

***THBS1* có thể là đích tiềm năng của mir-144-3p trong bệnh thoái hóa khớp**

***THBS1* is potential target of mir-144-3p in osteoarthritis**

Lê Thị Trúc Linh^{1*}, Nguyễn Thị Quế Anh¹

¹Khoa Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Đại học Mở Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

*Tác giả liên hệ, Email: linh.ltt@ou.edu.vn

THÔNG TIN

DOI: 10.46223/HCMCOUJS.tech.vi.17.2.1882.2022

Ngày nhận: 18/05/2021

Ngày nhận lại: 11/10/2021

Duyệt đăng: 10/11/2021

Từ khóa:

gen đích tiềm năng; miR-144-3p; thoái hóa khớp; *THBS1*

Keywords:

potential target gene; miR-144-3p; osteoarthritis; *THBS1*

TÓM TẮT

MicroRNA là một phân tử RNA nhỏ kích (thước khoảng 20 - 25 nucleotide) không tham gia mã hóa, có chức năng điều chỉnh biểu hiện gene bằng cách ức chế phiên mã hoặc dịch mã. Những năm gần đây, thoái hóa khớp được xem là nguyên nhân xếp thứ hai dẫn đến tăng số lượng người sống cùng với tàn tật. Với sự già hóa dân số thế giới nói chung và Việt Nam nói riêng, thoái hóa khớp là một thách thức lớn trong việc chẩn đoán và điều trị ở giai đoạn sớm. MiR-144-3p là một trong những phân tử đã được chứng minh có chức năng trong bệnh thoái hóa khớp. Tuy nhiên, mạng lưới tương tác của microRNA với hệ thống gen đích trong một điều kiện bệnh là vô cùng phức tạp. Để chức năng của phân tử miR-144-3p được hoàn chỉnh, cần từng bước xác định chức năng trong điều kiện bệnh thoái hóa khớp đối với gen đích tiềm năng nhất định. Gen đích của miR-144-3p đã được dự đoán bằng các công cụ như Target Scan Human, miRDB và miRmap. Kết quả dự đoán cho thấy *THBS1* được xác định là gen đích của miR-144-3p với 04 vị trí bắt cặp và có chức năng liên quan bệnh thoái hóa khớp thông qua con đường tín hiệu TGF- β .

ABSTRACT

MicroRNA is a small RNA molecule (about 20 - 25 nucleotides) that does not participate in coding, which regulates gene expression by inhibiting transcription or translation. In recent years, osteoarthritis is considered the second leading cause of the increasing number of people living with a disability. With the aging population of the world in general and Vietnam in particular, osteoarthritis is a big challenge in diagnosis and treatment at an early stage. MiR-144-3p is one of the molecules that have been shown to function in osteoarthritis. However, the network of microRNAs interacting with the target gene system in a disease condition is extremely complex. In order for the function of the miR-144-3p molecule to be complete, it is necessary to step by step determine the function in disintegrating joint disease conditions for certain potential target genes. The target gene of miR-144-3p was predicted using tools such as Target Scan Human, miRDB, and miRmap. Predictive results showed that *THBS1* was identified as the target gene of miR-144-3p with 04 coupling sites and functionally related to dead joint disease through the TGF- β signaling pathway.

1. Giới thiệu

Thoái hóa khớp là một bệnh mãn tính về khớp rất phổ biến, thường xuất hiện nhiều ở người trung niên và người cao tuổi. Thoái hóa khớp liên quan đến những rối loạn trong toàn bộ các mô của khớp, bao gồm: sụn và bao hoạt dịch khớp (Loeser, Goldring, Scanzello, & Goldring, 2012). Phần lớn các khớp cần sự hoạt động linh hoạt như khớp bàn tay, khớp cột sống hay những khớp có vai trò chống đỡ cơ thể quan trọng như khớp gối, khớp háng có nguy cơ bị thoái hóa cao. Hiện nay, thoái hóa khớp thường chẩn đoán bằng những phương pháp như: chụp X-quang, chụp MRI và nội soi (Lohmander & Roos, 2007). Tuy nhiên, những hạn chế trong chẩn đoán lâm sàng vẫn còn tồn đọng khi những công cụ chẩn đoán này chưa có tính chẩn đoán chính xác cao ở những giai đoạn sớm. Vì thế, bệnh thoái hóa khớp chỉ được phát hiện và bắt đầu điều trị khi đã có quá trình ủ bệnh kéo dài hoặc đã đến giai đoạn cần phải tháo khớp.

