials, current strategies, and novel nano-technological approaches for periodontal regeneration[J]. *J Funct Biomater*, 2019, 10(1). doi: 10.3390/jfb10010003.
- [6] Seo BM, Miura M, Gronthos S, et al. Investigation of multipotent postnatal stem cells from human periodontal ligament[J]. *Lancet*, 2004, 364(9429): 149-155.
- [7] Hernández-Monjaraz B, Santiago-Osorio E, Monroy-García A, et al. Mesenchymal stem cells of dental origin for inducing tissue regeneration in periodontitis: a mini-review[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(4). doi: 10.3390/ijms19040944.
- [8] International Human Genome Sequencing Consortium. Finishing the euchromatic sequence of the human genome[J]. *Nature*, 2004, 431(7011): 931-945.
- [9] Ponting CP, Belgard TG. Transcribed dark matter: meaning or myth[J]. *Hum Mol Genet*, 2010, 19(R2): R162-R168.
- [10] Kaur P, Liu F, Tan JR, et al. Non-coding RNAs as potential neuroprotectants against ischemic brain injury[J]. *Brain Sci*, 2013, 3(1): 360-395.
- [11] Vemuganti R. All's well that transcribes well: non-coding RNAs and post-stroke brain damage[J]. *Neurochem Int*, 2013, 63(5): 438-449.
- [12] Liu B, Li J, Cairns MJ. Identifying miRNAs, targets and functions[J]. *Brief Bioinform*, 2014, 15(1): 1-19.
- [13] Vidigal JA, Ventura A. The biological functions of miRNAs: lessons from *in vivo* studies[J]. *Trends Cell Biol*, 2015, 25(3): 137-147.
- [14] Hao Y, Ge Y, Li J, et al. Identification of MicroRNAs by microarray analysis and prediction of target genes involved in osteogenic differentiation of human periodontal ligament stem cells[J]. *J Periodontol*, 2017, 88(10): 1105-1113.
- [15] Li Z, Sun Y, Cao S, et al. Downregulation of miR-24-3p promotes osteogenic differentiation of human periodontal ligament stem cells by targeting SMAD family member 5[J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(5):

- 7411-7419.
- [16] Wei F, Yang S, Guo Q, et al. MicroRNA-21 regulates osteogenic differentiation of periodontal ligament stem cells by targeting Smad5[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 16608.
- [17] Yang N, Li Y, Wang G, et al. Tumor necrosis factor- α suppresses adipogenic and osteogenic differentiation of human periodontal ligament stem cell by inhibiting miR-21/Spry1 functional axis[J]. *Differentiation*, 2017, 97: 33-43.
- [18] 冯保静, 赵西博, 郝志红, 等. miR-203靶向RUNX2对牙周膜干细胞成骨向分化能力的调控作用[J]. *口腔颌面修复学杂志*, 2019, 20(1): 44-48.
Feng BJ, Zhao XB, Hao ZH, et al. Study on effect of miR-203 for targeting RUNX2 on osteogenic differentiation of human periodontal ligament stem cells[J]. *Chin J Prosthodont*, 2019, 20(1): 44-48.
- [19] Chen Z, Liu HL. Restoration of miR-1305 relieves the inhibitory effect of nicotine on periodontal ligament-derived stem cell proliferation, migration, and osteogenic differentiation[J]. *J Oral Pathol Med*, 2017, 46(4): 313-320.
- [20] Gay I, Cavender A, Peto D, et al. Differentiation of human dental stem cells reveals a role for microRNA-218[J]. *J Periodontol Res*, 2014, 49(1): 110-120.
- [21] Yao S, Zhao W, Ou Q, et al. MicroRNA-214 suppresses osteogenic differentiation of human periodontal ligament stem cells by targeting ATF4[J]. *Stem Cells Int*, 2017, 2017: 3028647.
- [22] Cao F, Zhan J, Chen X, et al. miR-214 promotes periodontal ligament stem cell osteoblastic differentiation by modulating Wnt/ β -catenin signaling[J]. *Mol Med Rep*, 2017, 16(6): 9301-9308.
- [23] Liu W, Liu Y, Guo T, et al. TCF3, a novel positive regulator of osteogenesis, plays a crucial role in miR-17 modulating the diverse effect of canonical Wnt signaling in different microenvironments[J]. *Cell Death Dis*, 2013, 4: e539.
- [24] Liu Y, Liu W, Hu C, et al. MiR-17 modulates osteogenic differentiation through a coherent feed-forward loop in mesenchymal stem cells isolated from periodontal ligaments of patients with periodontitis[J]. *Stem Cells*, 2011, 29(11): 1804-1816.
- [25] Zhen L, Jiang X, Chen Y, et al. MiR-31 is involved in the high glucose-suppressed osteogenic differentiation of human periodontal ligament stem cells by targeting Satb2[J]. *Am J Transl Res*, 2017, 9(5): 2384-2393.
- [26] Hong L, Sharp T, Khorsand B, et al. MicroRNA-200c represses IL-6, IL-8, and CCL-5 expression and enhances osteogenic differentiation[J]. *PLoS One*, 2016, 11(8): e0160915.
- [27] Ge Y, Li J, Hao Y, et al. MicroRNA-543 functions as an osteogenesis promoter in human periodontal ligament-derived stem cells by inhibiting transducer of ERBB2, 2[J]. *J Periodontol Res*, 2018, 53(5): 832-841.
- [28] Yan GQ, Wang X, Yang F, et al. MicroRNA-22 promoted osteogenic differentiation of human periodontal ligament stem cells by targeting HDAC6[J]. *J Cell Biochem*, 2017, 118(7): 1653-1658.
- [29] Wei FL, Wang JH, Ding G, et al. Mechanical force-induced specific MicroRNA expression in human periodontal ligament stem cells[J]. *Cells Tissues Organs*, 2014, 199(5/6): 353-363.
- [30] Dragomir MP, Knutsen E, Calin GA. SnapShot: unconventional miRNA functions[J]. *Cell*, 2018, 174(4): 1038-1038.e1.
- [31] Iyer MK, Niknafs YS, Malik R, et al. The landscape of long noncoding RNAs in the human transcriptome [J]. *Nat Genet*, 2015, 47(3): 199-208.
- [32] Zheng Y, Li X, Huang Y, et al. Time series clustering of mRNA and lncRNA expression during osteogenic differentiation of periodontal ligament stem cells[J]. *Peer J*, 2018, 6: e5214.
- [33] Gu X, Li M, Jin Y, et al. Identification and integrated analysis of differentially expressed lncRNAs and circRNAs reveal the potential ceRNA networks during PDLSC osteogenic differentiation[J]. *BMC Genet*, 2017, 18(1): 100.
- [34] Qu Q, Fang F, Wu B, et al. Potential role of long non-coding RNA in osteogenic differentiation of human periodontal ligament stem cells[J]. *J Periodontol*, 2016, 87(7): e127-e137.
- [35] Huang Y, Zhang Y, Li X, et al. The long non-coding RNA landscape of periodontal ligament stem cells subjected to compressive force[J]. *Eur J Orthod*, 2019,

