

综述

长链非编码RNA H19对成骨分化及骨性疾病影响的研究进展

张苗¹, 郭健民¹, 张士花¹, 邹军^{2,*}

上海体育学院¹运动科学学院; ²发展规划处, 上海 200438

摘要: 越来越多的研究表明长链非编码RNA (long non-coding RNA, lncRNA)广泛参与干细胞成骨分化进程, 调节多种干细胞及成骨细胞的增殖与凋亡, 在维持骨代谢平衡中发挥重要的作用。近年来有研究报道, lncRNA H19的异常表达与骨质疏松、骨性关节炎、骨质增生、骨肉瘤及多发性骨髓瘤等疾病都有密切关系。lncRNA H19可通过直接吸附微小RNA (microRNA, miRNA)或作为上游基因调控miRNA表达, 然后通过Wnt/ β -catenin、转化生长因子 β (transforming growth factor β , TGF- β)及Notch等信号转导通路改变成骨分化相关基因RUNX2、OCN等的表达, 最后调控骨形成进程。本文对国内外关于lncRNA H19对骨性疾病影响的研究进展作一综述, 探讨lncRNA H19调节骨性疾病的发生和发展的作用和机制, 以期为骨代谢相关疾病治疗和预防提供更加可靠的理论依据。

关键词: 长链非编码RNA H19; 成骨分化; 骨性疾病

中图分类号: R681; Q291

Research progress on the effect of long non-coding RNA H19 on osteogenic differentiation and bone diseases

ZHANG Miao¹, GUO Jian-Min¹, ZHANG Shi-Hua¹, ZOU Jun^{2,*}

¹School of Kinesiology; ²Development and Planning Office, Shanghai University of Sport, Shanghai 200438, China

Abstract: A growing number of studies have shown that long non-coding RNAs (lncRNAs) widely participate in the process of osteogenic differentiation of stem cells, regulate the proliferation and apoptosis of a variety of stem cells and osteoblasts, and play an important role in maintaining the balance of bone metabolism. lncRNA H19 regulates the expression of microRNAs (miRNAs) as upstream gene or through direct adsorption, changes the expressions of osteogenic differentiation related genes (RUNX2, OCN, etc.) via Wnt/ β -catenin, transforming growth factor β (TGF- β) and Notch signal transduction pathways, and consequently adjusts the process of bone formation. This paper reviews some research progress on the effect of lncRNA H19 on bone diseases, which may help to understand the function and mechanism of lncRNA H19 in regulating the occurrence and development of bone diseases and provide more reliable theoretical basis for the prevention and treatment of bone metabolism related diseases.

Key words: long non-coding RNA H19; osteogenic differentiation; bone disease

随着最近十年的高通量基因测序技术的发展, 研究者们发现 91% 的基因序列为非编码 RNAs (non-coding RNAs, ncRNAs)^[1], 而 ncRNAs 的 80% 为长链非编码 RNAs (long non-coding RNAs, lncRNAs)^[2], 参与调控连接基因的表达或者通过与启动子和增强子相互作用来调控非连接基因的表达^[3], 进而对染

色质重构、DNA 甲基化、组蛋白修饰及 RNA 聚合酶的活性进行调控, 调节细胞的增殖和分化过程^[4]。lncRNA H19 是一种分子量为 2.3 kb 的 lncRNA, 位于人类染色体端粒区 11p15.5^[5]。染色体 11p15 中包含印迹控制区域 H19/胰岛素生长因子 2 (insulin growth factor 2, IGF2) 领域, 而 H19/IGF2 调控区域

的印迹缺失会导致两种相反生长缺陷的疾病^[6]。而 lncRNA H19 属于 H19/IGF2 印迹位点, 印记基因在胚胎发育过程中高表达, 在出生后表达被抑制^[7], 进而来调控细胞寿命^[8]。由于 lncRNA H19 在胶质母细胞瘤^[9]、肺癌^[10]、乳腺癌^[11]、胃癌^[12]和卵巢肿瘤^[13]中表达上调, 加速癌细胞的增殖和侵袭, 因此关于 lncRNA H19 的研究目前多集中于其在肿瘤的发生和发展的监管作用^[14]。不过, 近来有研究表明 lncRNA H19 介导间充质干细胞 (mesenchymal stem cells, MSCs) 的多种分化过程, 介导肌肉骨骼系统的再生, 并对骨代谢过程进行调控。本文通过综述 lncRNA H19 对骨性疾病的调控的作用, 为下一步相关研究证明 lncRNA H19 功能提供理论依据, 揭示其新的生物学功能, 帮助我们理解正常骨代谢生理和防治骨性疾病。

1 lncRNA H19调控干细胞向成骨细胞分化

在胚胎发育过程中, lncRNA H19 的高表达提示其可能参与细胞的多种分化过程。MSCs 是一类具有自我更新能力的细胞, 并可分化为成骨细胞、软骨细胞、造血细胞等多种细胞。骨髓间充质干细胞 (bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs) 是典型的成人多能干细胞, 具有自我更新和向成骨细胞、软骨细胞和脂肪细胞等多种细胞分化的潜能。由于 BMSCs 分离方便, 参与免疫调节, 可修复骨组织微环境, 且可作为成骨细胞的主要来源, 因此成为目前骨组织工程研究领域的理想细胞, BMSCs 在骨组织重建治疗的应用具有美好的前景^[15, 16]。Wang 等^[17]对人骨髓间充质干细胞 (human bone marrow mesenchymal stem cells, hBMSCs) 向成骨分化基因进行分析, 发现有 1 206 条差异表达的 lncRNA, 其中 687 条上调, 519 条下调。进一步研究显示, 有 48 条 enhancer-lncRNA 和 14 条 lincRNA (large intergenic noncoding RNA), 其中 lncRNA H19 和 uc022axw 在成骨分化过程中表达上调。Huang 等^[18]研究显示, 在体外诱导的人类脂肪源性干细胞 (adipose-derived stem cells, ASCs) 向成骨分化过程中, 抑制 lncRNA H19 的表达可使骨源性相关基因表达上调, 而过表达 lncRNA H19 后骨相关基因表达下调。以上研究表明, 在不同干细胞向成骨细胞分化过程中, lncRNA H19 表达水平发生变化, 因此其可能起着关键性的调控作用。