Vào năm 2016, Hiệp hội Nghiên cứu xương khớp quốc tế (OARSI) đã mô tả thoái hóa khớp là một bệnh nghiêm trọng (Breedveld, 2004) do mức độ gánh nặng bệnh tật lên toàn cầu (Hawker, 2019). Năm 2017 có khoảng 303 triệu người (James & ctg., 2018) trên thế giới bệnh thoái hóa khớp. Năm 2018, Hiệp hội nghiên cứu gánh nặng bệnh tật toàn cầu đã công bố mức độ ảnh hưởng của các bệnh liên quan đến rối loạn cơ xương chiếm khoảng 6.8% DALYs (James & ctg., 2018) và con số này được đánh giá lớn hơn nhiều so với những lần khảo sát trước. Ước tính có khoảng 10 - 15% người trưởng thành có triệu chứng thoái hóa khớp (James & ctg., 2018). Năm 2020, thoái hóa khớp là một trong những nguyên nhân xếp thứ thứ hai dẫn đến tăng tỷ lệ người sống cùng với tàn tật trên thế giới (Kloppenburg & Berenbaum, 2020). Theo Liên hợp quốc, năm 2050 có khoảng 20% dân số thế giới là người trên 60 tuổi (Lutz, Sanderson, & Scherbov, 2008). Chiếm 20% trong số đó có khoảng 15% có triệu chứng thoái hóa khớp và hơn 01/03 số này bị sẽ bị tàn tật. Tại Việt Nam, thoái hóa khớp chưa có số liệu thống kê cụ thể trên cả nước. Đặc biệt, Việt Nam là nước đang chuyển đổi cơ cấu già hóa nhanh nhất trong khu vực Châu Á. Theo WHO, dân số Việt Nam trong năm 2050 có khoảng 29 triệu người từ 60 tuổi trở lên, chiếm gần một phần ba tổng dân số (United Nations, Department of Economic and Social Affairs, & Population Division, 2019). Số người trên 80 tuổi sẽ chiếm khoảng 6% dân số (United Nations & ctg., 2019). Trong khi đó, tình trạng người mắc bệnh thoái hóa khớp có chiều hướng gia tăng phụ thuộc vào mức độ già hóa dân số. Có thể thấy, Việt Nam có nguy cơ đối mặt với số lượng lớn người bệnh thoái hóa khớp trong tương lai.

MicroRNA (miR) là một phân tử RNA nhỏ (khoảng 20 - 25 nucleotide) không tham gia mã hóa, có chức năng điều chỉnh biểu hiện gene bằng cách ức chế phiên mã hoặc dịch mã. Những năm gần đây, phân tử miR đang là một đối tượng mà nhiều nghiên cứu hướng đến áp dụng trong điều trị bệnh. Qua sàng lọc và thực nghiệm đã chỉ ra một số miR có chức năng quan trọng trong thoái hóa khớp như: miR-22 (Iliopoulos, Malizos, Oikonomou, & Tsezou, 2008), miR-9 và miR-98 (Jones & ctg., 2009), miR-483 (Díaz-Prado & ctg., 2012), miR-29 (L. T. Le & ctg., 2016), miR-485-5p (H. O. Chen, Zhang, Tang, & Gong, 2018), miR-455 (Hu & ctg., 2019), miR-210 (Mizuno & ctg., 2009), miR-27b (Akhtar & ctg., 2010), miR-140 (Miyaki & ctg., 2010).

Trong thoái hóa khớp, miR-144 được xác định có biểu hiện tăng gấp 05 lần ở tế bào xương của khớp thoái hóa so với tế bào bình thường (Jones & ctg., 2009). miR-144 có chứa hai đoạn trình tự trưởng thành thực hiện chức năng là miR-144-3p và miR-144-5p. Trong đó, miR-144-3p đã được chứng minh cho thấy có vai trò trong thoái hóa khớp. Năm 2017, miR-144-3p đã ức chế biểu hiện của gen *CRAT* là một gen gây ức chế quá trình tạo xương (Song, Kang, Yoon, Chun, & Jin, 2017). Năm 2018, miR-144-3p được báo cáo tăng biểu hiện trong tế bào

chondrocytes (L. Le, Ho, & Clark, 2018). Nhiều gen đích khác của miR-144-3p trong thoái hóa khớp cũng đã được chứng minh như: *Smad4* (Huang, Geng, Wei, Zhang, & Jiang, 2016), *FZD4* (Sun & ctg., 2019), *TET2* (N. Li, Liu, Liu, Luo, Song, & Fang, 2020). Những kết quả trên có thể thấy miR-144-3p có sự liên quan đến quá trình phát triển của bệnh thoái hóa khớp. Tuy nhiên, chức năng của phân tử miR này vẫn chưa được xác định rõ ràng. Do vậy, để hiểu rõ chức năng của miR-144-3p trong bệnh thoái hóa khớp, chúng tôi đã sử dụng các công cụ Tin sinh học để xác định gen đích của miR-144-3p. Đây là những bước đầu tiên giúp hoàn thiện cơ sở dữ liệu mạng lưới gen đích của miR-144-3p trong thoái hóa khớp.

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Các công cụ Tin sinh được sử dụng trong nghiên cứu

MiRBase (n.d.) là một cơ sở dữ liệu uy tín cung cấp trình tự miR-144-3p trưởng thành. Trình tự vùng 3'UTR của gen đích tiềm năng được lấy từ cơ sở dữ liệu Ensembl Genome Browser (n.d.). Gen đích của miR-144-3p được khảo sát bằng một số phần mềm như: TargetScanHuman (n.d.). MicroRNA Target Prediction Database - miRDB (n.d.), miRmap (n.d.). Ngoài ra, nghiên cứu sử dụng cơ sở dữ liệu National Central for Biotechnology Information - NCBI (n.d.) và Pubmed (n.d.) cho quá trình tìm kiếm những thông tin tài liệu tham khảo uy tín.

