

• 综述 •

microRNA-17-92 家簇对骨发育、骨重塑和骨代谢的调控作用



万珊, 余希杰

四川大学华西医院内分泌科/内分泌与代谢病研究室(成都 610041)

【摘要】 目的 综述 microRNA-17-92 家簇对骨发育、骨重塑和骨代谢的调控作用。方法 查阅国内外相关文献,从临床遗传表型、动物实验及细胞研究 3 个不同层面进行阐述,探讨其可能的调控机制。结果 microRNA-17-92 家簇广泛参与生物体生理状态下的器官发育、病理状态下肿瘤的发生发展。近年研究表明, microRNA-17-92 家簇与其上游转录因子、下游靶蛋白组成错综复杂的分子信号网络精细调控骨骼生长发育、重塑和代谢。结论 目前基础研究对 microRNA-17-92 家簇调控骨骼系统的发育、重塑和代谢过程机制有一定了解,但确切机制尚未明确。

【关键词】 MicroRNA-17-92 家簇; 骨骼发育; 骨重塑; 骨代谢; Feingold 综合征

Regulation of microRNA-17-92 cluster on bone development, remodeling, and metabolism

WAN Shan, YU Xijie

Laboratory of Endocrinology and Metabolism, Department of Endocrinology, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu Sichuan, 610041, P.R.China

Corresponding author: YU Xijie, Email: xijieyu@hotmail.com

【Abstract】 Objective To review the regulation of microRNA-17-92 cluster on bone development, remodeling, and metabolism. **Methods** The related literature was reviewed. The clinical genetic phenotype, animal experiment, and cell research were illustrated so as to explore the possible regulatory mechanisms. **Results** MicroRNA-17-92 cluster is involved in physiological normal organs development, pathological neoplasm occurrence, and development. Recently, studies have shown that microRNA-17-92 cluster constitutes an intricate molecular signaling network with its upstream transcription factors and downstream targeting proteins, which controls bone development, remodeling, and metabolism exquisitely. **Conclusion** Present fundamental researches have certain understanding of the regulatory mechanisms of microRNA-17-92 cluster on bone development, remodeling, and metabolism. However, the exact mechanisms under these processes remain unknown.

【Key words】 MicroRNA-17-92 cluster; skeleton development; bone remodeling; bone metabolism; Feingold syndrome

Foundation items: National Natural Science Foundation of China (81370969, 81572639); Specialized Research Fund for the Doctoral Program of Higher Education of China (20130181110066); Fund from Chengdu Bureau of Science and Technology (2014-HM01-00382-SF)

骨细胞、成骨细胞、破骨细胞和软骨细胞及其组成的复杂分子信号网络精确调控骨骼的生长发育和重塑,该分子信号网络失衡会造成骨骼先天发

育异常出现畸形。骨质疏松症是一种临床最常见的代谢性骨病,各种原因引起骨代谢异常,进而导致骨强度下降和骨折风险增加。骨骼先天发育畸形和骨质疏松症是由成骨和/或破骨功能异常和/或两者之间的偶联失衡所致。microRNA 是近年发现的、在转录后水平调控基因表达的新型 RNA 分子,其广泛参与生物体的生命活动。microRNA-17-92 家簇是近来研究较多的 microRNA 家簇之一,其在

DOI: 10.7507/1002-1892.201701068

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81370969、81572639); 高等学校博士学科点专项科研基金资助项目(20130181110066); 成都市科学技术局基金项目(2014-HM01-00382-SF)

通信作者: 余希杰, Email: xijieyu@hotmail.com

骨骼生长发育、重塑以及成骨细胞分化成熟和骨代谢过程中发挥重要调控作用。现就 microRNA-17-92 家簇对骨骼系统的调控作用作一综述。

1 microRNA-17-92 家簇的组成及其生理病理作用

1.1 microRNA-17-92 家簇基因结构概述

在人类基因组, microRNA-17-92 家簇是由位于 13q31.3、长约 7 000 bp 的氨基酸序列的 MIR17HG 基因所编码^[1]。MIR17HG 基因转录后形成 6 个串联的颈环结构, 经进一步加工、剪切最终形成 7 个成熟的 microRNA: miR-17 (miR-17-5p)、miR-17 (miR-17-3p)、miR-18a (miR-18a-5p)、miR-19a (miR-19a-3p)、miR-20a (miR-20a-5p)、miR-19b (miR-19b-3p)、miR-92a (miR-92a-3p), 这些成熟的 microRNA 统称为 microRNA-17-92 家簇。成熟 microRNA 在脊椎动物间高度保守, 表明其在正常生命活动中不可或缺, 但目前对其作用及机制尚未明确。

