

· 论著 ·

(文章编号) 1007-0893(2022)11-0001-05

DOI: 10.16458/j.cnki.1007-0893.2022.11.001

槲皮素通过抑制 lncRNA DANCR 的表达促进骨髓间充质干细胞的增殖和成骨分化

卞伟¹ 朱惠征¹ 肖顺强¹ 张荣华^{1,2*}

(1. 深圳市人民医院暨南大学第二临床医学院 南方科技大学第一附属医院, 广东 深圳 518020; 2. 暨南大学, 广东 广州 510632)

[摘要] **目的:** 前期研究发现槲皮素可促进骨髓间充质干细胞 (BMSCs) 增殖和成骨分化, 但其调控机制尚不完全清楚。长链非编码 RNA (lncRNA) 分化拮抗非蛋白质编码 RNA (DANCR) 能够抑制 BMSCs 的增殖和成骨分化。本研究进一步研究槲皮素是否能通过调控 DANCR 的表达促进 BMSCs 的增殖和成骨分化。**方法:** BMSCs 在添加了 10 μmol · L⁻¹ 槲皮素的完全培养基中培养。细胞计数试剂-8 (CCK-8) 试剂盒检测 BMSCs 的增殖; 采用碱性磷酸酶 (ALP) 分析试剂盒测定 ALP 活性; 荧光定量聚合酶链式反应 (PCR) 检测 DANCR、骨形态发生蛋白 2 (BMP-2)、runt 相关转录因子 2 (RUNX2) 以及骨钙素 (osteocalcin) 的表达。**结果:** 槲皮素处理能够增强 BMSCs 增殖、ALP 活性以及 BMP-2、RUNX2 和 osteocalcin 表达。与成骨分化培养基诱导组 (阳性对照组) 相比, 槲皮素组能够更好的维持 BMSCs 的增殖, 但是诱导 BMSCs 成骨分化的效果显著降低。进一步研究表明槲皮素诱导的 BMSCs 成骨分化过程中 DANCR 的表达显著降低。过表达 DANCR 能够逆转槲皮素对 BMSCs 增殖和成骨分化。**结论:** 槲皮素通过抑制 DANCR 的表达促进 BMSCs 的增殖和成骨分化。

[关键词] 骨髓间充质干细胞; 成骨分化; DANCR; 槲皮素

[中图分类号] R 285.5 **[文献标识码]** A

Quercetin Promotes Bone Marrow Mesenchymal Stem Cell Proliferation and Osteogenic Differentiation Through Inhibiting lncRNA DANCR Expression

BIAN Wei¹, ZHU Hui-zheng¹, XIAO Shun-qiang¹, ZHANG Rong-hua^{1,2*}

(1. Shenzhen People's Hospital, The First Affiliated Hospital of Southern University of Science and Technology, The Second Clinical College of Jinan University, Guangdong Shenzhen 518020; 2. Ji'nan University, Guangdong Guangzhou 510632)

(Abstract) **Objective** Previous studies have shown that quercetin can promote the proliferation and osteogenic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells (BMSCs), but the regulatory mechanism is not completely clear. Long non-coding RNA (lncRNA) differentiation antagonizing non-protein coding RNA (DNACR) can inhibit the proliferation and osteogenic differentiation of BMSCs. This study further investigated whether quercetin could promote BMSCs proliferation and osteogenic differentiation by regulating DANCR expression. **Methods** BMSCs were cultured in complete medium supplemented with 10 μmol · L⁻¹ quercetin. cell counting kit-8 (CCK-8) was used to detect the proliferation of BMSCs. Alkaline phosphatase (ALP) activity was determined by ALP analysis kit. The expression of DANCR, bone morphogenetic protein 2 (BMP-2), runt-associated transcription factor 2 (RUNX2) and osteocalcin were detected by fluorescence quantitative polymerase chain reaction. **Results** Quercetin treatment enhanced BMSCs proliferation, ALP activity, BMP-2, RUNX2 and osteocalcin expression. Compared with the osteogenic differentiation medium induction group (positive control group), the quercetin treatment group could maintain the proliferation of BMSCs better, but the effect of inducing BMSCs osteogenic differentiation was significantly reduced. Further studies showed that DANCR expression was significantly decreased during BMSCs osteogenic differentiation induced by quercetin. Overexpression of DANCR could reverse the proliferation and osteogenic differentiation of BMSCs induced by quercetin. **Conclusion** Dermatin promotes the proliferation and osteogenic differentiation of BMSCs by inhibiting DANCR expression.

