

## 微重力对成骨细胞分化影响的研究进展

刘小龙<sup>1</sup>, 陈毅<sup>1</sup>, 马明<sup>1</sup>, 贾更新<sup>1</sup>, 耿彬<sup>2</sup>, 夏亚一<sup>2</sup>

1. 兰州大学第二临床医学院, 甘肃 兰州 730030; 2. 兰州大学第二医院骨科, 甘肃 兰州 730030

**【摘要】**本研究回顾了微重力对成骨细胞分化的影响, 综述微重力环境下信号通路和表观遗传对成骨细胞分化的调控作用, 并重点介绍了 MAPK/ERK、Wnt/ $\beta$ -catenin、BMP/Smad 信号通路以及非编码 RNA 的作用机制。最后, 总结当前针对微重力环境下骨量流失的治疗措施, 为后期通过促进成骨分化来治疗太空微重力下骨丢失提供理论依据。

**【关键词】**微重力; 成骨细胞; 细胞分化; 综述

**【中图分类号】**R318

**【文献标志码】**A

**【文章编号】**1005-202X(2023)06-0750-05

### Effects of microgravity on osteoblast differentiation: a review

LIU Xiaolong<sup>1</sup>, CHEN Yi<sup>1</sup>, MA Ming<sup>1</sup>, JIA Gengxin<sup>1</sup>, GENG Bin<sup>2</sup>, XIA Yayi<sup>2</sup>

1. The Second Clinical Medical College, Lanzhou University, Lanzhou 730030, China; 2. Department of Orthopedics, Lanzhou University Second Hospital, Lanzhou 730030, China

**Abstract:** In recent years, the molecular mechanism of microgravity regulating osteoblast differentiation has become a hot topic. Herein the effects of microgravity on osteoblast differentiation are reviewed, and the regulations of signaling pathways and epigenetic inheritance on osteoblast differentiation in a microgravity environment is summarized, with emphases on the action mechanisms of MAPK/ERK, Wnt/ $\beta$ -catenin, BMP/Smad signaling pathways and non-coding RNA. Finally, the current therapeutic measures for bone loss in a microgravity environment are introduced for providing a theoretical basis for the treatment of bone loss in space microgravity through the promotion of osteogenic differentiation in the later stage.

**Keywords:** microgravity; osteoblast; cell differentiation; review

### 前言

长期的太空飞行会导致宇航员的骨质持续流失, 每月骨丢失量约为 1%~2%, 且骨质流失主要发生在负重骨骼<sup>[1]</sup>。大量的骨质流失导致航天员骨骼结构和功能受到破坏, 这不仅增加了航天员骨折的风险, 还限制了其在空间站的驻留; 此外, 在返回地面后, 航天员的骨量恢复缓慢, 这些都是亟待解决的难题<sup>[2]</sup>。

目前, 骨形成减少是微重力环境下骨丢失的一个主要原因, 且骨形成减少与成骨细胞分化功能受损密切相关<sup>[3]</sup>。为寻找治疗和预防微重力下骨质流失的新策略, 目前的研究主要侧重于探索微重力对成骨细胞分化的影响及其潜在机制, 主要包括: (1) 微重力可以

通过 MAPK/ERK、Wnt/ $\beta$ -catenin 以及 BMP/Smad 等重要信号通路来抑制成骨细胞分化; (2) 非编码 RNA、组蛋白修饰、DNA 甲基化等表观遗传途径参与微重力抑制成骨细胞分化。本研究就微重力环境对成骨细胞分化的影响及潜在的分子机制予以综述, 并概括了微重力环境下骨量流失的治疗措施, 例如运动锻炼、药物治疗、物理治疗, 为微重力条件下骨量流失的治疗与预防提供理论依据。

### 1 微重力对成骨细胞分化的影响

由于太空实验受成本高昂、样本有限等诸多因素限制, 因此目前的研究常利用地面实验室模拟微重力系统来研究微重力对细胞生理功能的影响。用于细胞研究的模拟微重力系统可分为旋转式细胞培养系统和随机定位仪 (Random Positioning Machine, RPM), 两者都能很好地模拟太空失重环境的生物学效应, 且广泛应用于微重力条件下细胞或组织的研究<sup>[1]</sup>。

