

[DOI]10.12016/j.issn.2096-1456.2020.05.009

· 综述 ·

初级纤毛在牙发育中的分布及相关信号通路的研究进展

周陶, 巫佩瑶, 杨雨青, 曹志炜, 解亮

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, 四川 成都(610041)

【摘要】 初级纤毛是位于大多数哺乳动物细胞表面,感受外环境刺激并传导信息的一种细胞器,在组织发育过程中参与调控各种信号通路。本文就初级纤毛在牙发育中的分布及相关信号通路的研究进展作一综述。文献复习结果表明,在牙发育过程中,初级纤毛在上皮与间充质的相互诱导中发挥重要作用,且随细胞不断增殖分化,初级纤毛的分布呈现出时间和空间依赖性。尽管此分布特征的原因尚不明确,但部分实验证据表明其与初级纤毛所分布的细胞与组织的功能相适应。初级纤毛在牙发育过程中主要参与调控 Hedgehog 和 Wnt 两种重要的信号通路,编码纤毛蛋白的基因(如 Kif3a、Evc/Evc2 和 Ift 等)可通过对这两种信号通路的调控来影响牙齿的发育,并且两种信号通路之间存在交互作用。相关基因(如 Ofd1, Bbs 等)的缺失也可通过损害纤毛的结构或功能破坏上下游信号的传导,引起多种类型的牙齿发育不良,包括小牙、釉质发育不全、牙齿缺失或颅面部畸形。

【关键词】 初级纤毛; 牙发育; 分布; Wnt 信号通路; Hedgehog 信号通路; Kif3a 基因; Evc/Evc2 基因; Ift 基因

【中图分类号】 R781 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 2096-1456(2020)05-0318-04

【引用著录格式】 周陶,巫佩瑶,杨雨青,等. 初级纤毛在牙发育中的分布及相关信号通路的研究进展[J]. 口腔疾病防治, 2020, 28(5): 318-321.



开放科学(资源服务)标识码(OSID)

Research progress on the distribution of primary cilia and related signaling pathways involved in odontogenesis ZHOU Tao, WU Peiyao, YANG Yuqing, CAO Zhiwei, XIE Liang. State Key Laboratory of Oral Diseases & National Clinical Research Center for Oral Diseases & West China Hospital of Stomatology, Sichuan University, Chengdu 610041, China

Corresponding author: XIE Liang, Email: lxie@scu.edu.cn, Tel: 86-28-85501484

【Abstract】 Primary cilia are organelles present on most mammalian cells that sense environmental changes and transduce signaling, and they are the key coordinators of various signaling pathways during tissue development. This article reviews the progress of research on the distribution of primary cilia in tooth development and the related signaling pathways. A literature review shows that in odontogenesis, primary cilia play an important role in the mutual induction of the epithelium and mesenchyme; during the continuous proliferation and differentiation of cells, the distribution of primary cilia is temporally and spatially dependent. Although the reason for this distribution is still unclear, some experimental evidence indicates that this phenomenon is compatible with the function of cells and tissues in which primary cilia are distributed. Primary cilia are involved in the regulation of two important signaling pathways, Hedgehog and Wnt, in odontogenesis. Genes encoding cilia (such as Kif3a, Evc/Evc2 and Ift) can affect the development of teeth by regulating these two signaling pathways, and there is an interaction between the two signaling pathways. Deletion of related genes (such as Ofd1 and Bbs) can damage the transmission of upstream and downstream signals by damaging the structure or function of cilia, thereby causing various types of dental dysplasia, including small teeth, enamel hypoplasia, missing

【收稿日期】 2019-02-21; **【修回日期】** 2019-12-23

【基金项目】 国家自然科学基金青年基金项目(81600842);四川大学创新火花项目(2018SCUH0056)

【作者简介】 周陶, 学士, Email: tzhou1129@163.com

【通信作者】 解亮, 助理研究员, 博士, Email: lxie@scu.edu.cn, Tel: 86-28-85501484

teeth, or craniofacial deformities.

【Key words】 primary cilia; odontogenesis; distribution; Wnt signaling pathway; Hedgehog signaling pathway; Kif3a gene; Evc/Evc2 gene; Ift gene

J Prev Treat Stomatol Dis, 2020, 28(5): 318-321.