目前大量研究表明 lncRNA H19 是 miRNAs 的

上游靶基因, 可调控 mRNAs 的表达, 进而调控向成骨细胞的分化进程。Huang 等^[19]研究显示, 在诱导 hMSC 成骨分化过程中, lncRNA H19 可上调外显子 1 中 miR-675 的表达, 进而抑制转化生长因子 $\beta 1$ (transforming growth factor $\beta 1$, TGF- $\beta 1$) 及下游的 Smad3 的磷酸化, 使组蛋白脱乙酰酶 4/5 (histone deacetylase 4/5, HDAC4/5) 表达下调, 成骨分化相关基因表达增加, 表明 lncRNA H19 通过 miR-675/TGF- $\beta 1$ 和 miR-675/Smad3/HDAC 两条途径使 RUNX2 表达上调, 促进 MSC 向成骨分化进程。Liang 等^[20]对 hMSCs 成骨分化细胞进行生物信息及荧光素酶分析, 发现 lncRNA H19 和 miR-675-5p 相互反馈调节, 进而调节 Wnt/ β -catenin 信号通路, 对 hMSCs 体内成骨分化进行调控, 以此来维持骨形成的代谢平衡。Liao 等^[21]研究显示, 在 MSCs 向成骨分化过程中 lncRNA H19 可通过调节下游 miRNA (miR-107、miR-27b、miR-106b、miR-125a 和 miR-17) 表达调控 Notch 信号通路中 Dll1、Dll3、Dll4、Jag1 和 Jag2 等配体的表达, 进而促进骨形态发生蛋白 9 (bone morphogenetic protein 9, BMP9) 对 MSCs 成骨分化的诱导作用 (图 1)。上述研究证实了 lncRNA H19 能够通过 lncRNA-miRNA-mRNA 网络促进成骨分化。

除此之外, 也有文献报道 lncRNA 作为内源性 RNA 可吸附 miRNAs, 进而与 miRNAs 相互竞争来调控编码蛋白^[22]。Liang 等^[20]研究显示, lncRNA H19 可吸附并抑制 miRNAs (miR-141 和 miR-22) 的表达, 进而使 RUNX2 表达上调, 上调 Wnt/ β -catenin 信号转导通路, 促进骨生成, 进而促进 hMSCs 成骨分化。Wu 等^[23]研究显示, 给予 hBMSCs 0.5 Hz 机械牵拉刺激, lncRNA H19 表达上调并与 miR-138 内源性竞争, 上调 FAK 信号通路中 PTK2 配体表达, 上调骨形成相关蛋白 OCN 和 RUNX2 表达, 进而促进 BMSCs 向成骨分化, 表明 lncRNA H19 可作为内源竞争 RNA (competing endogenous RNA, ceRNA) 通过吸附 miRNAs 来调控成骨分化 (图 2)。以上研究结果表明, lncRNA H19 可能通过直接和间接两种不同的途径调控成骨细胞分化, 进而调节骨代谢平衡。