(Keywords) Bone marrow mesenchymal stem cells; Osteogenic differentiation; DANCR; Quercetin

[收稿日期] 2022 - 04 - 10

[基金项目] 国家自然科学基金青年科学基金项目 (81904074); 广东省中医药信息化重点实验室开放基金资助项目 (2021B1212040007); 深圳市第五批 (2019-2022) 名中医药专家学术经验继承工作项目

[作者简介] 卞伟, 女, 副主任医师, 主要从事中医科工作。

[*通信作者] 张荣华 (Tel: 020-85228202)

人骨髓间充质干细胞 (bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs) 存在于骨髓基质中, 具有较强的自我更新能力和成骨分化能力, 在骨形成和骨重塑中发挥着重要作用^[1]。在一些病理生理条件下, 如衰老、股骨头坏死、骨质疏松、骨缺损等, 可导致骨髓间充质干细胞成骨能力下降^[2-4]。因此, 开发调控骨髓间充质干细胞成骨分化的药物有助于解决这些骨科疾病。槲皮素是一种具有抗氧化和抗炎特性的天然黄酮类化合物, 是公认的植物雌激素, 分布较广, 补肾中药菟丝子、桑寄生、杜仲叶中均含有槲皮素^[5]。槲皮素在体外通过 ERK、p38 MAPK 和 Wnt/ β -catenin 促进 BMSCs 的增殖、成骨分化和细胞因子分泌^[6-9]。课题组前期研究也表明槲皮素可促进骨髓间充质干细胞增殖和成骨分化并呈浓度依赖性, 且 $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 槲皮素的诱导效果最好^[10], 但其调控机制尚不完全清楚。因此, 进一步了解槲皮素调控 BMSCs 成骨分化的机制有助于槲皮素的临床应用。

长链非编码 RNA (long non-coding RNA, lncRNA) 通过表观遗传学调节蛋白质水平, 进而调控骨质疏松症的骨代谢和 BMSCs 的成骨分化^[11-12]。lncRNA 芯片结果表明分化拮抗非蛋白质编码 RNA (differentiation antagonizing non-protein coding RNA, DANCR) 在成骨分化中低表达^[13-14]。过表达 DANCR 能够抑制 BMSCs 细胞的增殖和成骨分化^[15]。然而, 槲皮素是否能够通过调控 DANCR 的表达促进 BMSCs 的增殖和成骨分化尚不清楚。

因此, 笔者首先研究槲皮素对 BMSCs 的增殖、成骨分化以及 DANCR 表达的影响, 进一步在 BMSCs 中过表达 DANCR, 分析 DANCR 过表达能否逆转槲皮素对 BMSCs 的增殖和成骨分化的影响, 阐明 DANCR 参与槲皮素调控 BMSCs 的增殖和成骨分化的机制, 为槲皮素的临床应用提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 BMSCs 培养和槲皮素处理

人 BMSCs (No.ZQ0308)、BMSCs 培养基 (No.7501) 和成骨分化培养基 (No.7531) 购自上海中乔新舟生物科技有限公司。槲皮素购自上海阿拉丁公司 (No.Q111273, 纯度 $\geq 98.5\%$), 溶解于 DMSO 中制成 $20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的母溶液中待用。BMSCs 培养于 BMSCs 培养基中, 然后在 $5\% \text{ CO}_2$ 和 37°C 条件下进行培养, 然后在培养基中添加终浓度为 $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 槲皮素进行诱导。细胞分组为不处理组, DMSO 处理对照组 (DMSO 组), $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 槲皮素诱导组 (槲皮素组) 以及成骨分化培养基诱导组 (阳性对照组)。

1.2 细胞增殖分析

各组细胞培养 24 h 后在 96 孔板中每孔接种 1×10^4

细胞 ($100 \mu\text{L}$), 37°C 和 $5\% \text{ CO}_2$ 条件培养箱中培养。培养 24 h、48 h 和 72 h, BMSCs 加入 $10 \mu\text{L}$ 细胞计数试剂盒 -8 (cell counting kit-8, CCK-8) 溶液然后避光孵育 4 h。然后在 450 nm 处测量吸光值。每个实验重复 5 次。