2.2. Thu thập thông tin về phân tử miR-144-3p

Phân tử miR-144-3p được tìm hiểu những thông tin cơ bản về vị trí, quá trình sinh tổng hợp, cơ chế hoạt động, khả năng ức chế từ những tài nguyên khoa học trước đó. Từ đó hiểu rõ cách thức hoạt động và dự đoán gen đích. Trình tự has-miR-144-3p trưởng thành (miR-144-3p) được thu thập từ cơ sở dữ liệu miRBase (n.d.). Trình tự các vị trí “seed site” được xác định là “TACTGT” (6 mer), “ATACTGT” (7 mer-m8), “TACTGTA” (7 mer-A1) và “ATACTGTA” (8 mer).

2.3. Dự đoán gen đích tiềm năng của phân tử miR-144-3p

Để dự đoán gen đích tiềm năng của miR-144-3p, chúng tôi sử dụng một số chương trình tin sinh học như TargetScanHuman (n.d.), miRDB (n.d.) và miRmap (n.d.) bằng dữ liệu đưa vào là has-miR-144-3p. Ngoài ra, các gen đích tiềm năng còn được kiểm tra các vị trí bắt cặp bằng phần mềm Annhyb để đảm bảo không sai sót.

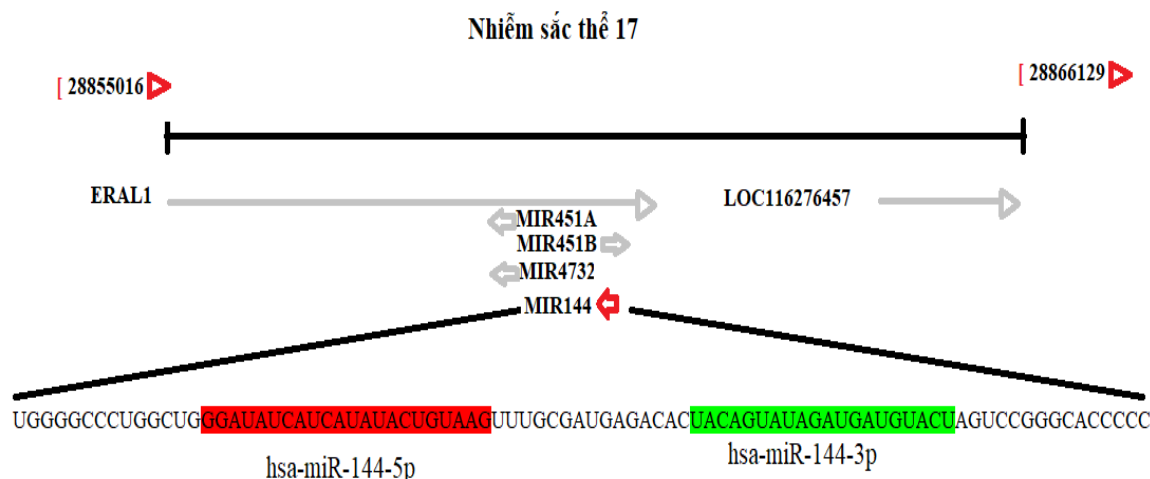
2.4. Xác định cấu trúc phân tử, chức năng của gen đích

Dựa trên danh sách khảo sát gen đích của phân tử miR-144-3p, tiến hành tìm hiểu các chức năng của gen đích trên cơ sở dữ liệu National Central for Biotechnology Information - NCBI (n.d.). Tiến hành sàng lọc và thu thập thông tin những gen đích có liên quan đến bệnh thoái hóa khớp.

3. Kết quả nghiên cứu

3.1. Phân tử miR-144

Phân tử miR-144 nằm trên chromosome 17 (Hình 1), nằm gần kề với miR-4732 và miR-451a/b. Trình tự bảo tồn của miR-144 được xác định có ở trên người, chuột, gà và cá ngựa vằn. Theo mô tả của cơ sở dữ liệu miRBase (n.d.), phân tử miR-144 trưởng thành có chứa hai đoạn trình tự có khả năng thực hiện chức năng là miR-144-3p và miR-144-5p.



Hình 1. Vị trí của phân tử miR-144

3.2. *THBS1* có chức năng trong bệnh thoái hoá khớp

Khảo sát bằng các công cụ Tin sinh học, số lượng gen đích tiềm năng của miR-144-3p được sàng lọc từ các công cụ TargetScanHuman (n.d.), miRDB (n.d.), miRmap (n.d.) lần lượt là 1,043 gen, 1,254 gen và 5,264 gen. Từ những số liệu trên có thể thấy số lượng gen đích tiềm năng được dự đoán ở mỗi công cụ là không giống nhau. Mỗi công cụ sử dụng mỗi thuật toán dự đoán khác nhau vì thế các gen đích được dự đoán có thể xảy ra trường hợp dương tính giả hoặc âm tính giả. Khâu thực hiện khảo sát gen đích trên nhiều công cụ khác nhau nhằm chọn lựa được những gen đích tiềm năng nhất. Với mục đích xác định chức năng của miR-144-3p trên thoái hóa khớp, các gen đích tiềm năng cần có chức năng liên quan đến quá trình hình thành bệnh. Từ đó sử dụng kết quả khảo sát *in silico* làm cơ sở để tiến hành thực nghiệm kiểm chứng.