2 lncRNA H19与骨相关疾病

减轻骨性疾病患者的病痛, 可提高人类的优生率及老年人的生活质量。目前对骨性疾病的研究已

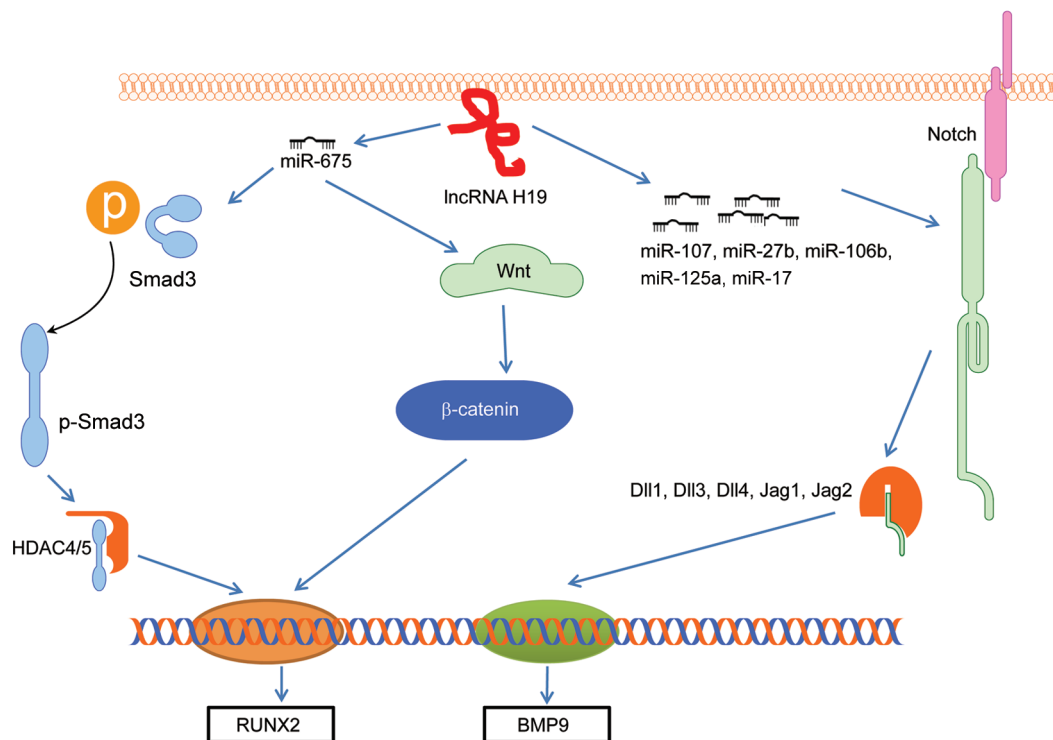


图 1. 长链非编码RNA (lncRNA) H19通过lncRNA-miRNA-mRNA网络调控成骨分化途径

Fig. 1. Long non-coding RNA (lncRNA) H19 regulates the gene pathway of osteogenic differentiation through the lncRNA-miRNA-mRNA network. HDAC4/5, histone deacetylase 4/5; BMP9, bone morphogenetic protein 9.

深入到分子水平, 最新的研究表明, 位于染色体区域 11p15.5 的 lncRNA H19 在成骨细胞、肿瘤细胞及胚胎细胞中表达异常并参与调控骨代谢过程, 加速骨质疏松症、骨关节炎 (osteoarthritis, OA)、骨肉瘤等疾病病程 (表 1)。

2.1 LncRNA H19与骨密度异常的关系

成骨细胞主导的骨形成与破骨细胞主导的骨吸收能力之间的失衡导致骨密度异常, 当骨密度降低时则会导致骨质疏松症, 相反, 骨密度增大则会导致毛-牙-骨综合症 (Tricho-Dento-Osseous syndrome, TDO)。

绝经后骨质疏松症 (postmenopausal osteoporosis, PMOP) 是由雌激素水平降低引起的系统性代谢类疾病, 中老年妇女发病率达到 50%^[33], 表现为骨量减少、骨脆性增加导致的骨组织结构改变^[34]。Li 等^[24] 研究显示, 微重力环境造成的骨质疏松大鼠体内 lncRNA H19 表达下调, Dkk4 过表达, Wnt 表达受抑制; 离体实验结果显示, lncRNA H19 沉默上调 Dkk4 表达, 下调 Wnt 信号通路中 β -catenin、糖原合成酶激酶 3 β (glycogen synthase kinase-3 β , GSK-3 β)、p-GSK-3 β 等蛋白表达, 下调骨分化相关蛋白

RUNX2、ALP、OPG 等的表达。以上结果表明, lncRNA H19 表达的抑制可引起 Dkk4 的表达上调, 进而抑制 Wnt/ β -catenin 信号通路的表达, 加速骨质疏松症的发展。

TDO 是一种皮质骨异常增厚和小梁骨颅骨和下颌的密度增加的常染色体遗传病。Zhao 等^[25] 研究显示, TDO 患者 BMSC 成骨分化过程中 lncRNA H19 和 miR-675 下调, DLX3 (distal-less homeobox 3) 基因表达下调, Nodal 信号通路中调节细胞增长的关键因子 NOMO1 表达增加, BMSC 向成骨分化增加, 骨密度增加。该研究表明 lncRNA H19 可通过 H19/miR-675/NOMO1/DLX3 途径促进 TDO-BMSCs 成骨分化, 进而增加 TDO 患者骨密度。

2.2 LncRNA H19与OA的关系

由于老龄化及肥胖率的增加, 预计到 2020 年 OA 将成为导致残疾的第四大原因^[35]。临床上 OA 患者表现为关节软骨的脱垂性, 软骨下骨的增厚和骨赘的形成, 可导致严重的肢体残疾, 疼痛、僵硬和丧失活动能力, 在病理上可观察到局部炎症和滑膜炎等症状^[36]。新近的研究表明 lncRNAs 与 OA 的发展具有十分紧密的联系, 如 Xing 等^[26] 研究显

