

## RUNX1对牙髓干细胞的增殖及成骨、成脂分化的影响\*

崔钰嘉, 郭黛墨, 孙建勋, 杨月翼, 谢静, 张德茂<sup>△</sup>

口腔疾病研究国家重点实验室 国家口腔疾病临床医学研究中心 四川大学华西口腔医院(成都 610041)

**【摘要】目的** 研究Runt相关转录因子1(Runt-related transcription factor 1, RUNX1)对牙髓干细胞(dental pulp stem cell, DPSC)增殖、成骨向分化、成脂向分化的作用。**方法** 转染携带目的基因RUNX1和绿色荧光蛋白(GFP)的慢病毒载体至DPSC 48 h后,通过荧光标记GFP和Western blot确定转染效率。过表达 RUNX1后, CCK-8法和克隆形成实验检测DPSC增殖能力和克隆形成能力,流式细胞术检测DPSC细胞周期。转染沉默 RUNX1的siRNA至DPSC。矿化诱导后,通过碱性磷酸酶活性检测和茜素红染色,观察过表达/沉默RUNX1对DPSC成骨向分化的影响;成脂诱导后,通过油红O染色,观察过表达/沉默RUNX1对DPSC成脂向分化的影响。**结果** 转染慢病毒后 RUNX1蛋白在DPSC中过表达,荧光检测示慢病毒转染成功,稳定表达GFP蛋白的细胞均在70%以上。过表达RUNX1后DPSC细胞增殖速度增快、克隆形成能力增强、S期细胞比例增加( $P<0.05$ )。RUNX1过表达后DPSC的碱性磷酸酶活性和矿化结节形成能力增强,脂滴减少( $P<0.05$ ); RUNX1敲低后DPSC的碱性磷酸酶活性和矿化结节形成能力减弱,脂滴增加( $P<0.05$ )。**结论** RUNX1促进DPSC增殖和成骨向分化,抑制DPSC成脂向分化。

**【关键词】** 成骨分化 成脂分化 Runt相关转录因子1 牙髓干细胞 增殖

**The Roles of RUNX1 in the Proliferation and Osteogenic and Adipogenic Differentiation of Dental Pulp Stem Cells**  
CUI Yu-jia, GUO Dai-mo, SUN Jian-xun, YANG Yue-yi, XIE Jing, ZHANG De-mao<sup>△</sup>. State Key Laboratory of Oral Diseases, National Clinical Research Center for Oral Diseases, West China Hospital of Stomatology, Sichuan University, Chengdu 610041, China

<sup>△</sup> Corresponding author, E-mail: demao.zhang666@foxmail.com

**【Abstract】 Objective** To investigate the influence of Runt-related transcription factor 1 (RUNX1) on the proliferation, osteogenic differentiation and adipogenic differentiation of dental pulp stem cells (DPSC) *in vitro*. **Methods** DPSCs were transfected through lentiviral vector carrying the target gene RUNX1 and green fluorescent protein (GFP). After 48 h, transfection efficiency was determined with the fluorescent marking of GFP and Western blot. The effect of the overexpression of RUNX1 on DPSC proliferation and colony formation was determined with CCK-8 and colony formation assay; cell cycle of DPSC was detected by flow cytometry. RUNX1 siRNA was transfected into the DPSCs. After mineralized induction, the effect of RUNX1 overexpression/silencing on the osteogenic differentiation of DPSC was tested by alkaline phosphatase (ALP) staining and alizarin red staining. After adipogenic induction, oil red O staining was done in order to observe the effect of overexpression/silencing of RUNX1 on the adipogenic differentiation of DPSC. **Results** RUNX1 protein was overexpressed in DPSC after lentiviral transfection. Fluorescent test showed successful transfection of lentiviral transfection and over 70% of the cells showed stable expression of GFP protein. The proliferation and colony-formation efficiency of DPSC was enhanced significantly and the proportion of DPSCs in the S phase was significantly increased in the RUNX1-overexpressed group ( $P<0.05$ ). ALP activity and mineralized nodule formation ability increased, while lipid droplets decreased in the RUNX1-overexpressed group ( $P<0.05$ ). ALP activity and mineralized nodule formation ability decreased, while lipid droplets increased in the RUNX1 knockdown group ( $P<0.05$ ). **Conclusion** RUNX1 promotes DPSC proliferation and osteogenic differentiation while it inhibits DPSC adipogenic differentiation.