Kết quả cho thấy *THBS1* (Thrombospondin-1) có thể là gen đích của miR-144-3p trong thoái hóa khớp. *THBS1* hay *TSP1* là gen mã hóa cho một loại protein có nhiều trong tiểu cầu α (Isenberg & Roberts, 2020). *THBS1* đã được xác định là một nhân tố ức chế quá trình tạo mạch, giảm tình trạng viêm và ngăn chặn quá trình thoái hóa khớp (Hsieh & ctg., 2010). *THBS1* tác động đến bệnh thoái hóa khớp thông qua con đường tín hiệu TGF- β /Smad (Murphy-Ullrich & Poczatek, 2000). Trong đó, sự tăng biểu hiện của phân tử truyền tín hiệu TGF- β 1 thúc đẩy cho quá trình tái cấu trúc sụn.

Như vậy, *THBS1* được biết là một gen có chức năng trong bệnh thoái hóa khớp. Đồng thời, kết quả khảo sát gen đích của miR-144-3p cho thấy *THBS1* là kết quả trùng lặp ở cả ba công cụ. Vì thế, *THBS1* là gen đích tiềm năng được lựa chọn và tiếp tục kiểm tra khả năng tương tác với miR-144-3p.

3.3. Trên vùng 3'UTR của *THBS1* có nhiều vị trí bắt cặp của miR-144-3p

Kết quả kiểm tra vùng 3'UTR của *THBS1* bằng công cụ TargetScanHuman (n.d.) cho thấy *THBS1* có 03 vị trí bắt cặp với miR-144-3p, trong đó có 02 vị trí bảo tồn cao (Hình 2) và 01 vị trí bảo tồn kém (Hình 3).

	Predicted consequential pairing of target region (top) and miRNA (bottom)	Site type
Position 1398-1404 of THBS1 3' UTR	5' ...GCCAUGAGGUCUCAAUACUGUU... 	7mer-m8
hsa-miR-144-3p	3' UCAUGUAGUAGAUUGACAU	
Position 1596-1602 of THBS1 3' UTR	5' ...UAACAAACUUAAGCUACUGUAG... 	7mer-A1
hsa-miR-144-3p	3' UCAUGUAGUAGAUUGACAU	

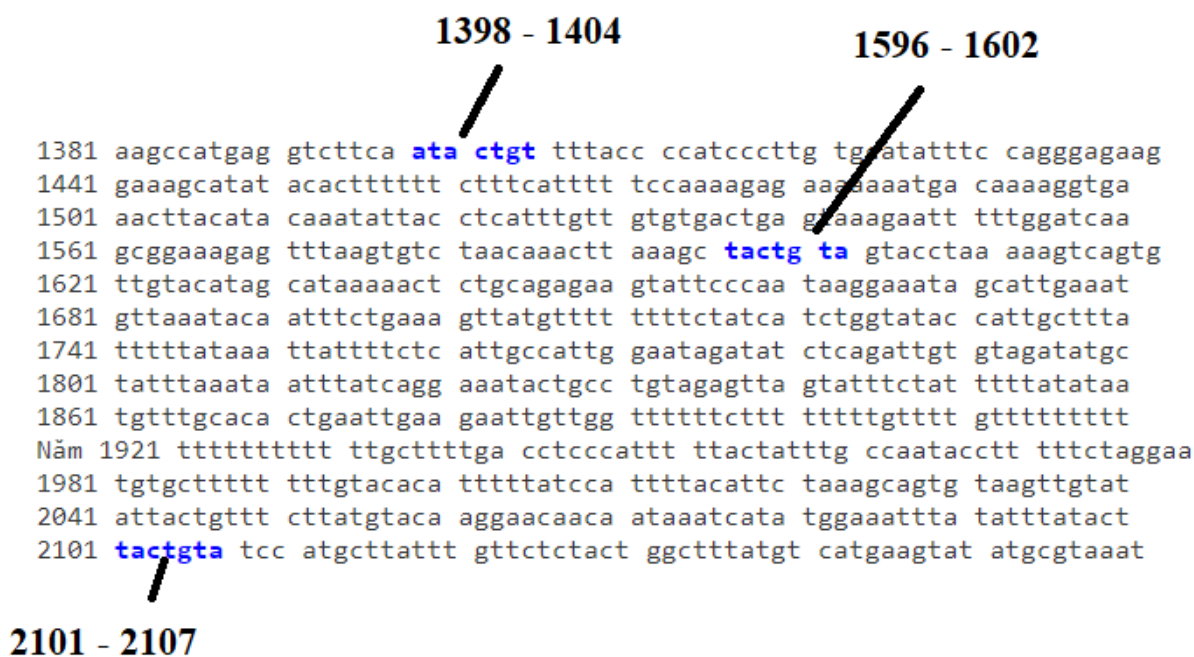
Hình 2. Hình ảnh mô tả 02 vị trí bắt cặp có độ bảo tồn cao trên vùng 3'UTR của *THBS1* và miR-144-3p

	Predicted consequential pairing of target region (top) and miRNA (bottom)	Site type
Position 2101-2107 of THBS1 3' UTR	5' ...AUUUUAUUUUAUCUACUGUAU... 	7mer-A1
hsa-miR-144-3p	3' UCAUGUAGUAGAUUGACAU	