1 初级纤毛的结构和功能研究

初级纤毛是从真核细胞表面延伸出来的一种非运动型细胞器,由轴丝和一对中心粒构成。其中,轴丝呈“9+0”双联微管状排列,是纤毛内物质双向运输的结构基础;中心粒构成纤毛基体部,提供纤毛微管骨架来构建轴丝;轴丝基部和基体顶端之间为过渡区,主要调节蛋白进出纤毛。初级纤毛可以感受外环境中的机械与化学刺激,是个体发育过程中重要的信号转导中心,介导了Hedgehog、Wnt、Notch、钙离子等多种信号通路的信息传递,进而参与调控细胞增殖分化,维持组织稳态。

2 牙发育过程中初级纤毛的分布特点

牙发育是上皮与间充质相互诱导的过程,发育早期牙上皮增厚形成牙板,在多种信号通路调控下,经蕾状期、帽状期、钟状期形成完整的牙齿。观察小鼠牙发育发现:初级纤毛存在于牙胚发育不同阶段的细胞表面。E12.5(牙板增厚)时,初级纤毛分散于牙板上皮增厚区的细胞表面以及下方的间充质;E13.5(蕾状期)时,主要位于牙胚基底上皮层的顶端,且与基膜方向相对,可能参与牙发育早期细胞的极化;E15.5(帽状期)时,整个成釉器中都分散有含初级纤毛的细胞^[1]。牙胚发育晚期,初级纤毛的数量和长短随细胞分化表现出时空特异性。E16.5(钟状早期)时,内釉上皮和外釉上皮中可见大量短纤毛,而在星网状层主要集中于釉结处^[2]。P0(矿化开始)时,成釉细胞出现初级纤毛,且数量随牙胚发育进行性减少,在此阶段,成牙本质细胞和牙髓细胞表面可见大量粗的初级纤毛。P12以后,成釉细胞和成牙本质细胞的初级纤毛分别沿牙本质和牙釉质轴向排列,前者朝向外釉上皮,后者指向牙髓,均与硬组织形成方向相反^[2]。牙囊细胞表面初级纤毛随牙发育逐渐集中在牙周膜细胞表面,呈线性排列,且更靠近牙骨质,可能与该处承受更大咬合力有关^[2]。人牙胚发育过程中初级纤毛的分布与小鼠既具相似性,但也存在着不同。12周(帽状期)时,大量的初级纤毛分布于成釉器的各个部位,但主要集中在内

釉上皮和牙乳头处。14周,初级纤毛主要集中在颈环及其邻近的牙囊和牙乳头细胞中。21周时,成釉细胞、牙髓细胞和成牙本质细胞中均可见长的初级纤毛,而颈环处的内釉上皮中缺乏清晰可见的纤毛^[3]。由此可见,初级纤毛在牙胚发育中存在时间和空间依赖性,这种动态改变可能与牙发育不同阶段不同细胞的结构和功能相适应,如成牙本质细胞和成釉细胞表面纤毛的方向可以影响细胞的移动,规律的纤毛排布有利于细胞的定向等^[2]。

3 初级纤毛调控牙发育中的相关信号通路研究

3.1 Wnt 信号通路

初级纤毛蛋白(主要是基体部)可参与调控经典和非经典两种Wnt信号通路。Wnt与配体卷曲蛋白(frizzled, FZ)结合后可引起两种途径的激活,前者依赖于 β -连环蛋白(β -catenin),经dishevelled(Dsh)蛋白募集,糖原合成酶激酶-3(glycogen synthase kinase-3, GSK-3)灭活, β -catenin易位到细胞核,与T细胞因子/淋巴增强因子(T-cell factor/lymphoid enhancer factor, LEF/TCF)家族成员共同诱导靶基因转录。初级纤毛对于Wnt信号通路的调控作用还存在争议,研究发现纤毛基底部驱动蛋白(kinesin-like protein3A, KIF3A)等缺失后可导致Wnt信号通路的异常激活;也有研究发现,初级纤毛蛋白缺失造成纤毛形成障碍,却表现出正常的Wnt信号传导^[4]。在WntCre+Kif3a^{fl/fl}小鼠牙胚间充质中,Wnt/ β -catenin信号传导的增强说明了初级纤毛对Wnt信号通路的负向调控作用^[5]。Kif3a敲低的牙囊和牙髓细胞初级纤毛丧失,向成牙本质细胞分化受到明显抑制进一步证实了这一观点^[6]。而Kif3a缺失对于牙发育的影响也呈现出区域特异性,表现为切牙完全丧失,而磨牙仅表现出牙胚增大和成釉器畸形。此外还发现纤毛参与调控的Hedgehog和Wnt信号通路可能共同介导上皮与间充质相互作用。小鼠间充质中Kif3a缺陷可导致同一区域Hedgehog信号通路丧失和Wnt信号通路增强,并继发地向牙上皮传递异常信号,引起上皮中这两种信号通路增强,最终表现出切牙完全