microRNA-17-92 家簇与其上游转录因子、下游靶蛋白组成错综复杂的信号网络, 该网络精细调控 microRNA-17-92 家簇的时空表达特异性, 从而对正常生命活动进行调控; 相反, 该分子网络的失调则导致器官发育异常及肿瘤发生发展。已经证实的 microRNA-17-92 家簇的上游转录因子包括原癌基因 (MYC、MYCN)、信号转导和转录激活因子 3、转录因子 (E2F1-3) 等^[2-3], 下游的靶基因涉及细胞周期调控、细胞增殖与凋亡、骨发育与骨重塑等的关键调节因子^[4-5]。

1.2 microRNA-17-92 家簇在正常器官发育中的生理作用

microRNA-17-92 家簇参与生物体正常心脏、肺、淋巴系统、生殖系统等发育, 具体表现为以下方面: 全身纯合敲除 microRNA-17-92 家簇的小鼠胚胎不能正常发育存活。全身杂合敲除 microRNA-17-92 家簇的小鼠出现胚胎发育不良及围产期死亡, 肺发育不良及心脏室间隔缺损是其主要死亡原因^[6]; microRNA-17-92 家簇可能通过靶向作用于 T 形盒子基因、细胞信号转导分子 (Smad6)、Heg1、Kruppel 样因子 2、10 号染色体缺失的同源性磷酸酶-张力蛋白和连接蛋白 (Connxin43) 等调控心脏发育, 靶向作用于视网膜母细胞瘤样蛋白 2、信号转导和转录激活因子 3 以及丝裂原活化蛋白激酶等调节肺的发育^[7]。相反, 在心脏、肺中特异性过表达 microRNA-17-92 家簇则导致小鼠出现心肺发育

异常, 生命周期缩短^[8]。另外, 研究发现 microRNA-17-92 家簇调节正常 B 淋巴细胞的发育, microRNA-17-92 家簇特异性缺失会导致 B 淋巴细胞分化发育障碍, 过表达则导致淋巴增生性疾病^[6,9], microRNA-17-92 家簇可能是作为核糖核酸内切酶 DICER 的下游靶基因来调节淋巴系统的发育。

上述研究结果表明, microRNA-17-92 家簇作为重要的调节因子广泛参与生物体正常器官的发育、成熟。

1.3 microRNA-17-92 家簇在肿瘤发生发展转移中的病理作用

近年来, 有关 microRNA-17-92 家簇的研究主要集中于其在肿瘤发生发展中的作用。在胃癌、结肠癌、胰腺癌及前列腺癌等多种肿瘤组织中, microRNA-17-92 家簇呈高表达^[10-12], 而在乳腺癌和卵巢癌中呈低表达^[3,13], 提示 microRNA-17-92 家簇可能在不同类型肿瘤中发挥相反的调节作用。另外, 在多种人类肿瘤动物模型中均发现 microRNA-17-92 家簇的异位表达能够促进或启动肿瘤的发生发展。其可能机制主要包括以下方面: ① microRNA-17-92 家簇直接作用于调控细胞周期和细胞增殖的转录因子, 如细胞周期蛋白、细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂、10 号染色体缺失的同源性磷酸酶-张力蛋白、转录因子 E2F 家族、跨膜受体蛋白 2、跨膜受体蛋白配体以及 Delta 样配体 1、3 等, 使细胞有丝分裂障碍, 细胞周期紊乱, 导致细胞增殖异常而发生癌变^[2-3,14]。② miR-17、miR-20a、miR-92a 等可靶向抑制凋亡前体蛋白 (Bcl2/Bim) 的表达, 减少凋亡蛋白的表达, 进而抑制细胞的正常凋亡^[15]。③ miR-18a/19a 特异性抑制肿瘤细胞中结缔组织生长因子和连接组织生长因子的表达, 通过旁分泌途径调控肿瘤细胞附近内皮细胞功能, 促进癌变组织血管生成, 从而促进肿瘤发生发展和转移^[16]。

2 microRNA-17-92 家簇对骨发育的调控作用

2.1 临床遗传表型

近年来, 越来越多研究表明 microRNA-17-92 家簇不仅在肿瘤的发生发展中发挥重要作用, 其在骨骼系统的正常生长发育过程中亦具有重要调控作用。Feingold 综合征是一种常染色体显性遗传病, 大部分患者是由于 MYCN 基因突变或缺失所致; 其特征是多发骨骼发育异常, 包括手指 (特别是第 2、5 指中节指骨短缩) 畸形、脚趾畸形、体格矮小、颅面部畸形、小头畸形及胃肠道闭锁, 部分