Hình 3. Hình ảnh mô tả vị trí bắt cặp có độ bảo tồn thấp trên vùng 3'UTR của *THBS1* và miR-144-3p

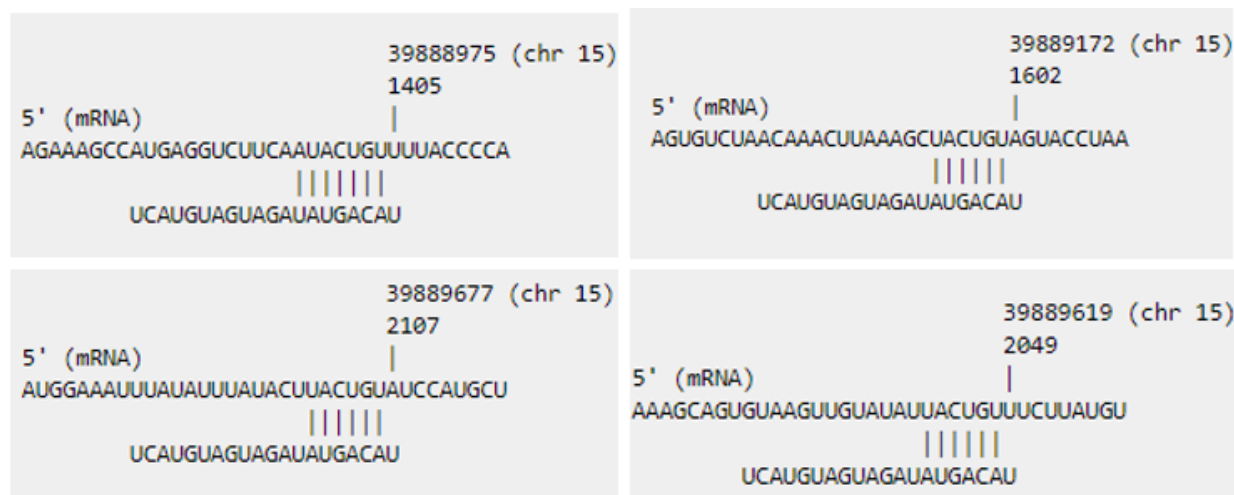
Các vị trí bắt cặp lần lượt được xác định như sau: vị trí 1398-1404 (ATACTGT) có kiểu bắt cặp là 7 mer-m8, vị trí 1596-1602 (TACTGTA) có kiểu bắt cặp là 7 mer-A1, vị trí 2101-2107 (TACTGTA) có kiểu bắt cặp là 7 mer-A1.

Tương tự TargetScanHuman, *THBS1* cũng được công cụ miRDB (<http://mirdb.org/>) dự đoán có 03 vị trí bắt cặp (Hình 4).



Hình 4. Ba vị trí bắt cặp trên vùng 3'UTR của *THBS1* với miR-144-3p

Tuy nhiên, kết quả kiểm tra vùng 3'UTR của *THBS1* bằng miRmap (n.d.) có kết quả khác so với 02 công cụ trên. Ngoài 03 vị trí bắt cặp như trên, thì kết quả kiểm tra này có thêm một vị trí bắt cặp 2043-2048 là kiểu 6 mer (Hình 5).



Hình 5. Bốn vị trí bắt cặp trên vùng 3'UTR của *THBS1* với miR-144-3p

Để kết quả xác nhận vị trí bắt cặp được đảm bảo, vùng trình tự 3'UTR của *THBS1* được kiểm tra vị trí bắt cặp bằng phương pháp thủ công trên Annhyb (Hình 6).



Hình 6. Bốn vị trí bắt cặp trên vùng 3'UTR của *THBS1* với miR-144-3p

Kết quả kiểm tra vùng 3'UTR của *THBS1* cho thấy miR-144-3p có khả năng tương tác với vùng 3'UTR của *THBS1* tại các vị trí “seed”. Kết quả kiểm tra giữa các công cụ có sự tương đồng về vị trí bắt cặp. Tuy nhiên, sự khác nhau về thuật toán của mỗi công cụ nên một số công cụ không trả kết quả đầy đủ các kiểu bắt cặp.

Tổng hợp kết quả của cả 04 công cụ, vị trí bắt cặp của vùng 3'UTR *THBS1* và miR-144-3p được tổng hợp trong bảng sau:

Bảng 1Vị trí bắt cặp của miR-144-3p trên vùng 3'UTR của *THBS1*

Stt	Vị trí bắt cặp trên vùng 3'UTR	Kiểu bắt cặp
1	1398-1404	7 mer-m8
2	1596-1602	7 mer-A1
3	2043-2048	6 mer
4	2101-2107	7 mer-A1