大量研究已证实模拟微重力对成骨细胞分化功能有抑制作用<sup>[4-7]</sup>。Li 等<sup>[4]</sup>在模拟微重力条件下对人间充

**【收稿日期】**2023-02-03

**【基金项目】**国家自然科学基金 (81874017, 81960403, 82060405)

**【作者简介】**刘小龙, 硕士研究生, 研究方向: 关节外科、骨质疏松, E-mail: 1136105365@qq.com

**【通信作者】**夏亚一, 教授, 博士生导师, 研究方向: 关节外科、骨质疏松, E-mail: xiayayilzu@outlook.com

质干细胞进行成骨和成脂诱导,发现微重力抑制间充质干细胞向成骨细胞分化,并促进其向脂肪细胞分化。Ontiveros等<sup>[5]</sup>将MC3T3-E1前成骨细胞在微重力条件下培养24 h后诱导其成骨分化,并利用PCR检测成骨分化相关基因的表达情况,发现碱性磷酸酶(Alkaline Phosphatase, ALP)和骨钙素的表达较正常重力组分别减少80%和50%。此外,成骨分化的关键调节因子Runt相关转录因子2(Runt-Related Transcription Factor 2, Runx2)和转录因子AP-1表达减少60%以上<sup>[5]</sup>。Fan等<sup>[6]</sup>通过RPM模拟微重力环境培养MC3T3-E1细胞,发现在微重力条件下成骨细胞标志物骨形态发生蛋白2(Bone Morphogenesis Protein 2, BMP2)、I型胶原蛋白(Collagen type I, COL1)的蛋白表达量降低以及ALP活性降低。此外,茜素红染色实验表明微重力能抑制成骨细胞分化中的矿化,减少细胞外基质中的钙盐沉积。Braveboy-Wagner等<sup>[7]</sup>利用RPM模拟不同微重力环境培养成骨细胞,发现不同条件的微重力均能抑制7F2鼠前成骨细胞的成骨分化,并且随着模拟微重力水平的降低,成骨分化标志基因Runx2、ALP和骨连接素的mRNA表达水平呈现时间和剂量依赖性降低。

## 2 微重力调控成骨细胞分化的机制

微重力调控成骨细胞分化涉及复杂的调控方式。模拟微重力可通过MAPK、Wnt和BMP等信号通路调控成骨分化关键基因的表达,进而抑制成骨细胞分化。此外,微重力也可能通过表观遗传调控抑制成骨细胞的分化功能。

### 2.1 信号通路

**2.1.1 MAPK/ERK 信号通路** MAPK通路是一种参与机械应力传导的信号通路,通过调控成骨细胞分化来调节骨量<sup>[8]</sup>。胞外信号经膜受体转换后进入胞内,引起MAPK信号的级联磷酸化,其中ERK的激活引起成骨分化相关基因的表达增加,促进成骨细胞分化,而P38的激活则促进成脂分化。

在微重力环境下,成骨细胞内MAPK/ERK通路的信号传导受到抑制。有研究表明微重力不仅降低成骨细胞内ERK1/2的磷酸化水平,还增强P38磷酸化,但胞内总JNK和磷酸化JNK却不变<sup>[9-10]</sup>。同时,Hu等<sup>[11]</sup>报告MC3T3-E1前成骨细胞在模拟微重力条件下胞内ERK1/2的磷酸化水平降低,且牙本质基质蛋白1和Runx2的表达减少。此外,Zheng等<sup>[12]</sup>通过BMP、成纤维细胞生长因子2和SB203580(一种P38 MAPK抑制剂)的组合来干预微重力条件下培养的人间充质干细胞,发现ERK1/2磷酸化和Runx2表达增加,P38磷酸化减少,且这种干预方式显著逆转了微重力对人间充质干细胞成骨分化的抑制作用。一

项太空实验表明,大鼠成骨细胞GTP酶激活蛋白(GTPase Activating Protein, GAP)在太空的转录表达量是地面的两倍,而GAP能增强Ras蛋白的GTP酶活性,促进Ras蛋白从活化到失活的转变,从而阻断Ras信号向下游传导,微重力可能由此抑制ERK通路的信号传导<sup>[13]</sup>。以上文献提示微重力可能通过MAPK/ERK信号通路抑制成骨细胞分化。