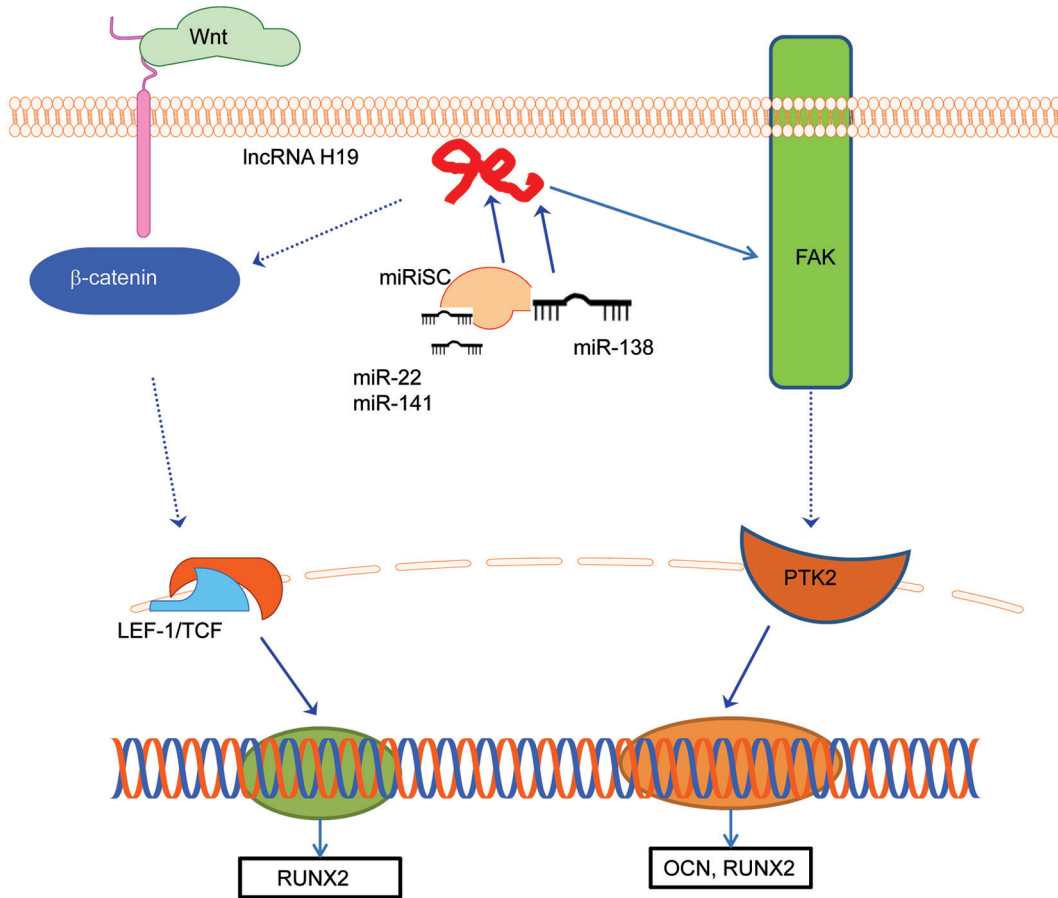


图 2. 长链非编码RNA (lncRNA) H19作为内源竞争RNA (ceRNA)吸附miRNAs来调控成骨分化

Fig. 2. Long non-coding RNA (lncRNA) H19 acts as a competing endogenous RNA (ceRNA) by adsorbing miRNAs to regulate osteogenesis differentiation. LEF-1, lymphoid enhancing factor-1; TCF, T cell factor; miRISC, miR-induced silencing complex; FAK, focal adhesion kinase; PTK2, protein tyrosine kinase 2.

表1. 长链非编码RNA (lncRNA) H19在骨病中的表达变化

Table 1. Expression changes of the long non-coding RNA (lncRNA) H19 in bone diseases

Bone diseases	lncRNA H19 expression	Target gene	Reference
PMOP	Down-regulated	Dkk4	[24]
TDO	Down-regulated	NOMO1	[25]
OA	Up-regulated	COL2A1	[26]
MM	Up-regulated	IκBα/P65	[27]
Osteosarcoma	Up-regulated	ZEB1/ZEB2	[28]
Osteosarcoma	Up-regulated	Yap1	[29]
RSS	Down-regulated	H19/IGF2	[30]
GHI	Down-regulated	H19/IGF2	[31]
BWS	Up-regulated	H19/IGF2	[32]

PMOP, postmenopausal osteoporosis; TDO, Tricho-Dento-Osseous syndrome; OA, osteoarthritis; MM, multiple myeloma; RSS, Russell-Silver syndrome; GHI, growth hormone insensitivity; BWS, Beckwith-Wiedemann syndrome; IκBα, inhibitor of NF-κB α; ZEB, zinc finger E-box binding homeobox; IGF2, insulin growth factor 2.

示, 相对正常人, OA 患者软骨细胞中 73 条 lncRNAs 表达上调, 48 条表达下调, 其中含有 H19 的 6 条

lncRNA 表达上调, 同时软骨形成相关蛋白基质金属蛋白酶 9 (matrix metalloproteinase 9, MMP-9)、MMP-

13、BMP-2 和 ADAMTS5 表达升高, COL2A1 表达下调。该研究证明了 lncRNA H19 与 OA 发生机制之间存在密切的关系, 为探索 OA 新的治疗靶点提供了重要的线索。

2.3 LncRNA H19与骨肿瘤的关系

Bock 等^[37]发现多种肿瘤患者 BMSCs 中 lncRNA H19 表达降低。Serra 等^[38]研究显示 lncRNA H19 不仅与骨质疏松、OA 有密切关系, 而且对肿瘤细胞的发展和迁移具有重要的调控作用。Ravid 等^[39]在体外模拟癌症细胞生长的低氧环境下培养 BMSC, 降低细胞稳定性, 结果显示细胞 lncRNA H19 和血管内皮生长因子 A 表达增加, p53 信号通路被激活。LncRNA H19 可通过直接作用与 miR-675 的 3'-UTR 端结合, 进而促进 miR-675 的表达, 抑制 TGF β I 的表达^[40]。以上研究结果表明, lncRNA H19 对肿瘤细胞的发展和迁移有重要的调控作用。