1.3 碱性磷酸酶活性分析

碱性磷酸酶 (alkaline phosphatase, ALP) 活性分析采用 ALP 分析试剂盒 (购自北京碧云天公司) 进行检测。具体操作见试剂盒操作说明书。

1.4 荧光定量 PCR

DANCR 和成骨标志物骨形态发生蛋白 2 (bone morphogenetic protein-2, BMP-2)、runt 相关转录因子 2 (runt-related transcription factor 2, RUNX2) 和骨钙素 (osteocalcin) 采用荧光定量聚合酶链式反应 (polymerase chain reaction, PCR) 进行检测。总 RNA 采用 Trizol (购自美国 Invitrogen 公司) 进行提取, 然后采用 EasyScript First-strand cDNA Synthesis SuperMix 试剂盒 (购自北京金全公司) 进行第一链合成。荧光定量 PCR 检测采用 SYBR Green qPCR SuperMix 试剂盒 (购自美国 Invitrogen) 进行检测。结果采用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 方法进行分析^[16], 18S rRNA 的表达作为 DANCR、BMP-2、RUNX2 和 osteocalcin 表达的内参。各组引物见表 1。

表 1 引物序列

基因	序列 (5'-3')	大小
BMP-2-上游引物	ACGCCTTAAGTCCAGCTGTA	160 bp
BMP-2-下游引物	GGCATGATTAGTGGAGTTCA	
Runx2-上游引物	TCTAAATCGCCAGGCTTCAT	250 bp
Runx2-下游引物	GAGGACCTACTCCCAAAGGA	
osteocalcin-上游引物	CTCACACTCCTCGCCCTATT	139 bp
osteocalcin-下游引物	TGGGTCTCTTCACTACCTCG	
DANCR-上游引物	CAGTTCTTAGCGCAGGTTGA	200 bp
DANCR-下游引物	AGCATTGTCACTGCTCTAGCT	
18S-上游引物	CCTGGATACCGCAGCTAGGA	112 bp
18S-下游引物	GCGGCGCAATACGAATGCCCC	

注: BMP-2 — 骨形态发生蛋白 2; Runx2 — runt 相关转录因子 2; osteocalcin — 骨钙素。

1.5 细胞转染

DANCR 全长采用全基因合成 (苏州金唯智), 然后连接到 pcDNA3.1 质粒上 (命名为 DANCR 组), 对照组采用空 pcDNA3.1 质粒 (命名为空质粒对照组)。对照组和 DANCR 组质粒采用 Lipofectamine 3000 (Invitrogen, 赛默飞) 进行转染进入 BMSCs。转染 24 h 后采用荧光定量 PCR 检测 DANCR 的表达。

1.6 数据统计

所有的数据采用 SPSS 19.0 进行统计。符合正态分布的数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示。多组之间比较采用单因素方差分析然后多组中两组之间采用 Tukey's 进行分析。 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 槲皮素促进 BMSCs 增殖和成骨分化以及下调 DANCR 表达

槲皮素诱导培养 7 d 后检测 BMSCs 的增殖, 结果表明和不处理组相比, DMSO 对细胞的增殖没有显著影响 ($P = 0.698$), 而槲皮素组的 BMSCs 的增殖显著增加 ($P < 0.001$), 而阳性对照组的 BMSCs 增殖显著降低 ($P < 0.001$)。进一步在槲皮素诱导培养 15 d 后检测 BMSCs 的 ALP 活性以及成骨分化标志物 BMP-2、RUNX2 和 osteocalcin 的表达, 结果表明和不处理组相比, DMSO 组中 ALP 活性以及 BMP-2、RUNX2 和 osteocalcin

表达没有显著影响 (均 $P > 0.05$), 而槲皮素组和阳性对照组中的 ALP 活性以及 BMP-2、RUNX2 和 osteocalcin 表达显著增加 (均 $P < 0.001$)。其中和槲皮素组相比, 阳性对照组中的 ALP 活性以及 BMP-2、RUNX2 和 osteocalcin 表达显著增加 (均 $P < 0.001$)。另外检测各组 DANCR 的表达, 和不处理组相比, DMSO 组中 DANCR 表达没有显著影响 ($P = 0.459$), 而槲皮素组和阳性对照组中的 DANCR 表达显著降低 (均 $P < 0.001$)。其中和槲皮素组相比, 阳性对照组中 DANCR 表达显著降低 ($P < 0.001$), 见表 2。