**【Key words】** Osteogenic differentiation Adipogenic differentiation Runt-related transcription factor 1  
Dental pulp stem cell Proliferation

近年来,干细胞在组织工程和再生医学的应用研究越来越受到重视,而牙齿来源的干细胞由于来源丰富、采集方便、免疫原性低等优点,一直是组织工程和细胞治疗良好的种子细胞<sup>[1-2]</sup>。2000年,GRONTHOS等<sup>[3]</sup>首次体外

分离出牙髓干细胞(dental pulp stem cell, DPSC),发现其具有形成细胞克隆的能力并可以被诱导成成牙本质样结构。此后,研究发现DPSC具有多项分化潜能,不仅可以用于牙髓再生、促进修复性牙本质形成,而且可以分化为骨、软骨、肌肉、角膜、神经、肝等多种组织和功能细胞<sup>[4]</sup>。

Runt相关转录因子1(Runt-related transcription factor 1, RUNX1)又称为AML1、PEBP2αB、CBFa2,其与RUNX

\* 国家自然科学基金(No. 81600840, No. 81771047, No. 82001062)和四川大学华西口腔医院探索与研发项目(No. RD-02-201912)资助

<sup>△</sup> 通信作者, E-mail: demao.zhang666@foxmail.com

家族的另两个成员RUNX2、RUNX3具有相似的基因和蛋白结构<sup>[5]</sup>。RUNX1是重要的造血相关转录因子,在正常造血细胞的形成和增殖中发挥重要作用,其突变和易位会造成多种血液疾病如骨髓增生异常综合征、急性髓细胞白血病<sup>[6]</sup>。RUNX1除了在调节血细胞生成方面的作用,近期研究显示其在骨骼系统也发挥重要作用。RUNX1通过提高软骨基质产生和抑制软骨肥大分化维持关节软骨稳定<sup>[7]</sup>。此外,RUNX1能促进骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BMMSC)的成骨向分化,抑制成脂向分化<sup>[8]</sup>。目前,尚没有研究显示RUNX1对DPSC的分化作用。因此,本研究通过在DPSC中过表达和敲低RUNX1,观察其增殖、成骨向分化、成脂向分化的变化,为DPSC的组织工程应用提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要试剂及仪器

胎牛血清、 $\alpha$ -MEM培养基、I型胶原酶购自美国Gibco公司;青链霉素、含EDTA的胰蛋白、 $\beta$ -甘油磷酸钠、吡啶美辛、3-异丁基-1-甲基黄嘌呤(IBMx)、胰岛素购自美国Sigma公司;地塞米松、抗坏血酸购自中国阿拉丁公司;慢病毒、小分子干扰RNA(siRNA)由上海恒恒生物公司设计及提供;Lipofectamine RNAiMAX购自美国Invitrogen公司;结晶紫染液、茜素红染液、油红O染色液购自北京索莱宝公司,细胞周期检测试剂盒购自江苏凯基生物公司;碱性磷酸酶(ALP)试剂盒、RIPA裂解液(强)、SDS-PAGE凝胶配置试剂盒购自上海碧云天公司;一抗RUNX1购自英国Abcam公司;一抗 $\beta$ -actin、二抗购自成都正能公司。激光共聚焦显微镜、体视显微镜、倒置显微镜购自日本Olympus公司;流式细胞仪购自美国Millipore公司;酶标仪购自美国Thermo Fisher公司;凝胶成像仪购自英国Bio-rad公司。

### 1.2 DPSC的培养、矿化诱导及成脂诱导

本研究经四川大学华西口腔医院医学伦理委员会批准(批准号WCHSIRB-D-2020-048)。收集18~22岁患者拔除的完整、无龋病的第三磨牙,用含10%青链霉素的磷酸盐缓冲液清洗牙齿,无菌条件下劈开牙冠,取出牙髓组织,剪成1 mm $\times$ 1 mm的碎块,加入0.3%的I型胶原酶,置于37 $^{\circ}$ C水浴锅内,轻轻吹打,待无肉眼可见组织块,800 r/min离心5 min,用含10%胎牛血清、1%青链霉素的 $\alpha$ -MEM培养液重悬细胞团块,置于37 $^{\circ}$ C、体积分数为5%CO<sub>2</sub>培养箱中常规培养。当细胞铺满瓶底达80%以上时,胰蛋白酶消化,按1:2进行传代培养。

矿化诱导液为含10%的胎牛血清、1%青链霉素、50 ng/mL抗坏血酸、10 mmol/mL  $\beta$ -甘油磷酸钠和

4 ng/mL地塞米松的 $\alpha$ -MEM培养基。待细胞融合达到70%左右时,加入矿化诱导液,每3 d换液,培养至第4天进行ALP染色(详见1.8),第14天时进行茜素红染色(详见1.9)。

成脂诱导A液为 $\alpha$ -MEM培养基、10%胎牛血清、1%双抗、10  $\mu$ g/mL胰岛素、1  $\mu$ mol/L吡啶美辛、0.5 mmol/L IBMx, B液为 $\alpha$ -MEM培养基、10%胎牛血清、1%双抗、10  $\mu$ g/mL胰岛素。待细胞完全长满后,加入成脂诱导A液,3 d后换B液,1 d后换A液,3 d后换B液,1 d后进行成脂染色(详见1.10)。