患者存在不同程度的认知和学习障碍^[17-20]；而 de Pontual 等^[21]在 3 个家系中发现伴随 microRNA-17-92 家簇的编码基因 MIR17HG 单倍体缺失的患者亦表现为 Feingold 综合征，为 Feingold 综合征的基因诊疗提供了新的方向和思路。相反，Hemmat 等^[22]在 1 个家系中发现，microRNA-17-92 家簇的微小重复突变导致骨骼发育延迟、身材矮小、中度大头畸形、短肢畸形及颅面部异常。此外，Kannu 等^[23]报道了更大拷贝的 microRNA-17-92 家簇的重复突变导致 A 型轴后多指（趾）畸形及过度生长，其表型与 Feingold 综合征部分类似（短肢畸形及身材矮小），但也有相反之处（大头畸形和过度生长）。进一步研究发现，microRNA-17-92 家簇靶向作用于 TGF- β 信号通路（调控骨骼发育最重要的信号通路）调节骨骼发育，且 miR-17/20a 可直接靶向结合 TGF- β 受体 II，miR-18a 则是靶向作用于 TGF- β 的下游信号蛋白 Smad2 和 Smad4^[24]。此外，microRNA-17-92 家簇还可间接与 Sonic Hedgehog (Shh) 轴相互作用来调控骨骼生长发育^[25-26]。

上述研究表明，microRNA-17-92 家簇在人类骨骼系统发育过程中发挥重要调控作用，且这种作用与该家簇的含量有着密切关系。不论该家簇的缺失或重复突变都会阻断正常骨骼生长发育的通路，导致生长阻滞或过度生长，但其确切机制有待进一步研究。

2.2 动物实验

动物实验发现，microRNA-17-92 家簇纯合缺失的小鼠胚胎不能正常发育成熟而出现围产期死亡；对孕 18.5 d 的上述小鼠胚胎进一步研究发现，其存在广泛的膜内成骨和软骨内成骨延迟，表现出严重的骨骼发育畸形，包括小头畸形、第 5 指中节指骨完全缺失、第 2 指中节指骨短缩、拇指发育不良以及颈椎和近端腕骨的异常融合^[27]。另外，在 microRNA-17-92 家簇纯合缺失的小鼠骨骼发育过程中广泛存在同源转化现象。例如，条件性敲除小鼠胸廓的最后一节椎体转化为带有浮肋的第 1 节腰椎椎体；单侧或双侧的肋骨缺失以及最后一节腰椎转变成为第 1 节骶椎；这种腰骶椎的同源转化现象同样存在于 46% 的 microRNA-17-92 家簇杂合敲除小鼠，提示 microRNA-17-92 家簇在小鼠中轴骨和四肢骨正常发育过程中发挥重要作用^[27]，其主要通过靶向结合生长分化因子 11、同源盒基因家族 (Hoxa5、Hoxa6、Hoxb4) 调控中轴骨的发育，靶向结合 T 形盒子基因、BMP 调控四肢骨发育。另一方面，microRNA-17-92 家簇杂合敲除的小鼠由于

肺发育不良和心脏室间隔缺损，出生后存活时间缩短，存活的小鼠表现出类似于人类 Feingold 综合征的表型，表现为小头畸形及第 5 指中节指骨的明显缩短^[21]。

随后，Han 等^[27]通过分别和联合敲除 microRNA-17-92 家簇中的各个同源 microRNA 基因，发现各个组分分别具有不同功能。例如，4 个同源 microRNA 基因——miR-17 同源基因 (miR-17、miR-20a)、miR-18 同源基因 (miR-18a)、miR-19 同源基因 (miR-19a、miR-19b-1)、miR-92 同源基因 (miR-92a-1) 分别纯合敲除的小鼠体质量和第 5 指中节指骨长度均小于性别、年龄相匹配的对照小鼠，且在 miR-17 同源基因纯合敲除的小鼠该表型最为明显，另外 miR-17 同源基因纯合敲除小鼠出现近端腕骨融合；miR-17 和 miR-18 同源基因联合纯合、杂合敲除小鼠体质量下降更显著，表型比单纯 miR-17 同源基因纯合敲除更显著；miR-17、miR18 以及 miR-92 同源基因联合杂合敲除小鼠的体质量与 microRNA-17-92 家簇杂合敲除的小鼠体质量相似，miR-17、miR18 以及 miR-92 同源基因联合纯合敲除小鼠表现出与 microRNA-17-92 家簇纯合缺失相同的表型。上述研究表明，miR-17 是骨骼生长发育的主要调节组分，miR-18 和 miR-92 具有协同调节作用。相反，Penzkofer 等^[28]发现 miR-92a 基因敲除的小鼠出现明显体质量下降、体长和颅骨长度缩短，micro-CT 扫描发现其存在第 5 掌骨和指骨的显著缩短，后肢骨骼没有改变，骨密度亦无明显变化；进一步研究发现 miR-92a 主要作用于调节骨骼发育的靶基因——BMP-7、Smad7 和抑癌基因 p53 的同源基因 p63 来调控骨骼发育^[29]。