丧失,磨牙增大^[5]。

3.2 Hedgehog 信号通路

Hedgehog 信号通路几乎参与了所有组织器官的发育,并且它的信息传递高度依赖于初级纤毛。Hedgehog 信号通路由位于纤毛基部的跨膜受体(patched1, PTCH1),跨膜平滑蛋白(smoothed protein, SMO),融合抑制因子(suppressor of fused, SUFU)以及3个锌指转录因子(Gli1, Gli2 和 Gli3)构成,当PTCH1与配体结合以后,解除对SMO的抑制让其易位到纤毛中,活化的SMO辅助受体通过抑制SUFU激活Gli,随后激活的Gli活化因子进入细胞核,启动Hedgehog目标基因的表达。研究表明,初级纤毛膜上的主要蛋白,包括负责物质运输的转运蛋白复合体(intraflagellartransport proteins, IFT),与纤毛组装有关的中心粒和基体部蛋白在调控细胞对Hedgehog的响应中具有重要作用,大部分基因突变主要通过影响这些纤毛蛋白的结构或功能,进而增强或削弱Hedgehog信号的传递,最终导致胚胎发育异常^[7]。

3.2.1 Evc/Evc2 基因 Evc 或 Evc2 基因编码的EVC和EVC2蛋白是共定位于纤毛基体部和纤毛膜上的跨膜蛋白,并参与Shh信号通路的正向调控。该基因的缺失可引起埃利伟氏综合征(ellis-van creveldsyndrome, EvC)。据临床报道,该类患者可表现出圆锥形或钉型齿、牙齿缺失、釉质发育不全、牙齿过小、牙齿延迟萌出、高龋率等^[8-9]。Evc2/Limbin参与调控切牙牙根长度,还与牙发育过程中成釉细胞矿化和细胞外基质沉积相关^[10]。

纤毛内EVC区中Smo-Evc2复合体的形成是Hedgehog信号通路转导的分子基础,并受到严格的空限制。EVC2蛋白从EVC区消失后特异性阻断SMO和下游调节蛋白激酶A(protein kinase A, PKA)和SUFU因子之间的信号传导,进而抑制Gli转录因子的激活^[11]。除Evc/Evc2本身的突变,Ift121的缺失也可以导致Evc-Smo复合体形成障碍,也说明了纤毛蛋白的调控存在交互作用^[12]。

3.2.2 Ift 基因 Ift 基因编码的IFT蛋白是纤毛内运输系统的重要组分,该系统主要由IFTA复合体和IFTB复合体构成,主要负责物质在纤毛内的双向运输^[13]。目前已证实,Ift基因变异可引起多种发育性疾病,常见的是Ift52、Ift140、Ift121、Ift122等引起的颅骨外胚层发育不良^[14],患者可表现出牙齿小而宽,延迟萌出,牙间隙增大,牙融合伴釉质发育不全,甚至牙缺失等^[15-16]。Ift140 cKO小鼠表现出磨牙短根以及根间

牙本质变薄,可能与Ift140调节成牙本质细胞相关基因Nfic,Osx,Dsp和Dmp1的表达有关^[17]。

Ift基因缺陷仍然主要通过破坏Shh信号来影响牙齿发育。Ift88变异可以导致异常纤毛的形成,Ift88orpk小鼠在第一磨牙位置处出现异位的内侧磨牙并伴磨牙数量增加^[18],与间充质中Shh信号增强有关;Ift122缺失会影响纤毛蛋白的正确定位,破坏其与IFT43-IFT121和IFT139的相互作用,导致纤毛运输障碍^[19],阻碍了Shh信号通路中Smo与Gli之间的信息转导^[20]。此外还发现,Ift140cKO小鼠纤毛数量明显减少,Shh通路相关信号分子均下调,并可能通过Shh信号通路活化间充质干细胞中的核因子1C型(nuclear factor 1 C-type, NFIC),调节根发育^[17]。此外,敲除成熟成牙本质细胞中的Ift140,不影响磨牙正常发育^[21],而敲除早期牙齿间充质干细胞中的Ift140,则出现磨牙短根和低分化成牙本质细胞^[22]。可见,IFT140蛋白在牙发育中的作用具有时间和空间依赖性。此外,Ift的突变可影响多条通路,牙髓干细胞中敲除Ift80后,破坏的Hedgehog信号影响成牙本质细胞的分化,牙髓干细胞增殖下降则与FGF2-FGFR1-PI3K-AKT信号通路的破坏密切相关^[23-24]。