**2.1.2 Wnt信号通路和BMP信号通路** 在成骨细胞分化过程中,Wnt和BMP信号也起着关键调控作用<sup>[14]</sup>。这两个通路的信号都整合在成骨转录因子Runx2上,以促进成骨细胞分化。

Fan等<sup>[6]</sup>发现小鼠MC3T3-E1前成骨细胞在微重力环境下粘着斑的形成减少,这降低了粘着斑激酶(Focal Adhesion Kinase, FAK)磷酸化水平并抑制 $\beta$ -catenin的蛋白表达及其核转位;此研究还利用FAK广谱激活剂细胞毒性坏死因子1激活FAK,这增加了成骨细胞中的Wnt/ $\beta$ -catenin信号,恢复了成骨细胞的分化功能并挽救了鼠尾悬吊诱导的小鼠骨质丢失。因此,微重力可通过抑制Wnt/ $\beta$ -catenin信号传导来降低成骨细胞分化功能。

BMP/Smad信号传导即BMPs与骨形成蛋白受体(Bone Morphogenetic Protein Receptor, BMPR)结合后可以磷酸化胞内Smad复合体,随后Smad复合体转位到细胞核,促进成骨细胞分化相关基因的表达<sup>[15]</sup>。有研究显示在微重力条件下,成骨细胞中Smad1/5/8复合体磷酸化水平降低且其核转位受到抑制<sup>[10,16]</sup>。此外,模拟微重力抑制BMPR2蛋白表达可能是BMP信号减弱的一种分子机制<sup>[17]</sup>,这提示微重力可能通过Wnt/ $\beta$ -catenin通路调节成骨细胞分化。

**2.1.3 其他信号通路** 微重力还可能通过其他信号通路抑制成骨细胞的分化功能。在微重力条件下成骨细胞内AKT磷酸化水平降低<sup>[10,18]</sup>。但在超重力条件下,PI3K/AKT磷酸化水平增强<sup>[19]</sup>。另外,有研究发现模拟微重力抑制可溶性腺苷酸环化酶(Soluble-Adenylyl Cyclase, sAC)的表达水平,并且降低cAMP依赖蛋白激酶A(Cyclic-AMP Dependent Protein Kinase A, PKA)和cAMP反应元件结合蛋白的磷酸化水平<sup>[20]</sup>。Meyers等<sup>[21]</sup>报告了模拟微重力能降低Ras同源基因家族成员A(Ras Homolog Gene Family Member A, RhoA)活性和微丝解聚因子磷酸化水平,并且通过增加RhoA信号可逆转微重力诱导的成骨分化受损。这些研究提示微重力可能通过PI3K/AKT、sAC/PKA和RhoA等信号通路调控成骨细胞分化。

### 2.2 表观遗传

表观遗传学是在细胞核DNA序列没有变化时,研究基因可逆、可遗传的差异性表达,且参与微重力环境调控成骨细胞分化<sup>[22]</sup>。表观遗传的调控机制主要包括



非编码RNA、组蛋白修饰和DNA甲基化。非编码RNA可分为微小RNA(Micro RNA, miRNA)、长链非编码RNA(Long Non-Coding RNA, lncRNA)和环状RNA(Circular RNA, circRNA)<sup>[23]</sup>。

**2.2.1 miRNA 调控微重力下成骨细胞分化** miRNA在成骨细胞分化和骨形成过程中起重要调控作用。近来研究表明miRNA响应重力环境的变化而发生表达的改变,并且介导微重力调控成骨细胞的分化过程<sup>[24-26]</sup>。

(1)微重力环境下,miRNA可正向调控成骨细胞分化。Wang等<sup>[24]</sup>筛选出重力敏感的miR-33-5p在微重力环境下表达降低,miR-33-5p的表达促进成骨细胞分化且部分减弱微重力对成骨细胞分化的抑制作用。进一步机制表明,Hmga2基因是成骨细胞分化的负调控基因,而miR-33-5p可通过结合靶基因Hmga2 mRNA的3'UTR端,使Hmga2基因的蛋白表达受到抑制从而促进成骨细胞的分化过程。另有研究表明miR-655-3p也是成骨分化的正向调控基因,其作用机制是以赖氨酸特异性组蛋白去甲基化酶(Lysine Specific Demethylase 1, LSD1)基因作为靶基因,抑制其蛋白合成的翻译过程而降低LSD1的蛋白表达,随后LSD1的敲低可以促进Runx2、Bglap、COL1A1、ALP等成骨基因的表达,最终促进成骨细胞的分化<sup>[25]</sup>。Liu等<sup>[27]</sup>发现在微重力环境下细胞初级纤毛的吸收与成骨细胞分化抑制呈现正相关关系,而miRNA-129-3p的表达可以避免成骨细胞的初级纤毛被吸收,进而逆转微重力诱导的成骨细胞分化抑制。此外,李锐等<sup>[28]</sup>证实miRNA HN22也是成骨分化的正调控基因,并通过靶基因分析软件预测了99个潜在靶基因,如IGF1R、CaMKK2、Sema6a、Wnt5a等。