上述动物实验研究表明，microRNA-17-92 家簇对骨骼生长发育具有重要调节作用，且对不同部位、不同阶段的骨骼发育 microRNA-17-92 家簇的不同成员可能发挥不同的调控作用。

3 microRNA-17-92 家簇对骨代谢的调节作用

3.1 临床应用

近来，越来越多研究表明，循环 microRNA 可能不只是疾病早期诊断和预后判断的生物标记，其还参与了生物体组织生理的调节。骨质疏松性骨折后短期循环中特异 microRNA 变化的水平以及这种相对于正常水平的变化可能会对骨代谢和骨折愈合过程造成重大影响。课题组前期研究收集绝经后骨质疏松患者的血液标本，检测发现其血浆成骨代谢指标骨钙素与 hsa-miR-20a、hsa-miR-19b 和

hsa-miR-19a 表达成正相关, 血浆破骨代谢指标 I 型胶原羧基末端肽与 hsa-miR-20a、hsa-miR-19b、hsa-miR-17、hsa-miR-19a 和 hsa-miR-18a 表达成正相关, 提示血液中 microRNA-17-92 家簇的表达水平可能与成骨和破骨活动密切相关^[30-31]。另外, 绝经后骨质疏松患者骨组织中 microRNA-17-92 家簇呈低表达。

骨肉瘤的细胞病理基础为成骨细胞的异常增殖和凋亡, 研究表明, microRNA-17-92 家簇成员 miR-19a/20a 在骨肉瘤细胞系和骨肉瘤组织中呈高表达。另外, 多数高表达 miR-19a 的骨肉瘤患者与低表达患者相比, 其肿瘤体积更大、临床分期更晚、远处转移率更高, 整体寿命和无病生存期显著缩短^[32]。miR-19a 被认为是骨肉瘤患者整体寿命和无病生存期的独立预测因子。进一步对其机制研究发现, 高表达的 miR-19a 导致数个调控细胞分化的基因——反义导向分子、富含亮氨酸的重复蛋白 17, 调控细胞周期的基因——人 G₁/S 特异性周期蛋白 E1, 以及调控细胞凋亡的基因——LIMA1、Ca²⁺/CaM 依赖性激酶 2 抑制子 1 在骨肉瘤细胞异常表达, 直接影响骨肉瘤的发生发展。近年研究表明, miR-19a 调节肿瘤抑制基因——B 细胞异位基因 1、细胞周期蛋白、10 号染色体缺失的同源性磷酸酶-张力蛋白和 MAX 二聚化蛋白 1 等, 加速骨肉瘤的发生发展^[33-36]。

另外, 值得注意的是, Huang 等^[37]报道骨肉瘤肺转移也与 microRNA-17-92 家簇的高表达密切相关。与非转移性、高 Fas 表达的骨肉瘤细胞系 SAOS-2 相比, miR-19a/20a 在转移性、低 Fas 表达的骨肉瘤细胞系 LM7 中表达水平较高。骨肉瘤肺转移能力与骨肉瘤细胞膜 Fas 表达量成负相关, 肺组织高表达 Fas 配体, Fas 表达量低的骨肉瘤细胞能够避免 Fas 介导的细胞凋亡而存活; 进一步研究发现, miR-20a 通过减少骨肉瘤细胞膜 Fas 的表达, 导致骨肉瘤细胞的肺转移能力增强。