3.2.3 其它基因 Ofd1基因编码纤毛基体部和中心体上的蛋白,该基因发生突变以后会引起纤毛的丧失并影响Shh信号通路传导^[25],导致口-面-指综合征,表现为多牙、缺牙和牙釉质发育不全,成牙本质细胞分化和矿化受阻,牙尖形成异常等^[26]。同时,也有研究发现,OFD1外显子20,21的突变可引起纤毛异常,却无相关的异常症状^[27]。Bbs基因丧失后可引起巴-比二氏综合征(bardet-biedlsyndrome, BBS),该基因缺失后破坏IFT蛋白导致纤毛蛋白的异常定位和物质运输障碍,且不同亚型的Bbs缺陷对于胚胎发育影响各不相同^[28]。目前认为,Bbs4和Bbs6主要参与成牙本质细胞表面初级纤毛的形成,BBS蛋白缺失后导致Shh信号异常,常表现为牙齿排列拥挤,釉质发育不全,短根等^[29]。

4 展 望

作为重要的信号中心,初级纤毛参与了牙发育过程中Hedgehog、Wnt等的信息传递,基因缺陷导致相应的纤毛蛋白破坏,可破坏下游信息的传递,并且逐渐明确了不同基因在Shh信号通路中的调控靶点。虽然部分研究已经明确牙发育中

Hedgehog、Wnt 信号通路依赖于纤毛参与细胞的增殖分化以及牙齿矿化等,但牙发育中其它重要信号通路如 Notch、TGF- β 与纤毛的关系尚不明确。同时,初级纤毛在牙发育中的分布表现出时空特异性,而某些基因通过初级纤毛对 Wnt 和 Hedgehog 信号通路的调控也表现出时空特异性,这之间的关系还需要更多的研究加以论证。