### 1.3 慢病毒转染

采用慢病毒包装系统构建携带目的基因RUNX1和绿色荧光蛋白(green fluorescent protein, GFP)的慢病毒载体,荧光倒置显微镜下筛选出最适感染复数200,将P2代DPSC接种在6 cm皿中进行转染,48 h后通过荧光标记GFP和Western blot来确定转染效率,然后将细胞接种到24孔板或96孔板,进行后续增殖及分化检测。未转染慢病毒为DPSC组,转染仅携带GFP的慢病毒为GFP组,转染携带目的基因RUNX1和GFP的慢病毒为RUNX1组。

### 1.4 siRNA转染

将P3代DPSC接种到24孔板中,次日细胞生长融合达50%时进行转染,分别用50  $\mu$ L Opti-MEM稀释2.5  $\mu$ L siRNA(终浓度为100 nmol/L)和1  $\mu$ L Lipofectamine RNAiMAX,静置5 min后混匀,静置20 min后加入24孔细胞板,转染6 h后进行换液,48 h后通过Western blot进行siRNA沉默效果检测,从4个siRNA(siRNA-1: 5'-CAGCCTCTCTGCAGAACTT-3', siRNA-2: 5'-CAAACCGAGGUCGUUGAAUCUCGC-3', siRNA-3: 5'-CCUCGAAGACAUCGGCAGAAA-3', siRNA-4: 5'-GCAGAACUGAGAAAUGCUATT-3')中筛选出敲除效率最高的用于后续实验,转染12 h后进行矿化或成脂诱导。未转染siRNA为DPSC组,转染阴性对照siRNA(siNC: 5'-TTCTCCGAACGTGTACACGT-3')为siNC组,转染沉默RUNX1的siRNA为siRUNX1组。

### 1.5 CCK-8法检测细胞增殖

将慢病毒转染后的DPSC以 $1\times 10^3$ /孔的密度接种于96孔板,待细胞贴壁后,常规培养1、2、3、4、5 d,分别于各时间点,加入CCK-8试剂后继续培养1 h,测定450 nm吸光度并绘制生长曲线。

### 1.6 DPSC克隆形成能力检测

慢病毒转染后的DPSC以 $1\times 10^2$ 个/皿的密度接种到6 cm培养皿中,轻轻晃荡,使细胞均匀分布在培养皿中,常规换液,待单个细胞增长到50个左右时,用结晶紫对细

胞进行染色。

### 1.7 流式细胞术检测细胞周期

取慢病毒转染后48 h细胞,胰蛋白酶消化,1 000 r/min离心5 min,无菌PBS重悬细胞,1 500 r/min离心5 min,加入预冷的体积分数为70%乙醇0.5 mL重悬细胞,4 ℃固定2 h,2 000 r/min离心5 min,用PBS洗去乙醇;每管加入500  $\mu$ L PI/RNase A染色液,室温避光孵育30 min,流式细胞仪检测细胞周期。

### 1.8 ALP活性测定早期矿化能力

按ALP试剂盒说明书操作。体积分数为4%多聚甲醛固定慢病毒转染或siRNA转染的细胞10 min, PBS洗3次后,加入BCIP/NBT染色工作液,37 ℃避光孵育30 min,蒸馏水洗2次后拍照。通过Image-Pro Plus统计各组阳性表达的面积,以各组与空白对照组的比值作为ALP活性的水平。

### 1.9 茜素红染色检测晚期矿化能力

慢病毒转染或siRNA转染的细胞用体积分数为4%多聚甲醛溶液固定10 min后, PBS洗3次,风干,茜素红染色10 min,蒸馏水清洗,显微镜观察、照相。通过Image-Pro Plus统计各组阳性表达的面积,与空白对照组的比值作为矿化结节的表达水平。

### 1.10 油红O染色检测成脂能力

体积分数为4%多聚甲醛固定慢病毒转染或siRNA转

染的细胞10 min,60%异丙醇浸洗1次,将饱和油红O染液与超纯水按照3:2稀释,配制成油红O工作液,室温染色15 min,用60%异丙醇分化,蒸馏水清洗后拍照。通过随机3个400 $\times$ 视野对脂滴进行计数,取每个视野的平均值。

### 1.11 Western blot检测RUNX1蛋白的表达

细胞中加入RIPA裂解液,提取细胞总蛋白,BCA法测定蛋白浓度,配置SDS-PAGE凝胶,电泳,转移蛋白至PVDF膜,5%的脱脂牛奶封闭1 h,4 ℃条件下一抗孵育过夜,TBST洗涤,室温条件下二抗孵育2 h,TBST洗涤,将PVDF膜浸入ECL发光液,显影曝光。用Image-Pro Plus对蛋白条带进行定量, $\beta$ -actin作为内参蛋白,以目的蛋白与内参蛋白光密度值的比值作为目的蛋白的相对表达量。

### 1.12 统计学方法

以上实验均重复3次,每次重复实验均设置3组平行对照。多组间比较采用单因素方差分析(ANOVA),组间两两比较采用Tukey法(Tukey's HSD), $\alpha=0.05$ 。