骨性肿瘤中常见的为多发性骨髓瘤 (multiple myeloma, MM) 及骨肉瘤, 多发于婴幼儿及青少年, 患者存活率较低。MM 是美国第二常见血液病^[41], 由于骨髓瘤细胞分泌破骨细胞活性因子而激活破骨细胞, 使骨质溶解, 引发骨折, 因此临床表现为贫血、骨痛、骨骼变形和病理性骨折^[42]。虽然由于目前医疗技术的发展, MM 患者 5 年生存率从 1975 年的 26.5% 上升到 2010 年的 44.9%^[41], 但是由于 MM 的复发率高, 所以被认为是不可治愈的疾病^[43]。Sun 等^[27]研究显示, MM 患者骨髓瘤细胞中 lncRNA H19 表达越高, 患者存活率越低, 进一步的研究显示 lncRNA H19 沉默可通过抑制 NF- κ B 信号通路中的 I κ B α 和 P65 受体表达来抑制 MM 细胞增殖、活性及菌落的形成。以上研究表明, lncRNA H19 可促进 NF- κ B 信号通路和 P65 的磷酸化, 进而促进 MM 癌细胞生长, 加速癌症的恶化。

骨肉瘤是儿童和青少年常见骨肿瘤之一, 五年的存活率约为 70%, 但有 20%~30% 的复发或转移的可能^[44]。在骨肉瘤中, H19/IGF2 印迹缺失伴随 ctcf 结合位点的相互甲基化变化^[45]。Li 等^[46]发现 lncRNA MALAT1、TUG1、HIF2PUT、LOC285194 及 H19 与骨肉瘤的迁移和侵袭具有密切关系。Dong 等^[47]使用抗癌作用的 20(R)- 人参皂苷 Rh2 诱导 MC3T3-E1 细胞后, 发现 lncRNA H19 诱导 OPN 启动子 H3 和 H4 表达上调, 并增加成骨分化标记蛋白 OPN 表达, 表明 Rh2 通过介导 lncRNA H19/启动子 H3 和 H4/OPN 促进 MC3T3-E1 向成骨分化,

加速癌细胞的增殖和侵袭; Li 等^[28]研究显示, lncRNA H19 作为 ceRNA 吸附 miR-200s 从而抑制其表达, 进而上调 ZEB1 和 ZEB2 的表达, 促进骨肉瘤细胞的迁移和侵袭。Hh (Hedgehog) 信号通路被癌症研究者广泛应用, 其中转录影响因子 Yap1 (yes-associated protein 1) 可抑制肿瘤 Hippo 信号通路, 同时 Yap1 调节 RUNX2 的表达, 进而调节成骨细胞和破骨细胞内的表达^[48]。Chan 等^[29]构建成骨细胞中 Hh 信号通路及 p53 甲基化小鼠骨肉瘤模型, 通过敲除 Yap1 来抑制 Hh 信号通路的表达, 可明显抑制骨肉瘤发展, 而 Yap1 过表达后 Hh 信号通路上调, 使骨肉瘤中 lncRNA H19 的表达异常。以上研究表明, 成骨细胞 Yap1 和 lncRNA H19 过表达可因其 Hh 信号表达异常, 导致成骨细胞骨肉瘤疾病的发生, 因此 lncRNA H19 可能成为骨肉瘤和 MM 等骨性肿瘤的潜在治疗靶点。

2.4 LncRNA H19与骨骼发育疾病的关系

LncRNA H19 在胚胎组织中大量表达, 但在出生后被强烈抑制, 其中印迹基因 ICR1 (H19/IGF2) 中 lncRNA H19 的表达严格控制哺乳动物胎儿骨骼肌肉的生长, 可导致两类相反生长缺陷的疾病^[6]。Dey 等^[49]将小鼠成肌细胞和卫星细胞中 lncRNA H19 敲除后抑制了二者的分化, 同时上调了 lncRNA H19 的外显子 1 内 miR-675-3p 和 miR-675-5p 的表达, 并使 Smad/BMP 通路及 DNA 复制起始因子 Cdc6 表达增加, 促进骨骼肌再生。Xiang 等^[50]分析父母基因对胎儿骨骼的影响, 发现骨量与肌肉重量呈正相关, 与肌细胞中 lncRNA H19 表达呈负相关。上述研究表明, lncRNA H19 可通过调节 miRNA 的表达调节生长因子表达, 影响肌肉及骨骼的发育, 进而影响胎儿发育。

Netchine 等^[30]研究显示, Russell-Silver 综合征 (Russell-Silver syndrome, RSS) 患者的 DNA 甲基化程度降低, 患者表现出宫内及出生后发育迟缓、颅骨发育不全、胸骨不对称发育引起的严重的进食困难等病症。同时 Shapiro 等^[31]也发现, 生长激素不敏感 (growth hormone insensitivity, GHI) 患者的 lncRNA H19/IGF2 区域存在甲基化较低的现象, 临床表现为血清中胰岛素样生长因子 -1 (insulin-like growth factor-1, IGF-1) 缺乏, 而生长激素 (growth hormone, GH) 水平正常或偏高, 但骨骼生长异常, 身材矮小。上述研究表明机体骨骼的发育迟缓与 lncRNA H19/IGF2 区域表达降低密切相关。

贝威二氏综合征 (Beckwith-Wiedemann syndrome, BWS) 是一类 lncRNA H19/IGF2 区域表达上调导致的胎儿过度生长, 肿瘤风险增加的常染色体疾病^[51]。因此有学者为了降低 BWS 和 RSS 疾病罹患的风险, 使用低甲基化辅助生殖技术降低出生的婴儿体内 lncRNA H19/IGF2 的甲基化程度^[52]。Li 等^[32]对体内 lncRNA 失活后作用进行研究, 发现小鼠 lncRNA Hotair 敲除后, 数百个基因表达下降减少, 同时 HoxD 基因的利用及印迹位点 Dlk1/Meg3 和 lncRNA H19/IGF2 表达下调, 导致脊椎的同源转化和掌骨的畸形。以上研究表明, lncRNA H19 的表达增加会导致 BWS 疾病, 但表达不足则会导致 RSS 及 GHI 疾病。