综上, miR-19a/20a 的异常表达在人类骨肉瘤的发生发展过程中起着重要调控作用。miR-19a/20a 有望成为骨肉瘤患者新的预后标志物。

3.2 动物研究

研究表明, 在小鼠成骨干细胞中敲除 DICER 会阻碍其分化并导致胚胎死亡, 相反在已分化的成骨细胞中敲除 DICER 则增加成年小鼠的骨量^[38], 提示 microRNA-17-92 家簇可能在成骨细胞分化的不同阶段(干细胞状态及分化状态)发挥不同的生理病理作用。小鼠颅盖骨缺损术后 4 周, micro-CT 扫描显示 DICER^{-/-} 组小鼠颅盖骨缺损部位的新骨形成

受到抑制, 表明调节 DICER 表达在骨组织修复、代谢中具有潜在应用价值。另外, 与 Runx2^{+/+} 和 Runx2^{+/-} 小鼠的胚胎相比, Runx2^{-/-} 小鼠的胚胎 DICER 表达下降, 小鼠完全缺乏矿化骨^[39]。

Runt 相关转录因子 2 (Runt-related transcription-factor 2, Runx2) 是调控 MSCs 向成骨细胞分化的主要基因^[40-42]。在成骨分化过程中, DICER 和 Runx2 表达同步增加。DICER 是 Runx2 的下游靶基因, Runx2 与其启动子区域相结合发挥调控作用, DICER 裂解 microRNA-17-92 家簇的前体基因形成成熟 microRNA, 后者靶向下调 Dickkopf 基因家族成员 DKK1 和促凋亡因子 BIM 的水平, 从而导致 Wnt/ β -catenin 信号通路的激活, 促进成骨分化。

这些结果揭示了 Runx2/DICER/microRNA-17-92 家簇通路在成骨分化和骨重塑、代谢中的核心作用。

3.3 细胞水平

骨是一个由成骨细胞介导的骨形成和破骨细胞介导的骨吸收共同维持的一个处于动态平衡状态的内分泌器官^[43-45]。BMSCs 可以分化为成骨细胞和脂肪细胞, 其向成骨、成脂分化基于其所在部位、激素及刺激因子 VEGF、BMP、TGF- β 、Wnts、FGF、IGF、1, 25-羟基维生素 D、甲状旁腺激素、糖皮质激素、胰岛素、瘦素等对特异转录因子的激活。

成骨分化是由信号通路及信号分子网络精细调控的复杂过程, BMP-2/Smad5 信号通路在其中发挥重要作用。miR-17 负向调控 Smad5 的表达, 从而抑制 C2C12 和 MC3T3-E1 细胞系的成骨分化, miR-17 和 Smad5 的相互作用在成骨细胞分化和骨代谢过程中发挥关键作用。

microRNA-17-92 家簇对骨代谢的调节主要是通过其对成骨细胞功能的调控来实现的。课题组前期研究发现, 成骨细胞特异敲除 microRNA-17-92 家簇的小鼠骨量下降、皮质骨和松质骨骨密度减低、骨小梁数目显著下降, 成骨细胞增殖率下降、ALP 活性降低、矿化能力减低^[46-47], 成骨细胞内 Runx2 和 I 型胶原的表达量亦明显下调^[48]; 相反, 破骨细胞 microRNA-17-92 家簇特异敲除的小鼠骨量及骨密度增加、破骨细胞功能减弱、成骨细胞功能增强^[30-31]。骨组织高表达 miR-17 (最高)、miR-20a 和 miR-92a, 随着成骨细胞的分化成熟, 其表达进行性下降, 成熟的成骨细胞中 miR-17、miR-20a 和 miR-92a 表达量最低。miR-17 直接作用于 BMP-2, 下调成骨靶基因——转录共激活子、同源盒基因和 Runx2, 上调成脂靶基因——转录因子 CCAAT/增强子结合蛋白 α 和过氧化物酶体增殖物激活受

体 γ (peroxisome proliferator-activated receptor γ , PPAR γ) 来调节人类脂肪来源干细胞的成骨和成脂分化。另外, 成骨分化伴随着内源性 miR-20a 的表达增高。与此同时, 成骨细胞标志物及调节子 BMP-2、BMP-4、Runx2、成骨细胞特异性转录因子、骨钙素以及骨桥蛋白表达上调, 而脂肪细胞标志物 PPAR γ 和成骨细胞拮抗剂 Bambi、Crim1 表达下调。研究表明, miR-20a 直接结合特异性调节成骨细胞分化的、BMP/Runx2 信号通路的负性调节子 PPAR γ (促进成脂分化抑制成骨分化)、Bambi 和 Crim1, 发挥促进人 MSCs 向成骨细胞分化的作用^[49]。