(2)微重力环境下,miRNA亦可参与成骨细胞分化的负向调控。Hu等<sup>[26]</sup>发现miRNA-132-3p在微重力环境下表达增加,miRNA-132-3p的过表达可抑制成骨细胞分化,相反,敲低miRNA-132-3p则可促进成骨细胞分化。进一步研究发现,miRNA-132-3p通过靶向下调EP300的表达,抑制Runx2的活性及乙酰化,从而负向调控成骨细胞分化。Wang等<sup>[29]</sup>通过对miRNA-139-3p的研究,发现其可靶向降低转录因子ELK1的蛋白表达,最终抑制成骨细胞分化。Qin等<sup>[17]</sup>表明敲低miR-494增加了BMPR2和Runx2的蛋白表达,并且部分解除了微重力对成骨细胞分化的抑制。

**2.2.2 lncRNA 和 circRNA 调控微重力下成骨细胞分化** Wang等<sup>[29]</sup>发现在微重力环境下lncRNA ODSM表达降低,lncRNA ODSM作为miRNA海绵,可与miRNA-139-3p结合,增加ELK1蛋白表达并促进成骨细胞分化。Wang等<sup>[30]</sup>运用质粒上调lncRNA ODSM

的表达,发现这逆转了微重力对成骨细胞分化的抑制并且减弱了鼠尾悬吊诱导的小鼠骨量丢失和骨小梁结构破坏。Liu等<sup>[31]</sup>发现lncRNA Neat1在暴露于模拟微重力的成骨细胞和小鼠中表达降低,而lncRNA Neat1表达上调后可显著恢复成骨细胞分化功能以及小鼠骨量;lncRNA Neat1能与paraspeckle蛋白结合形成paraspeckle小体,这些小体主要分布在细胞核边缘并通过阻止E3泛素连接酶Smurf1 mRNA的出核来抑制其翻译;Smurf1能靶向泛素化标记Runx2并促进其分解。由此微重力通过下调lncRNA Neat1来促进Smurf1的蛋白表达,促进转录因子Runx2的泛素化,进而抑制成骨细胞分化<sup>[31]</sup>。

虽然circRNA也在成骨细胞分化中发挥重要作用,但是目前关于circRNA参与微重力调控成骨细胞分化功能的报道较少。有研究利用高通量测序技术筛选出MC3T3-E1细胞暴露于微重力下的差异circRNA表达谱,其差异基因的功能富集主要与成骨细胞分化相关<sup>[32]</sup>。由此,lncRNA和circRNA可能是微重力调控成骨细胞分化的重要调节剂,但仍需进一步研究。

**2.2.3 组蛋白修饰和DNA甲基化** 组蛋白修饰和DNA甲基化都是重要的表观遗传修饰,参与调节骨形成和骨吸收的动态平衡,两种调控方式都能在不改变DNA序列的前提下,调节基因的表达,从而影响细胞生物学功能<sup>[22]</sup>。

LSD1作为成骨细胞分化的负调控因子,其通过在成骨相关基因(如BMP2、WNT7B、RUNX2等)调控区域消除组蛋白的H3K4me1/2标记而抑制MSCs的成骨分化<sup>[33-34]</sup>。有研究发现微重力可上调LSD1表达,进而抑制成骨细胞分化<sup>[25]</sup>。遗憾的是,目前尚无DNA甲基化参与微重力抑制成骨细胞分化的相关报道。但是,Singh等<sup>[35]</sup>发现在微重力暴露的人类淋巴细胞中,DNA甲基化酶DNMT1、DNMT3a和DNMT3b的mRNA表达在72 h后增加。同时有研究在模拟微重力条件下培养TK6类淋巴母细胞48 h后,利用第二代测序技术分析了其差异甲基化/羟甲基化区域,检测到3 204个差异甲基化区域以及167个差异羟甲基化区域<sup>[36]</sup>。一项太空动物实验研究发现,小鼠在太空微重力环境暴露30 d后,其心脏和肺中编码细胞骨架蛋白的基因启动子区域内CpG岛的甲基化水平增高<sup>[37]</sup>。由此推测,组蛋白修饰和DNA甲基化可能是微重力抑制成骨细胞分化的潜在调控方式,值得进行深入探究。