表 2 槲皮素促进 BMSCs 增殖和成骨分化以及下调 DANCR 表达 ($n = 5, \bar{x} \pm s$)

检测指标	增殖	ALP 活性	BMP-2	RUNX2	osteocalcin	DANCR
不处理组	2.312 ± 0.026	3330.478 ± 71.013	1.000 ± 0.002	1.000 ± 0.020	1.000 ± 0.020	1.000 ± 0.025
DMSO 组	2.334 ± 0.016	3332.301 ± 66.438	0.993 ± 0.002	0.994 ± 0.020	0.992 ± 0.020	0.977 ± 0.025
槲皮素组	2.496 ± 0.046	17248.310 ± 112.871	3.965 ± 0.008	3.140 ± 0.063	8.555 ± 0.171	0.279 ± 0.007
阳性对照组	2.012 ± 0.033	19408.880 ± 285.432	6.492 ± 0.013	3.505 ± 0.070	11.490 ± 0.230	0.144 ± 0.004
F	194.100	8790.000	352571.000	2268.000	4140.000	1901.000
P	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001

注: BMSCs — 骨髓间充质干细胞; ALP — 碱性磷酸酶; BMP-2 — 骨形态发生蛋白 2; Runx2 — runt 相关转录因子 2; osteocalcin — 骨钙素。

2.2 过表达 DANCR 抑制槲皮素诱导的 BMSCs 的增殖和成骨分化

为了研究 DNACR 是否参与槲皮素诱导的 BMSCs 的增殖和成骨分化, 本项目在 BMSCs 中过表达 DANCR, 同时进行槲皮素处理。和槲皮素组相比, 槲皮素 + 空质粒对照组中 DANCR 的表达没有显著差异 ($P = 0.999$), 而槲皮素 + DANCR 组中的 DANCR 表达显著增加 ($P < 0.001$)。各组培养 7 d 后检测 BMSCs 的增殖, 结果表明和槲皮素组相比, 槲皮素 + 空质粒

对照组中增殖没有显著差异 ($P = 0.957$), 而槲皮素 + DANCR 组中的增殖显著降低 ($P < 0.001$)。进一步检测各组培养 15 d 后 BMSCs 的 ALP 活性以及成骨分化标志物 BMP-2、RUNX2 和 osteocalcin 的表达, 结果表明和槲皮素组相比, 槲皮素 + 空质粒对照组中 ALP 活性以及 BMP-2、RUNX2 和 osteocalcin 表达的差异无统计学意义 (均 $P > 0.05$), 而槲皮素 + DANCR 组中 ALP 活性以及 BMP-2、RUNX2 和 osteocalcin 表达降低 ($P < 0.001$), 见表 3。

表 3 过表达 DANCR 抑制槲皮素诱导的 BMSCs 的增殖和成骨分化 ($n = 5, \bar{x} \pm s$)

检测指标	DANCR	增殖	ALP 活性	BMP-2	RUNX2	osteocalcin
槲皮素组	1.000 ± 0.043	2.470 ± 0.033	17284.300 ± 54.943	1.000 ± 0.015	1.000 ± 0.015	1.000 ± 0.020
槲皮素 + 空质粒对照组	0.981 ± 0.071	2.465 ± 0.038	17255.700 ± 50.310	1.020 ± 0.015	1.030 ± 0.035	0.978 ± 0.020
槲皮素 + DANCR 组	5.813 ± 0.895	2.359 ± 0.019	9233.341 ± 241.140	0.478 ± 0.030	0.448 ± 0.025	0.325 ± 0.029
F	87.060	20.140	3042.000	648.900	457.000	821.300
P	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001

注: BMSCs — 骨髓间充质干细胞; ALP — 碱性磷酸酶; BMP-2 — 骨形态发生蛋白 2; Runx2 — runt 相关转录因子 2; osteocalcin — 骨钙素。