3 小结

lncRNA H19 参与成骨细胞主导的骨形成, 与骨质疏松、骨肉瘤、OA 等骨性疾病关系密切, 对其的研究可为骨疾病的靶向治疗提供新的可能。综合目前 lncRNA H19 与骨疾病的研究结果, lncRNA H19 调控成骨细胞分化分为两个途径: (1) lncRNA H19 作为 ceRNA 通过吸附 miRNAs, 进而与 miRNAs 相互竞争来调控编码蛋白; (2) lncRNA H19 作为 miRNAs 的上游靶基因, 从而调控 mRNAs 的表达, 进而调控向成骨细胞的分化进程。这两种途径可能通过 TGF- β 、Wnt/ β -catenin、Notch、Hh/p53/FAK、Nodal 等信号通路调控细胞的增殖和迁移, 进而调控骨性疾病的发展。但是 lncRNA H19 能够同时作用于多个相互影响的基因, 进而形成了一个错综复杂的骨代谢调控网路, 而且目前国内外有关 lncRNA H19 对骨性疾病影响的研究较少, 因此 lncRNA H19 的调控机制和功能仍然存在很多的未知, 有待后期更加深入的研究, 而有关 lncRNA H19 调节骨代谢平衡及其相关机制将是今后的研究热点, 将为临床上治疗骨性疾病提供更加可靠的理论依据。

* * *

致谢: 本综述受国家自然科学基金 (No. 81572242) 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) 项目 (No. 11DZ2261100) 资助。

参考文献

1 Zhao Z, Li S, Song E, Liu S. The roles of ncRNAs and

- histone-modifiers in regulating breast cancer stem cells. *Protein Cell* 2016; 7(2): 89–99.
- 2 Wang KC, Chang HY. Molecular mechanisms of long noncoding RNAs. *Mol Cell* 2011; 43(6): 904–914.
- 3 Kopp F, Mendell JT. Functional classification and experimental dissection of long noncoding RNAs. *Cell* 2018; 172(3): 393–407.
- 4 Qin W, Li X, Xie L, Li S, Liu J, Jia L, Dong X, Ren X, Xiao J, Yang C, Zhou Y, Chen Z. A long non-coding RNA, APOA4-AS, regulates APOA4 expression depending on HuR in mice. *Nucleic Acids Res* 2016; 44(13): 6423–6433.
- 5 Leibovitch MP, Nguyen VC, Gross MS, Solhonne B, Leibovitch SA, Bernheim A. The human ASM (adult skeletal muscle) gene: expression and chromosomal assignment to 11p15. *Biochem Biophys Res Commun* 1991; 180(3): 1241–1250.
- 6 Steenman MJ, Rainier S, Dobry CJ, Grundy P, Horon IL, Feinberg AP. Loss of imprinting of IGF2 is linked to reduced expression and abnormal methylation of H19 in Wilms' tumour. *Nat Genet* 1994; 7(3): 433–439.
- 7 Poirier F, Chan C, Timmons P, Robertson E, Evans M, Rigby P. The murine H19 gene is activated during embryonic stem cell differentiation *in vitro* and at the time of implantation in the developing embryo. *Development* 1991; 113(4): 1105–1114.
- 8 Ratajczak M, Shin D, Ratajczak J, Kucia M, Bartke A. A novel insight into aging: are there pluripotent very small embryonic-like stem cells (VSELs) in adult tissues overtime depleted in an Igf-1-dependent manner? *Aging (Albany NY)* 2010; 2(11): 875–883.
- 9 Fawzy MS, Ellawindy A, Hussein MH, Khashana MS, Darwish MK, Abdel-Daim MM, Toraih EA. Long non-coding RNA H19, and not microRNA miR-326, is over-expressed and predicts survival in glioblastoma. *Biochem Cell Biol* 2018; doi: 10.1139/bcb-2018-0122.
- 10 Luo J, Li Q, Pan J, Li L, Fang L, Zhang Y. Expression level of long noncoding RNA H19 in plasma of patients with non-small cell lung cancer and its clinical significance. *J Cancer Res Ther* 2018; 14(4): 860–863.
- 11 Yu G, Zhang W, Zhu L, Xia L. Upregulated long non-coding RNAs demonstrate promising efficacy for breast cancer detection: a meta-analysis. *Onco Targets Ther* 2018; 11: 1491–1499.
- 12 Li P, Tong L, Song Y, Sun J, Shi J, Wu Z, Diao Y, Li Y, Wang Z. Long noncoding RNA H19 participates in metformin-mediated inhibition of gastric cancer cell invasion. *J Cell Physiol* 2018. doi: 10.1002/jcp.27269
- 13 Zhu Z, Song L, He J, Sun Y, Liu X, Zou X. Ectopic expressed long non-coding RNA H19 contributes to malignant cell behavior of ovarian cancer. *Int J Clin Exp Pathol* 2015;