Nguồn: Kết quả tổng hợp từ dữ liệu của nhóm tác giả

3.4. Thảo luận

MiR-144-3p là một phân tử đã được báo cáo là có biểu hiện tăng trong bệnh thoái hóa khớp (L. Le & ctg., 2018). Việc xác định gen đích là một trong những cơ sở cung cấp những hiểu biết về chức năng của phân tử này. Chúng tôi đã kết hợp nhiều công cụ Tin sinh học khác nhau trong việc khảo sát gen đích nhằm giảm thiểu những hạn chế ở các công cụ. Các công cụ này xác định gen đích dựa trên số lượng các vị trí bắt cặp với miR-144-3p. Công cụ TargetScanHuman đã dự đoán các vị trí bắt cặp bằng cách phân tích đặc điểm đoạn trình tự 3'UTR. Các vị trí bắt cặp được chấm điểm theo tính chất bắt cặp bù trừ ở đầu 3' của miR-144-3p và mRNA đích, thành phần AU lân cận vị trí bắt cặp và đánh giá mức độ bảo tồn của vị trí bắt cặp. Đặc biệt, các vị trí 6 mer ở công cụ này luôn luôn được xếp hạng là dạng bảo tồn kém. Công cụ miRDB cũng dự đoán các vị trí bắt cặp dựa trên phân tích đặc điểm trình tự như TargetScanHuman nhưng điểm bổ sung của công cụ này là các gen đích được dự đoán có đính kèm chú thích chức năng. Ở công cụ miRmap, các vị trí bắt cặp được dự đoán dựa trên đặc điểm đoạn trình tự như TargetScanHuman, mức độ bảo tồn của vị trí, các yếu tố nhiệt động lực học khi xảy ra bắt cặp và xác suất xảy ra bắt cặp. Có thể thấy, mỗi công cụ sử dụng mỗi thuật toán khác nhau để dự đoán vị trí bắt cặp. Các vị trí bắt cặp được dự đoán không chỉ đơn thuần là bắt cặp bổ sung với nhau mà còn phải có tương tác đủ mạnh để thực hiện chức năng. Số vị trí bắt cặp có chức năng thể hiện cho độ mạnh của tương tác miR-144-3p lên gen đích đó. Các công cụ dự đoán thường dựa vào thành phần AU lân cận các vị trí bắt cặp để xác định được khả năng vị trí xảy ra bắt cặp (Wen, Parker, Jacobsen, & Krogh, 2011). Ngoài ra, khả năng xảy ra bắt cặp còn được dự đoán bởi năng lượng tự do xảy ra liên kết của mRNA đích với miR-144-3p (Riolo, Cantara, Marzocchi, & Ricci, 2021). Khi năng lượng xảy ra bắt cặp càng thấp cho thấy khả năng liên kết cấu trúc của miR và gen đích càng bền vững (Riolo & ctg., 2021). Kết hợp với tính toán, khả năng vị trí bắt cặp được bảo tồn sẽ giúp loại bỏ các kết quả gen đích dương tính giả (Riolo & ctg., 2021).

Trong thoái hóa khớp, hoạt động của *THBS1* có liên quan đến quá trình tái cấu trúc sụn thông qua con đường truyền tín hiệu TGF- β (Grimaud, Heymann, & R  dini, 2002). Đồng thời, miR-144-3p đã được báo cáo tăng biểu hiện trong thoái hoá khớp (L. Le & ctg., 2018). Tương tác của miR-144-3p gây ức chế biểu hiện của gen *THBS1* có thể có ý nghĩa trong bệnh thoái hóa khớp.

Kết quả khảo sát *in silico* đã xác định *THBS1* là mục tiêu tiềm năng của miR-144-3p do trên vùng 3'UTR của gene này có nhiều vị trí gắn của miR-144-3p cùng với chức năng liên quan đến bệnh thoái hóa khớp. Đây là kết quả đầu tiên chứng minh *THBS1* là gen đích của miR-144-3p

trong thoái hóa khớp. Tuy nhiên, sự tương tác của miR-144-3p lên vùng 3'UTR này có diễn ra trong điều kiện thực tế hay không cần phải chứng minh. Do vậy, cần tiến hành thực nghiệm kiểm chứng sự tương tác này trên tế bào người bệnh thoái hóa khớp.

4. Kết luận và đề nghị

Thông qua quá trình khảo sát *in silico*, *THBS1* là một trong những mục tiêu tiềm năng của miR-*THBS1*-3p trong thoái hóa khớp. Tuy nhiên, những kết quả trên cần được kiểm chứng bằng thực nghiệm.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Bộ Giáo dục và Đào tạo của Việt Nam (Mã số: B2019-MBS-562-10) và trường Đại học Mở Thành phố Hồ Chí Minh trong chuỗi các đề tài nghiên cứu khoa học cấp trường cho Nguyễn Thị Quế Anh, mã số 04.