成熟的 microRNA-17-92 家簇成员靶向抑制 DKK1 激活 Wnt/ β -catenin 信号通路, 从而促进成骨分化, DKK1 主要通过抑制 Wnt 信号通路、成骨分化以及促凋亡因子 BIM 的水平维持骨代谢稳态。另外, 成骨细胞特异性敲除 DICER 导致骨量增高。进一步研究发现, 条件性敲除小鼠的骨膜组织中 microRNA-17-92 家簇的下游靶基因 Runx2 和骨膜蛋白表达水平显著增加, 表明 DICER/microRNA-17-92 家簇/Runx2、骨膜蛋白信号通路在骨代谢过程中发挥重要作用^[39]。

本课题组研究发现破骨细胞中 miR-17、miR-19a (最高) 高表达, 研究表明 miR-17/20a 显著下调 NF- κ B 受体活化因子配体 (receptor activator of nuclear factor κ B ligand, RANKL) 的表达, 阻断 RANK/RANKL/骨保护素 (osteoprotegerin, OPG) 信号通路, 从而抑制破骨细胞的形成及其骨吸收功能^[50-51]。RANKL 是表达于人类成骨细胞和间充质细胞表面介导破骨细胞分化的重要调节因子, 其与 RANK 相结合刺激破骨细胞形成维持骨稳态, RANKL 与 RANK 的结合受 OPG 的调控。

综上, microRNA-17-92 家簇的不同成员作用于骨代谢过程中的不同细胞组分, 通过复杂的信号通路发挥对骨代谢的调节作用。

4 展望

近年来, 随着对 microRNA-17-92 家簇的研究逐步深入, 对于其对骨骼系统的生长发育、重塑及代谢的调节作用有了更清晰的认识, 在一定程度上为先天性骨骼发育畸形以及代谢性骨病的早期诊断、靶向治疗及预后判断等方面提供了新的思路和方法, 但仍需进一步深入研究。

参考文献

- Ota A, Tagawa H, Karnan S, *et al.* Identification and characterization of a novel gene, C13orf25, as a target for 13q31-q32 amplification in malignant lymphoma. *Cancer Res*, 2004, 64(9): 3087-3095.
- O'Donnell KA, Wentzel EA, Zeller KI, *et al.* c-Myc-regulated microRNAs modulate E2F1 expression. *Nature*, 2005, 435(7043): 839-843.
- Aguda BD, Kim Y, Piper-Hunter MG, *et al.* MicroRNA regulation of a cancer network: consequences of the feedback loops involving miR-17-92, E2F, and Myc. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008, 105(50): 19678-19683.
- Nittner D, Lambertz I, Clermont F, *et al.* Synthetic lethality between Rb, p53 and Dicer or miR-17-92 in retinal progenitors suppresses retinoblastoma formation. *Nat Cell Biol*, 2012, 14(9): 958-965.
- Liu W, Qi M, Konermann A, *et al.* The p53/miR-17/Smurf1 pathway mediates skeletal deformities in an age-related model via inhibiting the function of mesenchymal stem cells. *Aging (Albany NY)*, 2015, 7(3): 205-218.
- Ventura A, Young AG, Winslow MM, *et al.* Targeted deletion reveals essential and overlapping functions of the miR-17 through 92 family of miRNA clusters. *Cell*, 2008, 132(5): 875-886.
- Lu Y, Thomson JM, Wong HY, *et al.* Transgenic over-expression of the microRNA miR-17-92 cluster promotes proliferation and inhibits differentiation of lung epithelial progenitor cells. *Dev Biol*, 2007, 310(2): 442-453.
- Danielson LS, Park DS, Rotllan N, *et al.* Cardiovascular dysregulation of miR-17-92 causes a lethal hypertrophic cardiomyopathy and arrhythmogenesis. *FASEB J*, 2013, 27(4): 1460-1467.
- Xiao C, Srinivasan L, Calado DP, *et al.* Lymphoproliferative disease and autoimmunity in mice with increased miR-17-92 expression in lymphocytes. *Nat Immunol*, 2008, 9(4): 405-414.
- Volinia S, Calin GA, Liu CG, *et al.* A microRNA expression signature of human solid tumors defines cancer gene targets. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006, 103(7): 2257-2261.
- Petrocca F, Vecchione A, Croce CM. Emerging role of miR-106b-25/miR-17-92 clusters in the control of transforming growth factor beta signaling. *Cancer Res*, 2008, 68(20): 8191-8194.
- He L, Thomson JM, Hemann MT, *et al.* A microRNA polycistron as a potential human oncogene. *Nature*, 2005, 435(7043): 828-833.
- Zhang L, Huang J, Yang N, *et al.* microRNAs exhibit high frequency genomic alterations in human cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006, 103(24): 9136-9141.
- Xiang J, Wu J. Feud or Friend? The Role of the miR-17-92 Cluster in Tumorigenesis *Curr Genomics*, 2010, 11(2): 129-135.
- Inomata M, Tagawa H, Guo YM, *et al.* MicroRNA-17-92 down-regulates expression of distinct targets in different B-cell lymphoma subtypes. *Blood*, 2009, 113(2): 396-402.
- Kuhnert F, Kuo CJ. miR-17-92 angiogenesis micromanagement. *Blood*, 2010, 115(23): 4631-4633.
- Celli J, van Bokhoven H, Brunner HG. Feingold syndrome: clinical review and genetic mapping. *Am J Med Genet A*, 2003, 122A(4): 294-300.
- Feingold M, Hall BD, Lacassie Y, *et al.* Syndrome of microcephaly, facial and hand abnormalities, tracheoesophageal fistula, duodenal atresia, and developmental delay. *Am J Med Genet*, 1997, 69(3): 245-249.
- van Bokhoven H, Celli J, van Reeuwijk J, *et al.* MYCN