- 41(4): 333-342.
- [36] He Q, Yang S, Gu X, et al. Long noncoding RNA TUG1 facilitates osteogenic differentiation of periodontal ligament stem cells via interacting with Lin-28A[J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(5): 455.
- [37] Liu Y, Zeng X, Miao J, et al. Upregulation of long noncoding RNA MEG3 inhibits the osteogenic differentiation of periodontal ligament cells[J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(4): 4617-4626.
- [38] 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.
- [39] 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.
- [40] Peng W, Deng W, Zhang J, et al. Long noncoding RNA ANCR suppresses bone formation of periodontal ligament stem cells via sponging miRNA-758[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 503(2): 815-821.
- [41] Jia B, Qiu X, Chen J, et al. A feed-forward regulatory network lncPCAT1/miR-106a-5p/E2F5 regulates the osteogenic differentiation of periodontal ligament stem cells[J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(11): 19523-19538.
- [42] Chen D, Wu L, Liu L, et al. Comparison of HIF1A-AS1 and HIF1A-AS2 in regulating HIF-1 α and the osteogenic differentiation of PDLCs under hypoxia [J]. *Int J Mol Med*, 2017, 40(5): 1529-1536.
- [43] 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.
- [44] Zhang J, Hao X, Yin M, et al. Long non-coding RNA in osteogenesis: a new world to be explored[J]. *Bone Joint Res*, 2019, 8(2): 73-80.
- [45] Qu S, Yang X, Li X, et al. Circular RNA: a new star of noncoding RNAs[J]. *Cancer Lett*, 2015, 365(2): 141-148.
- [46] Li X, Zheng Y, Zheng Y, et al. Circular RNA CDR1as regulates osteoblastic differentiation of periodontal ligament stem cells via the miR-7/GDF5/SMAD and p38 MAPK signaling pathway[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2018, 9(1): 232.
- [47] Wang H, Feng C, Jin Y, et al. Identification and characterization of circular RNAs involved in mechanical force-induced periodontal ligament stem cells[J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(7): 10166-10177.
- [48] Zhang Y, Zhang XO, Chen T, et al. Circular intronic long noncoding RNAs[J]. *Mol Cell*, 2013, 51(6): 792-806.
- [49] Ashwal-Fluss R, Meyer M, Pamudurti NR, et al. circRNA biogenesis competes with pre-mRNA splicing[J]. *Mol Cell*, 2014, 56(1): 55-66.
- [50] Du WW, Yang W, Liu E, et al. Foxo3 circular RNA retards cell cycle progression via forming ternary complexes with p21 and CDK2[J]. *Nucleic Acids Res*, 2016, 44(6): 2846-2858.

(本文编辑 胡兴戎)