## 2 结果

### 2.1 RUNX1在DPSC中过表达和敲低效率

通过转染慢病毒来使RUNX1在DPSC中过表达,通过荧光检测慢病毒转染成功,稳定表达GFP蛋白的细胞均在70%以上(图1A)。用Western blot对RUNX1蛋白表达进行检测,与DPSC组和GFP组相比,转染了RUNX1慢病毒

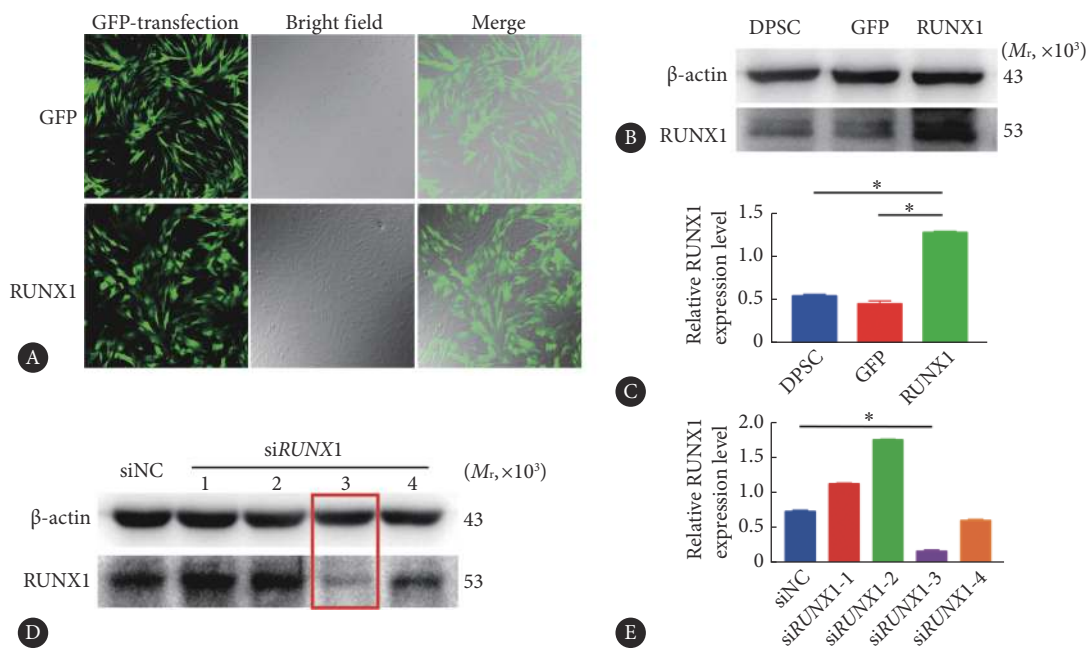


图 1 慢病毒和siRNA转染DPSC后RUNX1的表达

Fig 1 The expression of RUNX1 protein after transfection of DPSC with overexpressing lentivirus and siRNA

A: Fluorescence microscope images of DPSC after transfection with overexpressing lentivirus ( $\times 100$ ). The effect of RUNX1 transduction is the ratio of DPSC in green to DPSC in bright field; B, C: Western blot analysis and protein quantification showing up-regulation of RUNX1 protein in DPSC after transfection with overexpressing lentivirus; D, E: Western blot analysis and protein quantification showing down-regulation of RUNX1 protein in DPSC after transfection with siRNA. \* $P < 0.05$ ,  $n = 3$ .

的DPSC的RUNX1蛋白表达水平增高( $P < 0.05$ )(图1B、1C)。siRNA处理细胞48 h后对RUNX1蛋白表达进行检测,发现第3个siRNA可以降低RUNX1蛋白表达( $P < 0.05$ )(图1D、1E),故后续实验选用第3个siRNA对RUNX1进行敲低。

## 2.2 过表达RUNX1促进DPSC的增殖

CCK8结果显示在第1天时,RUNX1组、DPSC组和GFP组吸光度值一致,反映此时3组细胞数量一致,而在第5天时,RUNX1组的吸光度值高于DPSC组和GFP组

( $P < 0.05$ ),此时RUNX1组细胞数量高于DPSC组和GFP组(图2A),说明RUNX1过表达后明显增加了DPSC的增殖速度。同时,克隆形成实验中,RUNX1组形成的集落更大(图2B),说明RUNX1过表达后明显增加了DPSC的克隆形成能力。此外,用流式细胞术检测细胞周期,发现RUNX1过表达后,相较于DPSC组和GFP组,处于S期的细胞比例增加( $P < 0.05$ ),处于 $G_0/G_1$ 期的细胞比例减少( $P < 0.05$ )(图2C、2D)。