- haploinsufficiency is associated with reduced brain size and intestinal atresias in Feingold syndrome. *Nat Genet*, 2005, 37(5): 465-467.
- 20 Marcelis CL, Hol FA, Graham GE, *et al*. Genotype-phenotype correlations in MYCN-related Feingold syndrome. *Hum Mutat*, 2008, 29(9): 1125-1132.
- 21 de Pontual L, Yao E, Callier P, *et al*. Germline deletion of the miR-17 approximately 92 cluster causes skeletal and growth defects in humans. *Nat Genet*, 2011, 43(10): 1026-1030.
- 22 Hemmat M, Rumble MJ, Mahon LW, *et al*. Short stature, digit anomalies and dysmorphic facial features are associated with the duplication of miR-17 ~ 92 cluster. *Mol Cytogenet*, 2014, 7: 27.
- 23 Kannu P, Campos-Xavier AB, Hull D, *et al*. Post-axial polydactyly type A2, overgrowth and autistic traits associated with a chromosome 13q31.3 microduplication encompassing miR-17-92 and GPC5. *Eur J Med Genet*, 2013, 56(8): 452-457.
- 24 Concepcion CP, Bonetti C, Ventura A. The microRNA-17-92 family of microRNA clusters in development and disease. *Cancer J*, 2012, 18(3): 262-267.
- 25 Uziel T, Karginov FV, Xie S, *et al*. The miR-17 ~ 92 cluster collaborates with the Sonic Hedgehog pathway in medulloblastoma. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009, 106(8): 2812-2817.
- 26 Liu XS, Chopp M, Wang XL, *et al*. MicroRNA-17-92 cluster mediates the proliferation and survival of neural progenitor cells after stroke. *J Biol Chem*, 2013, 288(18): 12478-12488.
- 27 Han YC, Vidigal JA, Mu P, *et al*. An allelic series of miR-17 approximately 92-mutant mice uncovers functional specialization and cooperation among members of a microRNA polycistron. *Nat Genet*, 2015, 47(7): 766-775.
- 28 Penzkofer D, Bonauer A, Fischer A, *et al*. Phenotypic characterization of miR-92a^{-/-} mice reveals an important function of miR-92a in skeletal development. *PLoS One*, 2014, 9(6): e101153.
- 29 Sharifi M, Salehi R, Gheisari Y, *et al*. Inhibition of microRNA miR-92a induces apoptosis and inhibits cell proliferation in human acute promyelocytic leukemia through modulation of p63 expression. *Mol Biol Rep*, 2014, 41(5): 2799-2808.
- 30 Ji X, Chen X, Yu X. MicroRNAs in Osteoclastogenesis and Function: Potential Therapeutic Targets for Osteoporosis. *Int J Mol Sci*, 2016, 17(3): 349.
- 31 Suttamanatwong S. MicroRNAs in bone development and their diagnostic and therapeutic potentials in osteoporosis. *Connective Tissue Research*, 2017, 58(1): 90-102.
- 32 Zou P, Ding J, Fu S. Elevated expression of microRNA-19a predicts a poor prognosis in patients with osteosarcoma. *Pathol Res Pract*, 2017, 213(3): 194-198.
- 33 Zhang Y, Guo X, Li Z, *et al*. A systematic investigation based on microRNA-mediated gene regulatory network reveals that dysregulation of microRNA-19a/Cyclin D1 axis confers an oncogenic potential and a worse prognosis in human hepatocellular carcinoma. *RNA Biol*, 2015, 12(6): 643-657.
- 34 Lu K, Liu C, Tao T, *et al*. MicroRNA-19a regulates proliferation and apoptosis of castration-resistant prostate cancer cells by targeting BTG1. *FEBS Lett*, 2015, 589(13): 1485-1490.