Tài liệu tham khảo

- Akhtar, N., Rasheed, Z., Ramamurthy, S., Anbazhagan, A. N., Voss, F. R., & Haqqi, T. M. (2010). MicroRNA-27b regulates the expression of matrix metalloproteinase 13 in human osteoarthritis chondrocytes. *Arthritis & Rheumatism*, 62(5), 1361-1371.
- Breedveld, F. C. (2004). Osteoarthritis-the impact of a serious disease. *Rheumatology*, 43(suppl_1), i4-i8.
- Chen, H. O., Zhang, L., Tang, Z. Y., & Gong, Z. M. (2018). MiR-485-5p promotes the development of osteoarthritis by inhibiting cartilage differentiation in BMSCs. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 22(11), 3294-3302.
- Chen, S., Li, P., Li, J., Wang, Y., Du, Y., Chen, X., ... Zhang, G. (2015). MiR-144 inhibits proliferation and induces apoptosis and autophagy in lung cancer cells by targeting TIGAR. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 35(3), 997-1007.
- Cheon, H., Yu, S. J., Yoo, D. H., Chae, I. J., Song, G. G., & Sohn, J. (2002). Increased expression of pro-inflammatory cytokines and metalloproteinase-1 by TGF- β 1 in synovial fibroblasts from rheumatoid arthritis and normal individuals. *Clinical & Experimental Immunology*, 127(3), 547-552.
- Díaz-Prado, S., Cicione, C., Muiños-López, E., Hermida-Gómez, T., Oreiro, N., Fernández-López, C., & Blanco, F. J. (2012). Characterization of microRNA expression profiles in normal and osteoarthritic human chondrocytes. *BMC Musculoskeletal Disorders*, 13(1), 1-14.
- Ensembl Genome Browser. (n.d.). Truy cập ngày 29/09/2021 tại <https://m.ensembl.org/index.htm>
- Gelse, K., Klinger, P., Koch, M., Surmann-Schmitt, C., von der Mark, K., Swoboda, B., ... Gusinde, J. (2011). Thrombospondin-1 prevents excessive ossification in cartilage repair tissue induced by osteogenic protein-1. *Tissue Engineering Part A*, 17(15/16), 2101-2112.
- Grimaud, E., Heymann, D., & Rédini, F. (2002). Recent advances in TGF- β effects on chondrocyte metabolism: Potential therapeutic roles of TGF- β in cartilage disorders. *Cytokine & Growth Factor Reviews*, 13(3), 241-257.

- Hawker, G. A. (2019). Osteoarthritis is a serious disease. *Clinical and Experimental Rheumatology*, 37(Suppl 120), 3-6.
- Hirota, Y., Tsukazaki, T., Yonekura, A., Miyazaki, Y., Osaki, M., Shindo, H., & Yamashita, S. (2000). Activation of specific MEK-ERK cascade is necessary for TGF β signaling and crosstalk with PKA and PKC pathways in cultured rat articular chondrocytes. *Osteoarthritis and Cartilage*, 8(4), 241-247.
- Hsieh, J. L., Shen, P. C., Shiau, A. L., Jou, I. M., Lee, C. H., Wang, C. R., ... Wu, C. L. (2010). Intraarticular gene transfer of thrombospondin-1 suppresses the disease progression of experimental osteoarthritis. *Journal of Orthopaedic Research*, 28(10), 1300-1306.
- Hu, S., Zhao, X., Mao, G., Zhang, Z., Wen, X., Zhang, C., ... Zhang, Z. (2019). MicroRNA-455-3p promotes TGF- β signaling and inhibits osteoarthritis development by directly targeting PAK2. *Experimental & Molecular Medicine*, 51(10), 1-13.
- Huang, C., Geng, J., Wei, X., Zhang, R., & Jiang, S. (2016). MiR-144-3p regulates osteogenic differentiation and proliferation of murine mesenchymal stem cells by specifically targeting Smad4. *FEBS Letters*, 590(6), 795-807.
- Iliopoulos, D., Malizos, K. N., Oikonomou, P., & Tsezou, A. (2008). Integrative microRNA and proteomic approaches identify novel osteoarthritis genes and their collaborative metabolic and inflammatory networks. *PloS One*, 3(11), Article e3740.
- Isenberg, J. S., & Roberts, D. D. (2020). THBS1 (thrombospondin-1). *Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology*, 24(8), 291-299.
- James, S. L., Abate, D., Abate, K. H., Abay, S. M., Abbafati, C., Abbasi, N., ... Briggs, A. M. (2018). Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 354 diseases and injuries for 195 countries and territories, 1990-2017: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *The Lancet*, 392(10159), 1789-1858.
- Jones, S. W., Watkins, G., Le Good, N., Roberts, S., Murphy, C. L., Brockbank, S. M. V., ... Newham, P. (2009). The identification of differentially expressed microRNA in osteoarthritic tissue that modulate the production of TNF- α and MMP13. *Osteoarthritis and Cartilage*, 17(4), 464-472.
- Kloppenborg, M., & Berenbaum, F. (2020). Osteoarthritis year in review 2019: Epidemiology and therapy. *Osteoarthritis and Cartilage*, 28(3), 242-248.
- Le, L. T., Swingle, T. E., Crowe, N., Vincent, T. L., Barter, M. J., Donell, S. T., ... Clark, I. M. (2016). The microRNA-29 family in cartilage homeostasis and osteoarthritis. *Journal of Molecular Medicine*, 94(5), 583-596.
- Le, L., Ho, P., & Clark, I. (2018). The role of microRNA 144 in osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage*, 26, S161.
- Li, B., Zhang, S., Shen, H., & Li, C. (2017). MicroRNA-144-3p suppresses gastric cancer progression by inhibiting epithelial-to-mesenchymal transition through targeting PBX3. *Biochemical And Biophysical Research Communications*, 484(2), 241-247.
- Li, N., Liu, L., Liu, Y., Luo, S., Song, Y., & Fang, B. (2020). miR-144-3p suppresses osteogenic differentiation of BMSCs from patients with aplastic anemia through repression of TET2. *Molecular Therapy-Nucleic Acids*, 19, 619-626.