### 3 微重力条件下骨量流失的治疗措施

微重力下骨量流失的主要原因是负重骨骼的机械负荷减少,骨形成较骨吸收相对性降低,使得骨形成和

骨吸收的平衡被打破。目前应对骨量流失的具体措施主要包括运动锻炼、药物治疗、物理治疗等。

### 3.1 运动锻炼

运动锻炼对微重力下骨量表现出积极的保护作用。运动锻炼可减弱卧床休息时骨密度的降低<sup>[38-39]</sup>。动物研究也支持运动可缓解微重力下的骨量流失<sup>[40-41]</sup>。相对单纯的运动锻炼,阻力运动联合物理振动的治疗方式取得了更好的抗骨质流失效果<sup>[39]</sup>。运动锻炼是对抗微重力下骨丢失的基础措施,还需配合其他治疗方法以取得更好的治疗效果。

### 3.2 药物治疗

药物治疗是微重力下骨量流失的重要治疗措施。多项研究使用常用抗骨质疏松药物治疗模拟微重力下骨量流失来筛选可行的药物,结果表明双磷酸盐、抗RANKL单抗、蛋白酶体抑制剂、泛半胱天冬酶抑制剂对骨量起着积极的保护作用<sup>[42-45]</sup>。

近年来,促进骨形成的药物对微重力下骨量流失表现出可观的治疗作用。重组鸢尾素通过增加 $\beta$ -catenin蛋白表达,增强Wnt信号传导,从而恢复成骨细胞分化功能,最终恢复骨量<sup>[46-48]</sup>。雷奈酸锶也是治疗太空飞行期间骨质流失的潜在药物。有研究发现雷奈酸锶的羟基磷灰石纳米颗粒对微重力诱导的ALP活性降低具有保护作用并促进羟基磷灰石晶体的沉积<sup>[49]</sup>。动物研究发现口服雷奈酸锶与胶原肽对鼠尾悬吊大鼠骨量有保护作用,抑制微重力诱导的血清ALP和骨钙素含量的降低,恢复大鼠股骨的骨密度<sup>[50]</sup>。有太空实验发现褪黑激素是对抗微重力下骨丢失的候选药物,其可提高微重力环境下成骨细胞Runx2b、Osx和COL1A1的表达水平<sup>[51]</sup>。此外,姜黄素、锌和多酚的补充均对成骨细胞内ALP活性有提升作用<sup>[52-53]</sup>。上述药物是微重力下骨量流失的潜在治疗候选药物,但仍有必要通过更多的动物实验来进一步评估候选药物的抗骨量流失疗效。

### 3.3 物理治疗

物理治疗具有对抗微重力下骨质流失的潜力,主要包括机械振动<sup>[54]</sup>、脉冲电磁场<sup>[20]</sup>、低强度脉冲超声<sup>[55]</sup>。有研究表明机械振动可以使模拟微重力下大鼠股骨和胫骨的骨密度损失分别从18.8%降至10.1%和16.7%降至7.1%,并防止了股骨硬度的丧失<sup>[54]</sup>。脉冲电磁场阻止了微重力下大鼠股骨和脊柱约50%的骨量流失<sup>[20]</sup>。有研究使用小鼠尾悬吊模型来模拟微重力环境,并观察了低强度脉冲超声是否对微重力下骨流失具有治疗作用,研究实验结果表明低强度脉冲超声可减少微重力下小鼠的骨量流失,并增强骨骼的抗骨折性能<sup>[55]</sup>。由此,物理治疗对微重力诱导的骨丢失有一定疗效,但合适的刺激参数及长期安全性有待研究。

## 4 结论与展望

微重力通过多种重要信号通路和表观调控等复杂调控网络抑制成骨细胞分化功能,进而减少骨形成。目前微重力下骨丢失的治疗措施包括运动锻炼、药物治疗、物理治疗。此外,靶向恢复成骨细胞分化功能的药物在对抗微重力下骨量流失方面表现出积极作用。目前的研究多聚焦于微重力抑制成骨细胞分化的机制,仍有许多问题亟待解决:(1)进一步探索微重力影响成骨细胞的作用机制和方式;(2)将有重要作用的治疗靶点研究结果应用于太空微重力下骨丢失的诊疗中;(3)进一步筛选和验证抗骨质疏松药物对微重力下骨量流失的治疗作用。靶向促进骨形成治疗骨量流失是未来研究的重要方向,相信会有更多相关基因和药物被筛选出来,其作用机制也会被更清楚地阐明。系统研究微重力对成骨细胞分化调控作用的机制有助于微重力下骨骼疾病的治疗和预防。