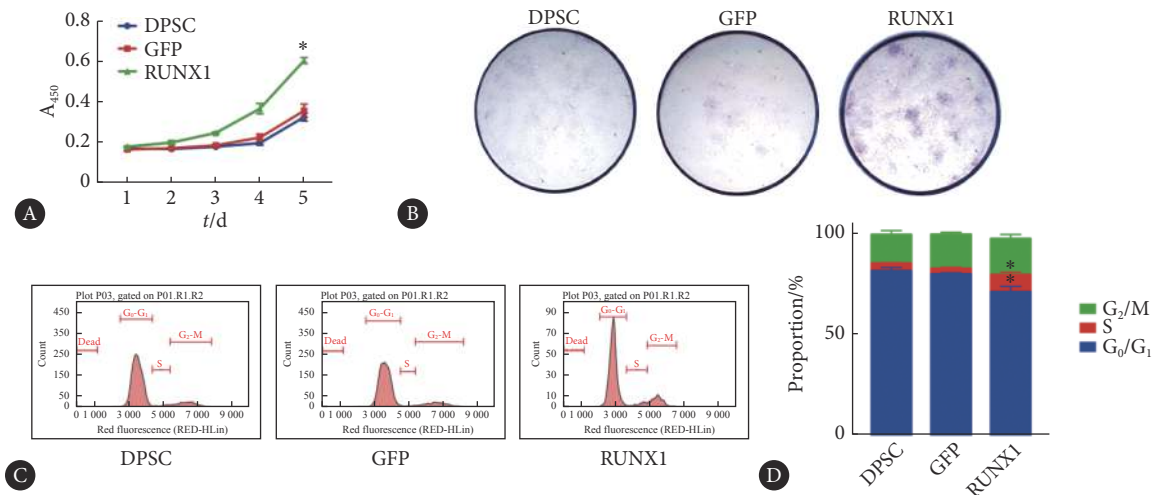


图2 过表达RUNX1对DPSC增殖的影响

Fig 2 The effect of RUNX1 overexpression on proliferation of DPSC

A: Growth curve of DPSCs ( $n=5$ ); B: Colony formation assay; C: Cell cycle of DPSC detected by flow cytometry; D: Quantitative analysis of cell cycle distributions in C ( $n=3$ ). \* $P < 0.05$ , vs. DPSC and GFP.

## 2.3 过表达RUNX1促进成骨分化, 减少成脂分化

ALP染色结果显示RUNX1组ALP活性相较于GFP组和DPSC组均增加( $P < 0.05$ )(图3A、3B),说明RUNX1过表达后DPSC早期矿化能力增强。茜素红结果显示RUNX1组矿化结节相较于GFP组和DPSC组增加( $P < 0.05$ )(图3C、3D),说明RUNX1过表达后DPSC晚期矿化能力增强。而油红O染色结果显示RUNX1组脂滴数量相较于GFP组和DPSC组减少( $P < 0.05$ )(图3E、3F),说明RUNX1过表达后DPSC成脂能力减弱。

## 2.4 敲低RUNX1降低成骨分化, 增加成脂分化

ALP染色结果显示siRUNX1组ALP活性相较于siNC组和DPSC组减少( $P < 0.05$ )(图4A、4B),说明RUNX1敲低后DPSC早期矿化能力减弱。茜素红结果显示siRUNX1组矿化结节相较于siNC组和DPSC组减少( $P < 0.05$ )(图4C、4D),说明RUNX1敲低后DPSC晚期矿化能力减弱。而油红O染色结果显示siRUNX1组脂滴数量相较于siNC组和DPSC组增加( $P < 0.05$ )(图4E、4F),说明RUNX1敲低后DPSC成脂能力增强。

## 3 讨论

哺乳动物Runx转录因子包含RUNX1、RUNX2、RUNX3,三者遗传结构非常相似,它们的基因均包含两个可供选择的启动子,蛋白均有高度保守的Runt同源域<sup>[9]</sup>。因此,有研究显示,在特定情况下,RUNX蛋白在某些情况下存在功能交叉<sup>[5]</sup>。RUNX2已经被证实是骨骼发育的重要转录因子<sup>[10]</sup>。有研究显示,RUNX1在胸骨发育中与RUNX2共同调节软骨分化<sup>[11]</sup>。RUNX1在软骨细胞向成骨细胞系定型中发挥作用,并能促进骨形成<sup>[12]</sup>。但在DPSC中,未有研究显示RUNX1是否可以调节其成骨向分化。

自我更新是干细胞的重要特性。本研究显示RUNX1可以加快DPSC细胞增殖速度,增强克隆形成能力,并增加S期细胞比例。在其他干细胞中,RUNX1也参与了细胞的增殖。研究显示,RUNX1可以促进前列腺和骨髓来源的间充质干细胞增殖,RUNX1敲低后间充质干细胞的S期细胞比例减少,cyclin A和B基因表达减少<sup>[13]</sup>。RUNX1的缺失会损害毛囊干细胞的自我更新并延迟进入生长期<sup>[14]</sup>,