- 8(9): 10082–10091.
- 14 Raveh E, Matouk IJ, Gilon M, Hochberg A. The H19 Long non-coding RNA in cancer initiation, progression and metastasis - a proposed unifying theory. *Mol Cancer* 2015; 14: 184.
- 15 Hu WB (胡文兵), Gao QP, Chen YH. Effect of bone marrow mesenchymal stem cells on acute graft versus host disease and graft versus leukemia after allogeneic bone marrow transplantation. *J Experim Hematol (中国实验血液学杂志)* 2005; 13(3): 404–407 (in Chinese with English abstract).
- 16 Granero-Molto F, Weis JA, Longobardi L, Spagnoli A. Role of mesenchymal stem cells in regenerative medicine: application to bone and cartilage repair. *Expert Opin Biol Ther* 2008; 8(3): 255–268.
- 17 Wang L, Wang Y, Li Z, Li Z, Yu B. Differential expression of long noncoding ribonucleic acids during osteogenic differentiation of human bone marrow mesenchymal stem cells. *Int Orthop* 2015; 39(5): 1013–1019.
- 18 Huang G, Kang Y, Huang Z, Zhang Z, Meng F, Chen W, Fu M, Liao W, Zhang Z. Identification and characterization of long non-coding RNAs in osteogenic differentiation of human adipose-derived stem cells. *Cell Physiol Biochem* 2017; 42(3): 1037–1050.
- 19 Huang YP, Zheng YF, Jia LF, Li WR. Long noncoding RNA H19 promotes osteoblast differentiation via TGF- β 1/Smad3/HDAC signaling pathway by deriving miR-675. *Stem Cells* 2015; 33(12): 3481–3492.
- 20 Liang W, Fu W, Wang Y, Sun Y, Xu L, Wong C, Chan K, Li G, Wayne M, Zhang J. H19 activates Wnt signaling and promotes osteoblast differentiation by functioning as a competing endogenous RNA. *Sci Rep* 2016; 6: 20121.
- 21 Liao J, Yu X, Hu X, Fan J, Wang J, Zhang Z, Zhao C, Zeng Z, Shu Y, Zhang R, Yan S, Li Y, Zhang W, Cui J, Ma C, Li L, Yu Y, Wu T, Wu X, Lei J, Wang J, Yang C, Wu K, Wu Y, Tang J, He BC, Deng ZL, Luu HH, Haydon RC, Reid RR, Lee MJ, Wolf JM, Huang W, He TC. lncRNA H19 mediates BMP9-induced osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells (MSCs) through Notch signaling. *Oncotarget* 2017; 8(32): 53581–53601.
- 22 Hansen TB, Jensen TI, Clausen BH, Bramsen JB, Finsen B, Damgaard CK, Kjems J. Natural RNA circles function as efficient microRNA sponges. *Nature* 2013; 495(7441): 384–388.
- 23 Wu J, Zhao J, Sun L, Pan Y, Wang H, Zhang W. Long non-coding RNA H19 mediates mechanical tension-induced osteogenesis of bone marrow mesenchymal stem cells via FAK by sponging miR-138. *Bone* 2018; 108: 62–70.
- 24 Li B, Liu J, Zhao J, Ma JX, Jia HB, Zhang Y, Xing GS, Ma XL. LncRNA-H19 modulates Wnt/ β -catenin signaling by targeting Dkk4 in hindlimb unloaded rat. *Orthop Surg* 2017; 9(3): 319–327.
- 25 Zhao N, Zeng L, Liu Y, Han D, Liu H, Xu J, Jiang Y, Li C, Cai T, Feng H, Wang Y. DLX3 promotes bone marrow mesenchymal stem cell proliferation through H19/miR-675 axis. *Clin Sci* 2017; 131(22): 2721–2735.
- 26 Xing D, Liang J, Li Y, Lu J, Jia H, Xu L, Ma X. Identification of long noncoding RNA associated with osteoarthritis in humans. *Orthop Surg* 2014; 6(4): 288–293.
- 27 Sun Y, Pan J, Zhang N, Wei W, Yu S, Ai L. Knockdown of long non-coding RNA H19 inhibits multiple myeloma cell growth via NF- κ B pathway. *Sci Rep* 2017; 7(1): 18079.
- 28 Li M, Chen H, Zhao Y, Gao S, Cheng C. H19 functions as a ceRNA in promoting metastasis through decreasing miR-200s activity in osteosarcoma. *DNA Cell Biol* 2016; 35(5): 235–240.
- 29 Chan L, Wang W, Yeung W, Deng Y, Yuan P, Mak K. Hedgehog signaling induces osteosarcoma development through Yap1 and H19 overexpression. *Oncogene* 2014; 33(40): 4857–4866.
- 30 Netchine I, Rossignol S, Azzi S, Le Bouc Y. Epigenetic anomalies in childhood growth disorders. *Nestle Nutr Inst Workshop Ser* 2013; 71: 65–73.
- 31 Shapiro L, Chatterjee S, Ramadan DG, Davies KM, Savage MO, Metherell LA, Storr HL. Whole-exome sequencing gives additional benefits compared to candidate gene sequencing in the molecular diagnosis of children with growth hormone or IGF-1 insensitivity. *Eur J Endocrinol* 2017; 177(6): 485–501.
- 32 Li L, Liu B, Wapinski O, Tsai M, Qu K, Zhang J, Carlson J, Lin M, Fang F, Gupta R, Helms J, Chang H. Targeted disruption of Hotair leads to homeotic transformation and gene derepression. *Cell Rep* 2013; 5(1): 3–12.
- 33 Gennari L, Rotatori S, Bianciardi S, Nuti R, Merlotti D. Treatment needs and current options for postmenopausal osteoporosis. *Expert Opin Pharmacother* 2016; 17(8): 1141–1152.
- 34 Black DM, Rosen CJ. Clinical practice. Postmenopausal osteoporosis. *N Engl J Med* 2016; 374(3): 254–262.
- 35 Runhaar J, Zhang Y. Can we prevent OA? Epidemiology and public health insights and implications. *Rheumatology (Oxford)* 2018; 57(suppl_4): iv3–iv9.
- 36 Hayami T, Pickarski M, Zhuo Y, Wesolowski GA, Rodan GA, Duong LT. Characterization of articular cartilage and subchondral bone changes in the rat anterior cruciate ligament transection and meniscectomized models of osteoarthritis. *Bone* 2006; 38(2): 234–243.
- 37 Bock O, Schlue J, Kreipe H. Reduced expression of H19 in bone marrow cells from chronic myeloproliferative disorder.