## 【参考文献】

- [1] Man J, Graham T, Squires-Donnelly G, et al. The effects of microgravity on bone structure and function[J]. NPJ Microgravity, 2022, 8(1): 9.
- [2] Vico L, Van Rietbergen B, Vilaythiou N, et al. Cortical and trabecular bone microstructure did not recover at weight-bearing skeletal sites and progressively deteriorated at non-weight-bearing sites during the year following international space station missions[J]. J Bone Miner Res, 2017, 32(10): 2010-2021.
- [3] Coulombe JC, Senwar B, Ferguson VL. Spaceflight-induced bone tissue changes that affect bone quality and increase fracture risk[J]. Curr Osteoporos Rep, 2020, 18(1): 1-12.
- [4] Li L, Zhang C, Chen JL, et al. Effects of simulated microgravity on the expression profiles of RNA during osteogenic differentiation of human bone marrow mesenchymal stem cells[J]. Cell Prolif, 2019, 52(2): e12539.
- [5] Ontiveros C, McCabe LR. Simulated microgravity suppresses osteoblast phenotype, Runx2 levels and AP-1 transactivation[J]. J Cell Biochem, 2003, 88(3): 427-437.
- [6] Fan C, Wu Z, Cooper DM, et al. Activation of focal adhesion kinase restores simulated microgravity-induced inhibition of osteoblast differentiation via Wnt/B-Catenin pathway[J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(10): 5593.
- [7] Braveboy-Wagner J, Lelkes PI. Impairment of 7F2 osteoblast function by simulated partial gravity in a random positioning machine[J]. NPJ Microgravity, 2022, 8(1): 20.
- [8] Greenblatt MB, Shim JH, Glimcher LH. Mitogen-activated protein kinase pathways in osteoblasts[J]. Annu Rev Cell Dev Biol, 2013, 29: 63-79.
- [9] Zayzafoon M, Gathings WE, McDonald JM. Modeled microgravity inhibits osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells and increases adipogenesis[J]. Endocrinology, 2004, 145(5): 2421-2432.
- [10] Zhang C, Li L, Jiang Y, et al. Space microgravity drives transdifferentiation of human bone marrow-derived mesenchymal stem cells from osteogenesis to adipogenesis[J]. FASEB J, 2018, 32(8): 4444-4458.
- [11] Hu LF, Li JB, Qian AR, et al. Mineralization initiation of MC3T3-E1 preosteoblast is suppressed under simulated microgravity condition[J]. Cell Biol Int, 2015, 39(4): 364-372.
- [12] Zheng Q, Huang G, Yang J, et al. Could the effect of modeled microgravity on osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells be reversed by regulation of signaling pathways? [J]. Biol Chem, 2007, 388(7): 755-763.