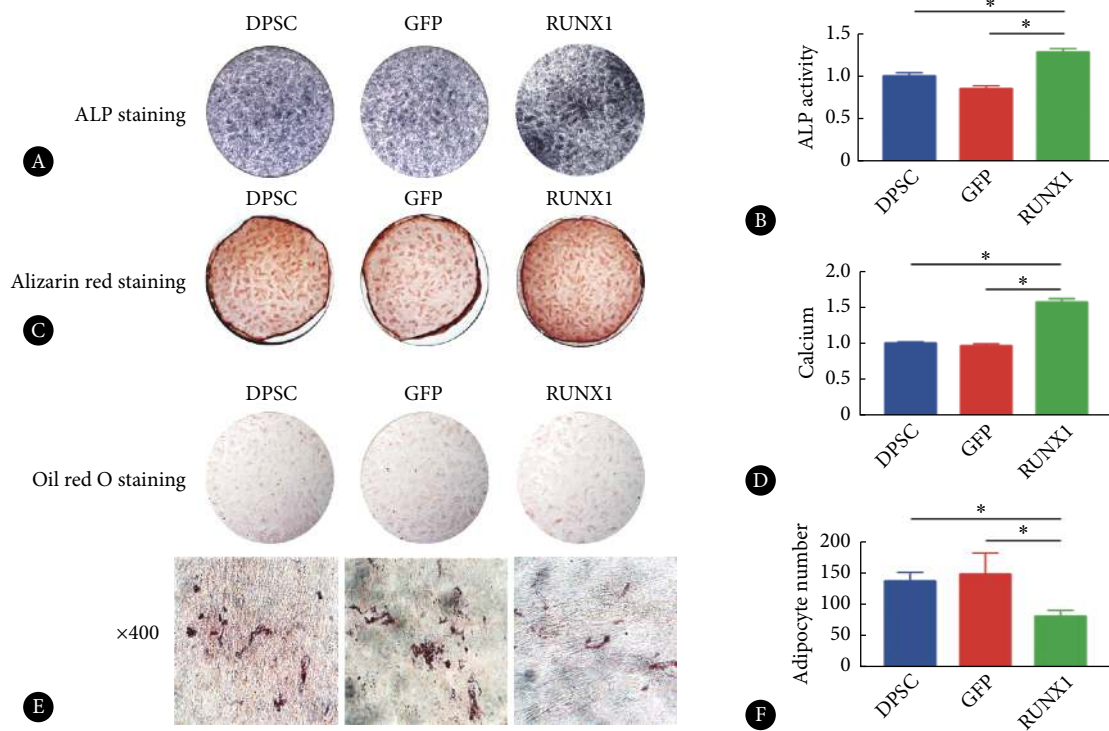


图 3 *RUNX1*在DPSC中过表达后的矿化和成脂表型

Fig 3 The phenotype of osteogenic differentiation and adipogenic differentiation after *RUNX1* overexpression in DPSC

A, B: ALP staining and quantitative analysis showing enhanced osteogenesis in DPSC by over-expressed *RUNX1*; C, D: Alizarin staining and quantitative analysis showing the enhanced mineralization capacity in DPSC by over-expressed *RUNX1*; E, F: Oil red O staining and quantitative analysis showing weakened adipogenesis in DPSC by over-expressed *RUNX1* ( $\times 400$ ).  $*P < 0.05$ ,  $n = 3$ .

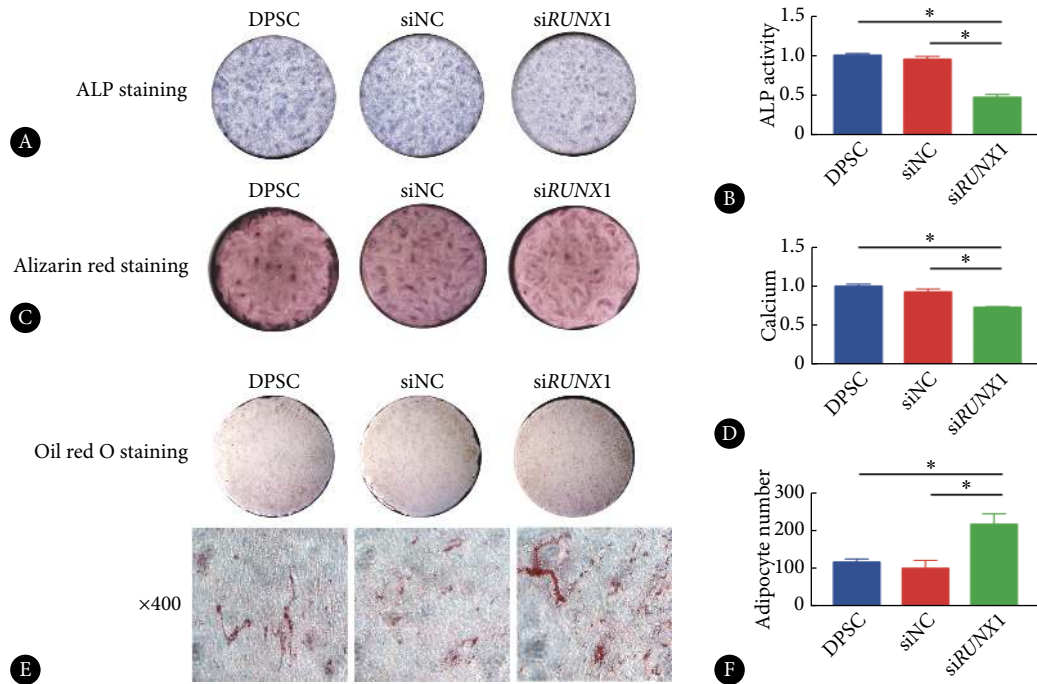


图 4 *RUNX1*在DPSC中敲低后的矿化和成脂表型

Fig 4 The phenotype of osteogenic differentiation and adipogenic differentiation after *RUNX1* knockdown in DPSC