参考文献

- [1] Hampl M, Cela P, Szabo-Rogers HL, et al. Role of primary cilia in odontogenesis[J]. *J Dent Res*, 2017, 96(6): 965-974.
- [2] Hisamoto M, Goto M, Muto M, et al. Developmental changes in primary cilia in the mouse tooth germ and oral cavity[J]. *Biomed Res*, 2016, 37(3): 207-214.
- [3] Kero D, Novakovic J, Vukojevic K, et al. Expression of Ki-67, Oct-4, γ -tubulin and α -tubulin in human tooth development[J]. *Arch Oral Biol*, 2014, 59(11): 1119-1129.
- [4] Jackson PK. EZH2 inactivates primary cilia to activate Wnt and drive melanoma[J]. *Cancer cell*, 2018, 34(1): 3-5.
- [5] Liu B, Chen S, Cheng D, et al. Primary cilia integrate hedgehog and Wnt signaling during tooth development[J]. *J Dent Res*, 2014, 93(5): 475-482.
- [6] Jiang S, Chen G, Feng L, et al. Disruption of kif3a results in defective osteoblastic differentiation in dental mesenchymal stem/precursor cells via the Wnt signaling pathway[J]. *Mol Med Rep*, 2016, 14(3): 1891-1900.
- [7] Bangs F, Anderson KV. Primary cilia and mammalian hedgehog signaling[J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2017, 9(5): a028175.
- [8] Naqash TA, Alshahrani I, Simasetha S. Ellis - van creveld syndrome: a rare clinical report of oral rehabilitation by interdisciplinary approach[J]. *Case Rep Dent*, 2018, 2018: 8631602.
- [9] Shaik S, Raviraj J, Dirasantchu S, et al. Ellis - van creveld syndrome with unusual oral and dental findings: a rare clinical entity [J]. *Dent Res J (Isfahan)*, 2016, 13(2): 193-197.
- [10] Zhang H, Takeda H, Tsuji T, et al. Generation of Evc2/Limbin global and conditional KO mice and its roles during mineralized tissue formation[J]. *Genesis*, 2015, 53(9): 612-626.
- [11] Dorn K, Hughes C, Rohatgi R. A Smoothed-Evc2 complex transduces the hedgehog signal at primary cilia[J]. *Dev Cell*, 2012, 23(4): 823-835.
- [12] Caparrós-Martín JA, de Luca A, Cartault F, et al. Specific variants in WDR35 cause a distinctive form of Ellis-van Creveld syndrome by disrupting the recruitment of the EvC complex and SMO into the cilium[J]. *Hum Mol Genet*, 2015, 24(14): 4126-4137.
- [13] Picariello T, Brown JM, Hou Y, et al. A global analysis of IFT-A function reveals specialization for transport of membrane-associated proteins into cilia[J]. *J Cell Sci*, 2019, 132(3). DOI: 10.1242/jcs.220749.
- [14] Walczak-Sztulpa J, Posmyk R, Bukowska-Olech E M, et al. Compound heterozygous IFT140 variants in two Polish families with Sensenbrenner syndrome and early onset end-stage renal disease [J]. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, 2020, 15(1): 1-10.
- [15] Bayat A, Kerr B, Douzgou S. The evolving craniofacial phenotype of a patient with Sensenbrenner syndrome caused by IFT140 compound heterozygous mutations[J]. *Clin Dysmorphol*, 2017, 26(4): 247-251.
- [16] Walczak-Sztulpa J, Wawrocka A, Sobierajewicz A, et al. Intrafamilial phenotypic variability in a Polish family with Sensenbrenner syndrome and biallelic WDR35 mutations[J]. *Am J Med Genet A*, 2017, 173(5): 1364-1368.
- [17] Li G, Liu M, Zhang S, et al. Essential role of IFT140 in promoting dentinogenesis[J]. *J Dent Res*, 2018, 97(4): 423-431.
- [18] Chekuri A, Guru AA, Biswas P, et al. IFT88 mutations identified in individuals with non-syndromic recessive retinal degeneration result in abnormal ciliogenesis[J]. *Hum Genet*, 2018, 137(6-7): 447-458.
- [19] Takahara M, Katoh Y, Nakamura K, et al. Ciliopathy-associated mutations of IFT122 impair ciliary protein trafficking but not ciliogenesis[J]. *Hum Mol Genet*, 2017, 27(3): 516-528.
- [20] Okigawa S, Mizoguchi T, Okano M, et al. Different combinations of notch ligands and receptors regulate V2 interneuron progenitor proliferation and V2a/V2b cell fate determination[J]. *Dev Biol*, 2014, 391(2): 196-206.
- [21] Dudakovic A, Camilleri ET, Xu F, et al. Epigenetic control of skeletal development by the histone methyltransferase Ezh2[J]. *J Biol Chem*, 2015, 290(46): 27604-27617.
- [22] Wang J, Feng JQ. Signaling pathways critical for tooth root formation[J]. *J Dent Res*, 2017, 96(11): 1221-1228.
- [23] Yuan X, Cao X, Yang S. IFT80 is required for stem cell proliferation, differentiation, and odontoblast polarization during tooth development[J]. *Cell death & disease*, 2019, 10(2): 1-11.
- [24] Yuan X, Liu M, Cao X, et al. Ciliary IFT80 regulates dental pulp stem cells differentiation by FGF/FGFR1 and Hh/BMP2 signaling [J]. *Int J Biol Sci*, 2019, 15(10): 2087-2099.
- [25] Singla V, Romaguera-Ros M, Garcia-Verdugo JM, et al. Ofd1, a human disease gene, regulates the length and distal structure of centrioles[J]. *Dev Cell*, 2010, 18(3): 410-424.
- [26] Minervini G, Romano A, Petruzzi M, et al. Oral-facial-digital syndrome (OFD): 31-year follow-up management and monitoring[J]. *J Biol Regul Homeost Agents*, 2018, 32(Suppl 1): 127-130.
- [27] Bukowy-Bieryllo Z, Rabiasz A, Dabrowski M, et al. Truncating mutations in exons 20 and 21 of OFD1 can cause primary ciliary dyskinesia without associated syndromic symptoms[J]. *J Med Genet*, 2019, 56(11): 769-777.
- [28] Schock EN, Struve JN, Chang C, et al. A tissue-specific role for intraflagellar transport genes during craniofacial development[J]. *PLoS One*, 2017, 12(3): e0174206.
- [29] Panny A, Glurich I, Haws RM, et al. Oral and craniofacial anomalies of Bardet-Biedl syndrome: dental management in the context of a rare disease[J]. *J Dent Res*, 2017, 96(12): 1361-1369.

(编辑 罗燕鸿)



官网



公众号