3 讨论

既往研究发现槲皮素可促进 BMSCs 增殖和成骨分化, 增加骨密度^[6-9], 但是对其调控机制还不清楚。本研究进一步发现槲皮素不仅可促进 BMSCs 增殖和成骨分化, 而且在槲皮素诱导过程中 DNACR 的表达显著降低, 过表达 DANCR 能够逆转槲皮素对 BMSCs 增殖和成骨分化。以上研究表明槲皮素通过 DANCR 调控骨髓间充质干细胞的增殖和成骨分化。

BMSCs 是成骨细胞的前体细胞, 在适当的条件下

通过诱导可向成骨细胞分化, 其自我更新和分化能力直接影响着成骨细胞的数量和功能活性。在中医理论中 BMSCs 归属“精”“髓”范畴, 与“髓生骨”较相同^[17]。临床上由于衰老、绝经、创伤和炎症等病理生理条件下导致 BMSCs 的自我更新以及成骨能力减弱, 从而导致出现骨质疏松乃至骨缺损^[2-4,18]。槲皮素能够抑制衰老和雌激素缺乏导致的骨丢失, 改善其骨质疏松^[19-20]。本研究在体外研究发现槲皮素能够促进 BMSCs 增殖, 而且能够增强 ALP 活性以及 BMP-2、RUNX2 和 osteocalcin

表达。ALP是一种早期成骨标记,在骨形成中起重要作用,在BMSCs分化过程中ALP的活性升高。RUNX2是一种核心转录因子,在成骨分化早期能够通过调控下游成骨细胞特异性转录因子以及骨桥蛋白的表达,促进BMSCs的成骨细胞分化,并在成骨细胞的成熟和稳定中起着重要的作用。BMP-2是成骨分化的中晚期标记,在体内外能够刺激BMSCs向成骨细胞分化,还可以抑制BMSCs分化为其他类型的细胞,例如脂肪和骨骼肌细胞。以上结果提示槲皮素改善骨质疏松的原因可能是槲皮素能够改善BMSCs的自我更新和分化能力。本项目进一步研究表明和不处理组相比,在诱导7d时槲皮素组的BMSCs的增殖明显增强而成骨分化培养基诱导组(阳性对照组)的增殖显著降低。虽然在诱导15d时槲皮素组和阳性对照组的BMSCs成骨分化都显著增加,但是槲皮素组的BMSCs成骨分化效果要显著低于阳性对照组。其原因可能是成骨分化培养基诱导BMSCs成骨分化的能力过强,导致BMSCs增殖速度过慢,从而造成BMSCs的增殖降低的现象。因此,槲皮素治疗组能够更好的维持BMSCs的自我更新,同时也能够诱导BMSCs成骨分化,能够作为临床上治疗骨质疏松和骨缺损的潜在药物进行开发利用。

以往研究表明DANCR的表达在BMSCs成骨分化过程中异常降低,表明DANCR过表达能够抑制BMSCs成骨分化^[21]。干扰DANCR能够通过激活p38 MAPK和Wnt/ β -catenin信号通路从而促进BMSCs成骨分化^[21-22]。有研究表明在体外DANCR能够通过调节miR-1301-3p/PROX1轴来抑制BMSCs的成骨细胞分化,在绝经后骨质疏松症小鼠中能够通过抑制CTNBN1表达和Wnt/ β -catenin信号通路降低BMSCs的成骨细胞分化^[15,23]。DANCR在绝经后骨质疏松症患者血液中的表达显著增加,和骨矿物质密度(bone mineral density, BMD)呈负相关^[24]。在骨折患者的血清中DANCR的表达也显著升高^[22]。以上研究表明骨质疏松和骨折患者中DANCR表达升高,而抑制DANCR的表达能够促进BMSCs的成骨细胞分化改善骨缺损和骨质疏松。本研究发现槲皮素在诱导BMSCs成骨分化过程中抑制DANCR表达,过表达DANCR能够逆转槲皮素对BMSCs增殖以及ALP活性以及BMP-2、RUNX2和osteocalcin表达的影响。该结果表明过表达能够抑制BMSCs增殖以及ALP活性以及BMP-2、RUNX2和osteocalcin表达,和以往研究结果相似。同时该结果还表明槲皮素通过抑制DANCR的表达促进BMSCs增殖以及ALP活性以及BMP-2、RUNX2和osteocalcin表达,进一步提示在临床上槲皮素能够用于治疗骨质疏松和骨缺损。