- [13] Kumei Y, Shimokawa H, Ohya K, et al. Small GTPase Ras and Rho expression in rat osteoblasts during spaceflight[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2007, 1095: 292-299.
- [14] Wu M, Chen G, Li YP. TGF- $\beta$  and BMP signaling in osteoblast, skeletal development, and bone formation, homeostasis and disease[J]. *Bone Res*, 2016, 4: 16009.
- [15] Garcia J, Delany AM. MicroRNAs regulating TGF $\beta$  and BMP signaling in the osteoblast lineage[J]. *Bone*, 2021, 143: 115791.
- [16] Xu H, Wu F, Zhang H, et al. Actin cytoskeleton mediates BMP2-Smad signaling via calponin 1 in preosteoblast under simulated microgravity[J]. *Biochimie*, 2017, 138: 184-193.
- [17] Qin W, Liu L, Wang Y, et al. Mir-494 inhibits osteoblast differentiation by regulating BMP signaling in simulated microgravity[J]. *Endocrine*, 2019, 65(2): 426-439.
- [18] Dai ZQ, Wang R, Ling SK, et al. Simulated microgravity inhibits the proliferation and osteogenesis of rat bone marrow mesenchymal stem cells[J]. *Cell Prolif*, 2007, 40(5): 671-684.
- [19] Dai Z, Guo F, Wu F, et al. Integrin  $\alpha\beta 3$  mediates the synergetic regulation of core-binding factor  $\alpha 1$  transcriptional activity by gravity and insulin-like growth factor-1 through phosphoinositide 3-kinase signaling[J]. *Bone*, 2014, 69: 126-132.
- [20] Li WY, Li XY, Tian YH, et al. Pulsed electromagnetic fields prevented the decrease of bone formation in hindlimb-suspended rats by activating sAC/cAMP/PKA/CREB signaling pathway [J]. *Bioelectromagnetics*, 2018, 39(8): 569-584.
- [21] Meyers VE, Zayzafoon M, Douglas JT, et al. RhoA and cytoskeletal disruption mediate reduced osteoblastogenesis and enhanced adipogenesis of human mesenchymal stem cells in modeled microgravity[J]. *J Bone Miner Res*, 2005, 20(10): 1858-1866.
- [22] Husain A, Jeffries MA. Epigenetics and bone remodeling[J]. *Curr Osteoporosis Rep*, 2017, 15(5): 450-458.
- [23] Yang Y, Yujiao W, Fang W, et al. The roles of miRNA, lncRNA and circRNA in the development of osteoporosis[J]. *Biol Res*, 2020, 53(1): 40.
- [24] Wang H, Sun Z, Wang Y, et al. miR-33-5p, a novel mechano-sensitive microRNA promotes osteoblast differentiation by targeting Hmga2[J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 23170.
- [25] Wang XJ, Liu JW, Liu J. MiR-655-3p inhibits the progression of osteoporosis by targeting LSD1 and activating BMP-2/Smad signaling pathway[J]. *Hum Exp Toxicol*, 2020, 39(10): 1390-1404.
- [26] Hu Z, Wang Y, Sun Z, et al. miRNA-132-3p inhibits osteoblast differentiation by targeting Ep300 in simulated microgravity[J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 18655.
- [27] Liu J, Leng FF, Gao YH, et al. Protection of primary cilia is an effective countermeasure against the impairment of osteoblast function induced by simulated microgravity[J]. *J Cell Mol Med*, 2023, 27(1): 36-51.
- [28] 李锐, 吴峰, 杨超, 等. 空间飞行MG63细胞重力敏感新miRNA HN22的鉴定与功能分析[J]. *航天医学与医学工程*, 2019, 32(1): 7-13.
- [29] Wang Y, Wang K, Hu Z, et al. Identification and functional analysis of gravity-sensitive novel miRNA HN22 in MG63 during spaceflight[J]. *Space Medicine & Medical Engineering*, 2019, 32(1): 7-13.
- [30] Wang Y, Wang K, Hu Z, et al. MicroRNA-139-3p regulates osteoblast differentiation and apoptosis by targeting ELK1 and interacting with long noncoding RNA ODSM[J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(11): 1107.
- [31] Wang Y, Wang K, Zhang L, et al. Targeted overexpression of the long noncoding RNA ODSM can regulate osteoblast function *in vitro* and *in vivo*[J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(2): 133.
- [32] Liu C, Gao X, Li Y, et al. The mechanosensitive lncRNA Neat1 promotes osteoblast function through paraspeckle-dependent Smurf1 mRNA retention[J]. *Bone Res*, 2022, 10(1): 18.
- [33] Cao Z, Zhang Y, Wei S, et al. Comprehensive circRNA expression profile and function network in osteoblast-like cells under simulated microgravity[J]. *Gene*, 2021, 764: 145106.
- [34] Ge W, Liu Y, Chen T, et al. The epigenetic promotion of osteogenic differentiation of human adipose-derived stem cells by the genetic and chemical blockade of histone demethylase LSD1[J]. *Biomaterials*, 2014, 35(23): 6015-6025.
- [35] Sun J, Ermann J, Niu N, et al. Histone demethylase LSD1 regulates bone mass by controlling WNT7B and BMP2 signaling in osteoblasts[J]. *Bone Res*, 2018, 6: 14.