A, B: ALP staining and quantitative analysis showing weakened osteogenesis in DPSC by knocking down *RUNX1*; C, D: Alizarin staining and quantitative analysis showing the weakened mineralization capacity in DPSC by knocking down *RUNX1*; E, F: Oil red O staining and quantitative analysis showing enhanced adipogenesis in DPSC by knocking down *RUNX1* ( $\times 400$ ).  $*P < 0.05$ ,  $n = 3$ .

通过抑制细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂p21、p27、p57和p15的转录来调节毛囊干细胞增殖<sup>[15]</sup>。

间充质干细胞具有多向分化潜能,即可以向成骨向分化,也可以向成脂向分化,而在机体内BMMSC成骨分化和成脂分化相互制约,存在平衡关系<sup>[16]</sup>。介导BMMSC命运转换的因素不仅对骨骼系统有重要影响,而且在基于干细胞的组织工程和再生医学中具有临床意义<sup>[17]</sup>。转录因子是BMMSC的成骨成脂分化平衡分化调控的重要因素,如今已报道了多种转录因子,包括RUNX2、过氧化物酶体增殖物激活受体(peroxisome proliferator activated receptor, PPAR) $\gamma$ 和远中缺失同源盒基因5(distal-less homeobox genes 5, Dlx5)等影响间充质干细胞的分化调控,但其他转录因子也可能参与该过程<sup>[8]</sup>,因此本文研究了RUNX1在DPSC的成脂成骨向分化命运转换中的作用。DPSC和BMMSC由相似的因子调控,具有共同的蛋白表达谱,都具有成骨分化和成脂分化的能力<sup>[18-19]</sup>。在BMMSC中,敲除RUNX1后,成骨能力减低,成脂能力增加<sup>[8]</sup>。与BMMSC相似,本研究显示RUNX1过表达后成骨能力增加,成脂能力减低,而敲低RUNX1后成骨能力减低,成脂能力增加。此外,在间充质干细胞系C3H10T1/2中,RUNX1可以促进BMP9诱导的成骨分化<sup>[20]</sup>。在小鼠颅骨细胞中过表达RUNX1, RUNX2、锌指结构转录因子(osterix, Osx)、I型胶原 $\alpha$ 1(collagen type I alpha1, Col1a1)等基因表达增加,而CCAAT增强子结合蛋白 $\alpha$ (CCAAT enhancer binding protein  $\alpha$ , C/ebpa)和Pparg成脂基因表达下调<sup>[21]</sup>。有研究显示RUNX1的这种促进成骨以及抑制成脂的作用可能与Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路、骨形态发生蛋白(bone morphogenetic protein, BMP)信号通路以及转化生长因子 $\beta$ (transforming growth factor  $\beta$ , TGF $\beta$ )信号通路有关。RUNX1通过经典BMP信号通路上调BMP7/渐变性淋巴瘤激酶(anaplastic lymphoma kinase, Alk)3/Smad1/5/8/RUNX2/转录激活子(activating transcription factor, ATF)4信号通路和通过非经典BMP信号通路上调BMP7/Alk3/细胞外调节蛋白激酶(extracellular regulated protein kinases, ERK)信号通路来上调骨形成并维持骨稳态,同时RUNX1通过增强Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路来抑制成脂基因表达,介导细胞命运调控,并且在RUNX1敲除的小鼠中可以看到TGF $\beta$ 信号通路表达下调<sup>[21]</sup>。在小鼠MEFs细胞系中,RUNX1可以直接影响Smad1/5/8磷酸化<sup>[20]</sup>。在BMMSC中,敲除RUNX1下调 $\beta$ -catenin基因和蛋白的表达<sup>[8]</sup>。此外,RUNX1还可以通过直接结合到RUNX2和骨钙素(osteocalcin, OCN)的启动子上促进成骨<sup>[22]</sup>。然而RUNX1对DPSC作用的具体机制

仍有待进一步研究。

DPSC具有自我更新和多向分化潜能,是组织工程重要的种子细胞<sup>[23]</sup>。本研究发现RUNX1可以促进DPSC的增殖和成骨向分化,抑制成脂向分化,提示RUNX1在DPSC的自我更新及成骨向、成脂向分化中发挥重要作用,不仅为DPSC自我更新和多向分化的机制提供理论依据,而且为DPSC用于特定的组织工程应用提供新思路。