总之,本研究表明在体外槲皮素能够通过抑制DANCR的表达促进BMSCs增殖和成骨分化,从分子机制方面阐明了槲皮素能够作为潜在的药物用于治疗骨质

疏松和骨缺损。但是,槲皮素的临床应用还需要进一步的动物实验和临床试验来研究验证。

[参考文献]

- (1) Bianco P, Riminucci M, Gronthos S, et al. Bone marrow stromal stem cells: nature, biology, and potential applications (J). *Stem Cells*, 2001, 19(3): 180-192.
- (2) Zhang Y, Ravikumar M, Ling L, et al. Age-related changes in the inflammatory status of human mesenchymal stem cells: implications for cell therapy (J). *Stem Cell Reports*, 2021, 16(4): 694-707.
- (3) Tian F, Yang HT, Huang T, et al. Involvement of cb2 signalling pathway in the development of osteoporosis by regulating the proliferation and differentiation of hbmscs (J). *J Cell Mol Med*, 2021, 25(5): 2426-2435.
- (4) Houdek MT, Wyles CC, packard BD, et al. Decreased osteogenic activity of mesenchymal stem cells in patients with corticosteroid-induced osteonecrosis of the femoral head (J). *J Arthroplasty*, 2016, 31(4): 893-898.
- (5) Bischoff SC. Quercetin: Potentials in the prevention and therapy of disease (J). *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2008, 11(6): 733-740.
- (6) Zhou Y, Wu Y, Jiang X, et al. The effect of quercetin on the osteogenesis differentiation and angiogenic factor expression of bone marrow-derived mesenchymal stem cells (J). *PLoS One*, 2015, 10(6): e0129605.
- (7) Pang XG, Cong Y, Bao NR, et al. Quercetin stimulates bone marrow mesenchymal stem cell differentiation through an estrogen receptor-mediated pathway (J). *Biomed Res Int*, 2018, 2(3): 4178021.
- (8) Wang N, Wang L, Yang J, et al. Quercetin promotes osteogenic differentiation and antioxidant responses of mouse bone mesenchymal stem cells through activation of the AMPK/SIRT1 signaling pathway (J). *Phytother Res*, 2021, 35(5): 612-622.
- (9) Yuan Z, Min J, Zhao Y, et al. Quercetin rescued TNK-alpha-induced impairments in bone marrow-derived mesenchymal stem cell osteogenesis and improved osteoporosis in rats (J). *Am J Transl Res*, 2018, 10(12): 4313-4321.
- (10) 卞伟, 杨丽, 孙宏, 等. 槲皮素对骨髓间充质干细胞增殖和骨向分化的影响 (J). *中药药理与临床*, 2016, 32(5): 27-30.
- (11) 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.
- (12) Li Z, Huang C, Yang B, et al. Emerging roles of long non-coding RNAs in osteonecrosis of the femoral head (J). *Am J Transl Res*, 2020, 12(9): 5984-5991.
- (13) Wang L, Wang Y, Li Z, et al. Differential expression of long noncoding ribonucleic acids during osteogenic differentiation of human bone marrow mesenchymal stem cells (J). *Int Orthop*, 2015, 39(5): 1013-1019.