- [36] Singh KP, Kumari R, Dumond JW. Simulated microgravity-induced epigenetic changes in human lymphocytes[J]. *J Cell Biochem*, 2010, 111(1): 123-129.
- [37] Chowdhury B, Seetharam A, Wang Z, et al. A study of alterations in DNA epigenetic modifications (5mC and 5hmC) and gene expression influenced by simulated microgravity in human lymphoblastoid cells[J]. *PLoS One*, 2016, 11(1): e0147514.
- [38] Loktev SS, Ogneva IV. DNA methylation of mouse testes, cardiac and lung tissue during long-term microgravity simulation[J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 7974.
- [39] Cavanagh PR, Rice AJ, Novotny SC, et al. Replacement of daily load attenuates but does not prevent changes to the musculoskeletal system during bed rest[J]. *Bone Rep*, 2016, 5: 299-307.
- [40] Belavý DL, Baecker N, Armbrrecht G, et al. Serum sclerostin and DKK1 in relation to exercise against bone loss in experimental bed rest[J]. *J Bone Miner Metab*, 2016, 34(3): 354-365.
- [41] Han B, Wei SP, Zhang XC, et al. Effects of constrained dynamic loading, CKIP-1 gene knockout and combination stimulations on bone loss caused by mechanical unloading[J]. *Mol Med Rep*, 2018, 18(2): 2506-2514.
- [42] DeLong A, Friedman MA, Tucker SM, et al. Protective effects of controlled mechanical loading of bone in C57BL/6J mice subject to disuse[J]. *JBM R Plus*, 2020, 4(3): e10322.
- [43] Ding Y, Cui Y, Yang X, et al. Anti-RANKL monoclonal antibody and bortezomib prevent mechanical unloading-induced bone loss[J]. *J Bone Miner Metab*, 2021, 39(6): 974-983.
- [44] Cabahug-Zuckerman P, Frikha-Benayed D, Majeska RJ, et al. Osteocyte apoptosis caused by hindlimb unloading is required to trigger osteocyte RANKL production and subsequent resorption of cortical and trabecular bone in mice femurs[J]. *J Bone Miner Res*, 2016, 31(7): 1356-1365.
- [45] Wakabayashi H, Miyamura G, Nagao N, et al. Functional block of interleukin-6 reduces a bone pain marker but not bone loss in hindlimb-unloaded mice[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(10): 3521.
- [46] Ethiraj P, Ottinger AM, Singh T, et al. Proteasome inhibition suppress microgravity elevated RANK signaling during osteoclast differentiation[J]. *Cytokine*, 2020, 125: 154821.
- [47] Colucci S, Colaianni G, Brunetti G, et al. Irisin prevents microgravity-induced impairment of osteoblast differentiation *in vitro* during the space flight CRS-14 mission[J]. *Faseb J*, 2020, 34(8): 10096-10106.
- [48] Colaianni G, Mongelli T, Cuscito C, et al. Irisin prevents and restores bone loss and muscle atrophy in hind-limb suspended mice[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 2811.
- [49] Chen Z, Zhang Y, Zhao F, et al. Recombinant irisin prevents the reduction of osteoblast differentiation induced by stimulated microgravity through increasing  $\beta$ -catenin expression[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(4): 1259.
- [50] Cristofaro F, Pani G, Pascucci B, et al. The NATO project: nanoparticle-based countermeasures for microgravity-induced osteoporosis[J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 17141.
- [51] 刘俊丽, 宋淑军, 司少艳, 等. 口服雷奈酸锶与胶原肽对尾吊大鼠骨丢失的抑制效应[J]. *航天医学与医学工程*, 2015, 28(6): 432-436.
- [52] Liu JL, Song SJ, Si SY, et al. Inhibitory of oral administration of strontium ranelate and bovine collagen peptide on bone loss in tail suspended rats[J]. *Space Medicine & Medical Engineering*, 2015, 28(6): 432-436.
- [53] Ikegame M, Hattori A, Tabata MJ, et al. Melatonin is a potential drug for the prevention of bone loss during space flight[J]. *J Pineal Res*, 2019, 67(3): e12594.
- [54] Braveboy-Wagner J, Sharoni Y, Lelkes PI. Nutraceuticals synergistically promote osteogenesis in cultured 7F2 osteoblasts and mitigate inhibition of differentiation and maturation in simulated microgravity[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 23(1): 136.
- [55] Diao Y, Chen B, Wei L, et al. Polyphenols (S3) isolated from cone scales of pinus koraiensis alleviate decreased bone formation in rat under simulated microgravity[J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 12719.
- [56] Yang P, Jia B, Ding C, et al. Whole-body vibration effects on bone before and after hind-limb unloading in rats[J]. *Aviat Space Environ Med*, 2009, 80(2): 88-93.
- [57] Uddin SM, Qin YX. Dynamic acoustic radiation force retains bone structural and mechanical integrity in a functional disuse osteopenia model[J]. *Bone*, 2015, 75: 8-17.

(编辑:谭斯允)