- Loeser, R. F., Goldring, S. R., Scanzello, C. R., & Goldring, M. B. (2012). Osteoarthritis: A disease of the joint as an organ. *Arthritis and Rheumatism*, 64(6), 1697-1707.
- Lohmander, L. S., & Roos, E. M. (2007). Clinical update: Treating osteoarthritis. *The Lancet*, 370(9605), 2082-2084.
- Lutz, W., Sanderson, W., & Scherbov, S. (2008). The coming acceleration of global population ageing. *Nature*, 451(7179), 716-719.
- Maumus, M., Manferdini, C., Toupet, K., Chuchana, P., Casteilla, L., Gachet, M., ... Noël, D. (2017). Thrombospondin-1 partly mediates the cartilage protective effect of adipose-derived mesenchymal stem cells in osteoarthritis. *Frontiers in Immunology*, 8, Article 1638.
- MicroRNA Target Prediction Database – miRDB. (n.d.). Truy cập ngày 29/09/2021 tại <http://mirdb.org>
- miRBase (n.d.). Truy cập ngày 29/09/2021 tại <http://www.mirbase.org>
- miRmap (n.d.). Truy cập ngày 29/09/2021 tại <https://mirmap.ezlab.org>
- Miyaki, S., Sato, T., Inoue, A., Otsuki, S., Ito, Y., Yokoyama, S., ... Asahara, H. (2010). MicroRNA-140 plays dual roles in both cartilage development and homeostasis. *Genes & Development*, 24(11), 1173-1185.
- Mizuno, Y., Tokuzawa, Y., Ninomiya, Y., Yagi, K., Yatsuka-Kanesaki, Y., Suda, T., ... Okazaki, Y. (2009). miR-210 promotes osteoblastic differentiation through inhibition of AcvR1b. *FEBS Letters*, 583(13), 2263-2268.
- Murphy-Ullrich, J. E., & Poczatek, M. (2000). Activation of latent TGF- β by thrombospondin-1: Mechanisms and physiology. *Cytokine & Growth Factor Reviews*, 11(1/2), 59-69.
- Murphy-Ullrich, J. E., & Suto, M. J. (2018). Thrombospondin-1 regulation of latent TGF- β activation: A therapeutic target for fibrotic disease. *Matrix Biology*, 68, 28-43.
- NCBI. (n.d.). Truy cập ngày 29/09/2021 tại <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene>
- Nugent, M. (2016). MicroRNAs: Exploring new horizons in osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage*, 24(4), 573-580.
- Pohlers, D., Beyer, A., Koczan, D., Wilhelm, T., Thiesen, H. J., & Kinne, R. W. (2007). Constitutive upregulation of the transforming growth factor- β pathway in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts. *Arthritis Research & Therapy*, 9(3), 1-11.
- Posey, K. L., Hankenson, K., Veerisetty, A. C., Bornstein, P., Lawler, J., & Hecht, J. T. (2008). Skeletal abnormalities in mice lacking extracellular matrix proteins, thrombospondin-1, thrombospondin-3, thrombospondin-5, and type IX collagen. *The American Journal of Pathology*, 172(6), 1664-1674.
- Pubmed. (n.d.) Truy cập ngày 29/09/2021 tại <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>
- Rasheed, Z., Al-Shobaili, H. A., Rasheed, N., Al Salloom, A. A., Al-Shaya, O., Mahmood, A., ... Mehana, E. S. E. (2016). Integrated study of globally expressed microRNAs in IL-1 β -stimulated human osteoarthritis chondrocytes and osteoarthritis relevant genes: A microarray and bioinformatics analysis. *Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids*, 35(7), 335-355.

- Riolo, G., Cantara, S., Marzocchi, C., & Ricci, C. (2021). miRNA targets: From prediction tools to experimental validation. *Methods and Protocols*, 4(1), Article 1.
- Song, J., Kang, Y. H., Yoon, S., Chun, C. H., & Jin, E. J. (2017). HIF-1 α : CRAT: miR-144-3p axis dysregulation promotes osteoarthritis chondrocyte apoptosis and VLCFA accumulation. *Oncotarget*, 8(41), 69351-69361.
- Sun, Z., Wu, F., Yang, Y., Liu, F., Mo, F., Chen, J., ... Zhang, B. (2019). MiR-144-3p inhibits BMSC proliferation and osteogenic differentiation via targeting FZD4 in steroid-associated osteonecrosis. *Current Pharmaceutical Design*, 25(45), 4806-4812.
- TargetScanHuman. (n.d.). Truy cập ngày 29/09/2021 tại http://www.targetscan.org/vert_72
- United Nations, Department of Economic and Social Affairs, & Population Division. (2019). *World population prospects 2019* (Online Ed.). Truy cập ngày 29/09/2021 tại <https://population.un.org/wpp/>
- Wen, J., Parker, B. J., Jacobsen, A., & Krogh, A. (2011). MicroRNA transfection and AGO-bound CLIP-seq data sets reveal distinct determinants of miRNA action. *RNA*, 17(5), 820-834.
- Zhang, M., Lygrisse, K., & Wang, J. (2017). Role of MicroRNA in osteoarthritis. *Journal of Arthritis*, 6(2), Article 239.