- ders. *Leukemia* 2003; 17(4): 815–816.
- 38 Serra A, Eirich K, Winkler A, Mrasek K, Göhring G, Barbi G, Cario H, Schlegelberger B, Pokora B, Liehr T, Leriche C, Henne-Bruns D, Barth T, Schindler D. Shared copy number variation in simultaneous nephroblastoma and neuroblastoma due to Fanconi anemia. *Mol Syndromol* 2012; 3(3): 120–130.
- 39 Ravid O, Shoshani O, Sela M, Weinstock A, Sadan T, Gur E, Zipori D, Shani N. Relative genomic stability of adipose tissue derived mesenchymal stem cells: analysis of ploidy, H19 long non-coding RNA and p53 activity. *Stem Cell Res Ther* 2014; 5(6): 139.
- 40 Zhu M, Chen Q, Liu X, Sun Q, Zhao X, Deng R, Wang Y, Huang J, Xu M, Yan J, Yu J. lncRNA H19/miR-675 axis represses prostate cancer metastasis by targeting TGFBI. *FEBS J* 2014; 281(16): 3766–3775.
- 41 Kristinsson SY, Anderson WF, Landgren O. Improved long-term survival in multiple myeloma up to the age of 80 years. *Leukemia* 2014; 28(6): 1346–1348.
- 42 Marino S, Roodman GD. Multiple myeloma and bone: The fatal interaction. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2018; 8(8). pii: a031286. doi: 10.1101/cshperspect.a031286.
- 43 Qiang YW, Ye S, Chen Y, Buros AF, Edmonson R, van Rhee F, Barlogie B, Epstein J, Morgan GJ, Davies FE. MAF protein mediates innate resistance to proteasome inhibition therapy in multiple myeloma. *Blood* 2016; 128(25): 2919–2930.
- 44 Dorfman HD, Czerniak B. Bone cancers. *Cancer* 1995; 75(1 Suppl): 203–210.
- 45 Ulaner GA, Vu TH, Li T, Hu JF, Yao XM, Yang Y, Gorlick R, Meyers P, Healey J, Ladanyi M, Hoffman AR. Loss of imprinting of IGF2 and H19 in osteosarcoma is accompanied by reciprocal methylation changes of a CTCF-binding site. *Hum Mol Genet* 2003; 12(5): 535–549.
- 46 Li Z, Yu X, Shen J. Long non-coding RNAs: emerging players in osteosarcoma. *Tumour Biol* 2016; 37(3): 2811–2816.
- 47 Dong B, Pang TT. LncRNA H19 contributes to Rh2-mediated MC3T3-E1 cell proliferation by regulation of osteopontin. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)* 2017; 63(8): 1–6.
- 48 Zaidi SK, Sullivan AJ, Medina R, Ito Y, van Wijnen AJ, Stein JL, Lian JB, Stein GS. Tyrosine phosphorylation controls Runx2-mediated subnuclear targeting of YAP to repress transcription. *EMBO J* 2004; 23(4): 790–799.
- 49 Dey B, Pfeifer K, Dutta A. The H19 long noncoding RNA gives rise to microRNAs miR-675-3p and miR-675-5p to promote skeletal muscle differentiation and regeneration. *Genes Dev* 2014; 28(5): 491–501.
- 50 Xiang R, Lee A, Eindorf T, Javadmanesh A, Ghanipoor-Samami M, Gugger M, Fitzsimmons C, Kruk Z, Pitchford W, Leviton A, Thomsen D, Beckman I, Anderson G, Burns B, Rutley D, Xian C, Hiendleder S. Widespread differential maternal and paternal genome effects on fetal bone phenotype at mid-gestation. *J Bone Miner Res* 2014; 29(11): 2392–2404.
- 51 Krasic D, Radovic P, Buric N, Drasic D, Pesic Z, Videnovic G. Macroglossia and Beckwith-Wiedemann syndrome. *Srp Arh Celok Lek* 2011; 139(5–6): 366–369 (in Serbian with English abstract).
- 52 Tenorio J, Romanelli V, Martin-Trujillo A, Fernandez GM, Segovia M, Perandones C, Perez Jurado LA, Esteller M, Fraga M, Arias P, Gordo G, Dapia I, Mena R, Palomares M, Perez de Nanclares G, Nevado J, Garcia-Minaur S, Santos-Simarro F, Martinez-Glez V, Vallespin E, Consortium S, Monk D, Lapunzina P. Clinical and molecular analyses of Beckwith-Wiedemann syndrome: Comparison between spontaneous conception and assisted reproduction techniques. *Am J Med Genet A* 2016; 170(10): 2740–2749.