\* \* \*

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

### 参 考 文 献

- [1] 马子洋, 郭晓霞. 骨髓干细胞在再生医学中的应用研究与进展. *中国组织工程研究*, 2016, 20(19): 2872-2878.
- [2] ZHANG W, YELICK P C. Tooth repair and regeneration: potential of dental stem cells. *Trends Mol Med*, 2021: S1471-4914(21)00049-6 [2021-03-30]. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2021.02.005>.
- [3] GRONTHOS S, MANKANI M, BRAHIM J, et al. Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) *in vitro* and *in vivo*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2000, 97(25): 13625-13630.
- [4] 葛芳, 杜立群. 骨髓干细胞多向分化潜能的研究及应用进展. *生物工程医学杂志*, 2019, 36(1): 172-176.
- [5] MEVEL R, DRAPER J E, LIE-A-LING M, et al. RUNX transcription factors: orchestrators of development. *Development*, 2019, 146(17): dev148296.
- [6] HSU J, HUANG H T, LEE C T, et al. CHD7 and Runx1 interaction provides a braking mechanism for hematopoietic differentiation. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2020, 117(38): 23626-23635.
- [7] YANO F, OHBA S, MURAHASHI Y, et al. Runx1 contributes to articular cartilage maintenance by enhancement of cartilage matrix production and suppression of hypertrophic differentiation. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 7666.
- [8] LUO Y, ZHANG Y, MIAO G, et al. Runx1 regulates osteogenic differentiation of bmscs by inhibiting adipogenesis through Wnt/ $\beta$ -catenin pathway. *Arch Oral Biol*, 2019, 97: 176-184.
- [9] DELTCHEVA E, NIMMO R. RUNX transcription factors at the interface of stem cells and cancer. *Biochem J*, 2017, 474(11): 1755-1768.
- [10] KOMORI T. Molecular mechanism of Runx2-dependent bone development. *Mol Cells*, 2020, 43(2): 168-175.
- [11] KIMURA A, INOSE H, YANO F, et al. Runx1 and Runx2 cooperate during sternal morphogenesis. *Development*, 2010, 137(7): 1159-1167.
- [12] TANG C Y, CHEN W, LUO Y, et al. Runx1 up-regulates chondrocyte to osteoblast lineage commitment and promotes bone formation by enhancing both chondrogenesis and osteogenesis. *Biochem J*, 2020, 477(13): 2421-2438.
- [13] KIM W, BARRON D A, SAN MARTIN R, et al. RUNX1 is essential for mesenchymal stem cell proliferation and myofibroblast differentiation. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2014, 111(46): 16389-16394.
- [14] LI K N, JAIN P, HE C H, et al. Skin vasculature and hair follicle cross-

- talking associated with stem cell activation and tissue homeostasis. *eLife*, 2019, 8: e45977[2021-03-30]. <https://elifesciences.org/articles/45977>. doi: 10.7554/eLife.45977.
- [15] CHO A R, KIM J Y, MUNKHBAYER S, *et al.* p21 upregulation in hair follicle stem cells is associated with telogen retention in aged mice. *Exp Dermatol*, 2016, 25(1): 76–78.
- [16] 陈野, 周丰, 邱琼辉, 等. 脂联素对骨髓间充质干细胞的作用及其调控机制. *国际口腔医学杂志*, 2021, 48(1): 58–63.
- [17] HAN L, WANG B, WANG R, *et al.* The shift in the balance between osteoblastogenesis and adipogenesis of mesenchymal stem cells mediated by glucocorticoid receptor. *Stem Cell Res Ther*, 2019, 10(1): 377.
- [18] GAUS S, LI H, LI S, *et al.* Shared genetic and epigenetic mechanisms between the osteogenic differentiation of dental pulp stem cells and bone marrow stem cells. *Biomed Res Int*, 2021, 2021: 6697810[2021-03-30]. <https://doi.org/10.1155/2021/6697810>.
- [19] NANTAVISAI S, PISITKUN T, OSATHANON T, *et al.* Systems biology analysis of osteogenic differentiation behavior by canine mesenchymal stem cells derived from bone marrow and dental pulp. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 20703.
- [20] JI C, LIU X, XU L, *et al.* RUNX1 plays an important role in mediating bmp9-induced osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells line C3H10T1/2, murine multi-lineage cells lines C2C12 and MEFs. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(7): 1348.
- [21] TANG C Y, WU M, ZHAO D, *et al.* Runx1 is a central regulator of osteogenesis for bone homeostasis by orchestrating BMP and WNT signaling pathways. *PLoS Genet*, 2021, 17(1): e1009233[2021-02-25]. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1009233>.
- [22] TANG J, XIE J, CHEN W, *et al.* Runt-related transcription factor 1 is required for murine osteoblast differentiation and bone formation. *J Biol Chem*, 2020, 295(33): 11669–11681.
- [23] ANITUA E, TROYA M, ZALDUENDO M. Progress in the use of dental pulp stem cells in regenerative medicine. *Cytotherapy*, 2018, 20(4): 479–498.

(2021-03-05收稿, 2021-04-12修回)

编辑 余琳