- (14) Wang J, Miao J, Meng X, et al. Expression of long non-coding RNAs in human bone marrow mesenchymal stem cells co-cultured with human amnion-derived mesenchymal stem cells (J). *Mol Med Rep*, 2017, 16(5): 6683-6689.
- (15) Weng W, Di S, Xing S, et al. Long non-coding RNA DANCR modulates osteogenic differentiation by regulating the miR-1301-3p/PROX1 axis (J). *Mol Cell Biochem*, 2021, 476(4): 1-10.
- (16) Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C) method (J). *Methods*, 2001, 25(4): 402-408.
- (17) 卞琴, 沈自尹, 王拥军. 骨髓间充质干细胞在中医理论中的归属 (J). *中国中医基础医学杂志*, 2011, 17(7): 794-797.
- (18) Wang C, Meng H, Wang X, et al. Differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells in osteoblasts and adipocytes and its role in treatment of osteoporosis (J). *Med Sci Monit*, 2016, 1(22): 226-233.
- (19) 郑红, 唐薇, 角建林, 等. 槲皮素通过促进成骨分化治疗去势骨质疏松症大鼠的分子机制 (J). *中药药理与临床*, 2017, 33(5): 16-20.
- (20) 顾艺婧, 傅稼耀, 武文婧, 等. 槲皮素通过抗骨相关细胞衰老作用治疗雌激素缺乏骨质疏松症的初步研究 (J). *同济大学学报 (医学版)*, 2019, 40(3): 274-280.
- (21) Zhang J, Tao Z, Wang Y. Long non-coding RNA DANCR regulates the proliferation and osteogenic differentiation of human bone-derived marrow mesenchymal stem cells via the p38 MAPK pathway (J). *Int J Mol Med*, 2018, 41(1): 213-219.
- (22) Jiang SY, Miao YX, Hirokazu T, et al. Effects of lncRNA DANCR on proliferation and differentiation of osteoblasts by regulating the Wnt/ β -catenin pathway (J). *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23(13): 5558-5566.
- (23) Wang CG, Hu YH, Su SL, et al. RNA DANCR and miR-320a suppressed osteogenic differentiation in osteoporosis by directly inhibiting the Wnt/ β -catenin signaling pathway (J). *Exp Mol Med*, 2020, 52(8): 1310-1325.
- (24) Tong X, Gu PC, Xu SZ, et al. Long non-coding RNA-DANCR in human circulating monocytes: a potential biomarker associated with postmenopausal osteoporosis (J). *Biosci Biotechnol Biochem*, 2015, 79(5): 732-737.

〔文章编号〕 1007-0893(2022)11-0005-05

DOI: 10.16458/j.cnki.1007-0893.2022.11.002

东莞地区耐碳青霉烯类肠杆菌科细菌的临床分布特点及耐药性分析

谢树金 黄亚 陈淑玲 黄晓君 方颖 林偲思 冯森 陈路林 王坤 谢佩 詹雅旋 张莉 郭主声*
(东莞东华医院, 广东 东莞 523110)

〔摘要〕 **目的:** 了解东莞市 2016–2020 年耐碳青霉烯类肠杆菌科细菌(CRE)的临床分布特征, 对其耐药性进行分析, 为东莞地区抗菌药物使用和 CRE 防控策略提供研究基础。 **方法:** 从东莞地区细菌耐药监测网筛选 2016–2020 年期间收集的肠杆菌科细菌菌株, 使用全自动微生物分析仪进行菌种鉴定和药敏试验, 使用 WHONET 5.6 软件进行数据分析。 **结果:** 从东莞地区细菌耐药监测网筛选 2016–2020 年肠杆菌科细菌共 88047 株, 其中 CRE 占 0.98%, 共 864 株; CRE 检出率最高的为阴沟肠杆菌 (3.77%), 其次为肺炎克雷伯菌 (2.14%); 尿液标本 (288 株)、呼吸道标本 (248 株) 和分泌物标本 (117 株) 是 CRE 菌株的主要的来源标本, 占其菌株检出总数的 1.12%、1.55%、0.61%; CRE 主要分布于重症医学科 (15.39%); 864 株 CRE 药敏结果显示, 替加环素的耐药率 10.0%, 其他耐药率均大于 30%, 864 株 CRE 菌株中三种主要菌株的药敏结果显示, 替加环素对三种主要菌株均有较好的敏感性。 **结论:** CRE 菌株分布广泛, 医院内主要来源于重症医学科; 呼吸系统和泌尿系统是 CRE 的高发生率部位。肺炎克雷伯菌和大肠埃希菌在 CRE 菌株中所占比例最高; 临床大多数常用抗菌药物被 CRE 所耐受, 建议医院加强预防意识, 合理使用抗菌药物, 全面有效地控制 CRE 的发生和扩散。

〔收稿日期〕 2022-04-21

〔基金项目〕 东莞市社会科技发展(重点)项目(201950715046197)

〔作者简介〕 谢树金, 男, 主管技师, 主要从事临床微生物检验及细菌耐药性监测工作。

〔*通信作者〕 郭主声 (E-mail: gzs_2012@163.com; Tel: 13431501631)