- 35 Wu Q, Yang Z, An Y, *et al*. MiR-19a/b modulate the metastasis of gastric cancer cells by targeting the tumour suppressor MXD1. *Cell Death Dis*, 2014, 5: e1144.
- 36 Feng Y, Liu J, Kang Y, *et al*. miR-19a acts as an oncogenic microRNA and is up-regulated in bladder cancer. *J Exp Clin Cancer Res*, 2014, 33: 67.
- 37 Huang G, Nishimoto K, Zhou Z, *et al*. miR-20a encoded by the miR-17-92 cluster increases the metastatic potential of osteosarcoma cells by regulating Fas expression. *Cancer Res*, 2012, 72(4): 908-916.
- 38 Gaur T, Hussain S, Mudhasani R, *et al*. Dicer inactivation in osteoprogenitor cells compromises fetal survival and bone formation, while excision in differentiated osteoblasts increases bone mass in the adult mouse. *Dev Biol*, 2010, 340(1): 10-21.
- 39 Zheng L, Tu Q, Meng S, *et al*. Runx2/DICER/miRNA Pathway in Regulating Osteogenesis. *J Cell Physiol*, 2017, 232(1): 182-191.
- 40 Wysokinski D, Pawlowska E, Blasiak J. RUNX2: A Master Bone Growth Regulator That May Be Involved in the DNA Damage Response. *DNA Cell Biol*, 2015, 34(5): 305-315.
- 41 Vimalraj S, Arumugam B, Miranda PJ, *et al*. Runx2: Structure, function, and phosphorylation in osteoblast differentiation. *Int J Biol Macromol*, 2015, 78: 202-208.
- 42 Tu Q, Zhang J, James L, *et al*. Cbfa1/Runx2-deficiency delays bone wound healing and locally delivered Cbfa1/Runx2 promotes bone repair in animal models. *Wound Repair Regen*, 2007, 15(3): 404-412.
- 43 Laine CM, Joeng KS, Campeau PM, *et al*. WNT1 mutations in early-onset osteoporosis and osteogenesis imperfecta. *N Engl J Med*, 2013, 368(19): 1809-1816.
- 44 Kwan Tat S, Amiable N, Pelletier JP, *et al*. Modulation of OPG, RANK and RANKL by human chondrocytes and their implication during osteoarthritis. *Rheumatology (Oxford)*, 2009, 48(12): 1482-1490.
- 45 Kadri A, Ea HK, Bazille C, *et al*. Osteoprotegerin inhibits cartilage degradation through an effect on trabecular bone in murine experimental osteoarthritis. *Arthritis Rheum*, 2008, 58(8): 2379-2386.
- 46 Zhou M, Ma J, Chen S, *et al*. MicroRNA-17-92 cluster regulates osteoblast proliferation and differentiation. *Endocrine*, 2014, 45(2): 302-310.
- 47 Moon YJ, Yun CY, Choi H, *et al*. Smad4 controls bone homeostasis through regulation of osteoblast/osteocyte viability. *Exp Mol Med*, 2016, 48(9): e256.
- 48 Mohan S, Wergedal JE, Das S, *et al*. Conditional disruption of miR17-92 cluster in collagen type I-producing osteoblasts results in reduced periosteal bone formation and bone anabolic response to exercise. *Physiol Genomics*, 2015, 47(2): 33-43.
- 49 Han Y, Kim CY, Cheong H, Lee KY. Osterix represses adipogenesis by negatively regulating PPAR transcriptional activity. *Sci Rep*, 2016, 6: 35655.
- 50 Hamdy NA. Targeting the RANK/RANKL/OPG signaling pathway: a novel approach in the management of osteoporosis. *Curr Opin Investig Drugs*, 2007, 8(4): 299-303.
- 51 Pérez-Sayáns M, Somoza-Martín JM, Barros-Angueira F, *et al*. RANK/RANKL/OPG role in distraction osteogenesis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 2010, 109(5): 679-686.