

[DOI] 10.12016/j.issn.2096-1456.2020.07.003

· 基础研究 ·

酪蛋白激酶2相互作用蛋白1对人牙周膜干细胞成骨分化能力的影响

秦青¹, 宋杨², 刘佳³, 李强⁴

1. 西安交通大学第二附属医院(西北医院)口腔科, 陕西 西安(710003); 2. 解放军第986医院口腔科, 陕西 西安(710054); 3. 军事口腔医学国家重点实验室 国家口腔疾病临床医学研究中心 陕西省口腔疾病临床医学研究中心 第四军医大学口腔医院正畸科, 陕西 西安(710032); 4. 军事口腔医学国家重点实验室 国家口腔疾病临床医学研究中心 陕西省口腔疾病国际联合研究中心 第四军医大学口腔医院急诊与综合临床科, 陕西 西安(710032)

【摘要】 目的 探讨酪蛋白激酶2相互作用蛋白1(casein kinase 2 interacting protein-1, CKIP-1)对人牙周膜干细胞(human periodontal ligament stem cells, hPDLSCs)成骨分化能力的影响。方法 收集正常人牙周膜组织, 通过组织块培养法分离培养hPDLSCs, 将P4代细胞分为空白对照组、阴性对照组(感染对照载体)、CKIP-1 siRNA慢病毒组(感染CKIP-1 siRNA慢病毒)以及CKIP-1组(感染CKIP-1过表达慢病毒)。对各组细胞进行成骨诱导培养21 d, 茜素红染色观察细胞矿化结节形成情况, 并用分光光度计对矿化结节进行定量分析, 同时利用qPCR技术检测各组Runt相关转录因子2(Runt-related transcription factor 2, Runx2)、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)、骨钙素(osteocalcin, OCN)、核因子 κ B受体活化因子配体(receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand, RANKL)等, 以及骨形态发生蛋白(bone morphogenetic protein, BMP)信号通路成骨相关调控因子的转录水平。结果 阴性对照组与空白对照组各指标间无统计学差异($P > 0.05$); 与阴性对照组比较, CKIP-1 siRNA慢病毒组出现更多的矿化结节($P < 0.05$), 矿化沉积量明显增多($P < 0.05$), Runx2、ALP、OCN、RANKL等, 以及BMP信号通路的转录水平不同程度升高($P < 0.05$)。结论 CKIP-1下调可促进hPDLSCs成骨分化能力, 这与成骨相关调控因子转录水平有关。

【关键词】 牙周炎; 牙周骨量丧失; 酪蛋白激酶2相互作用蛋白1; 牙周膜干细胞; 成骨分化; siRNA干扰; Runt相关转录因子2; 碱性磷酸酶; 骨钙素; 核因子 κ B受体活化因子配体; 骨形态发生蛋白信号通路

【中图分类号】 R781.4 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 2096-1456(2020)07-0421-06



开放科学(资源服务)标识码(OSID)

【引用著录格式】 秦青, 宋杨, 刘佳, 等. 酪蛋白激酶2相互作用蛋白1对人牙周膜干细胞成骨分化能力的影响[J]. 口腔疾病防治, 2020, 28(7): 421-426.

Effects of casein kinase 2 interacting protein-1 on the osteogenic differentiation ability of human periodontal ligament stem cells QIN Qing¹, SONG Yang², LIU Jia³, LI Qiang⁴. 1. Department of Dental, The Second Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University (Xibe Hospital), Xi'an 710003, China; 2. Department of Stomatology, the 986 Hospital of PLA, Xi'an 710054, China; 3. State Key Laboratory of Military Stomatology & National Clinical Research Center for Oral Diseases & Shanxi Clinical Research Center for Oral Diseases, Department of Orthodontics, School of Stomatology, The Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China; 4. State Key Laboratory of Military Stomatology & National Clinical Research Center for Oral Diseases & Shanxi International Joint Research Center for Oral Diseases, Department of General Dentistry & Emergency, School of Stomatology, The Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China

【收稿日期】 2019-11-04; **【修回日期】** 2020-02-11

【基金项目】 国家自然科学基金(81500851、81701002); 军事口腔医学国家重点实验室自主研究课题(2017ZB05)

【作者简介】 秦青, 医师, 硕士, Email: 844230195@qq.com

【通信作者】 李强, 副主任医师、副教授, 博士, Email: lqjq726@163.com, Tel: 86-29-84776489

Corresponding author: LI Qiang, Email: lqaq726@163.com, Tel: 86-29-84776489

【Abstract】 Objective To investigate the effects of casein kinase 2 interacting protein-1 (CKIP-1) on the osteogenic differentiation ability of human periodontal ligament stem cells (hPDLSCs). **Methods** The hPDLSCs were obtained by primary culture with periodontal ligament tissues that were collected from normal humans. Then, a lentiviral vector containing a CKIP-1-specific siRNA sequence was constructed, and the transcriptional level of CKIP-1 in hPDLSCs was downregulated after vector infection. The P4 cells were divided into four groups: the control group, negative control group (infected with a control vector), CKIP-siRNA group (infected by a CKIP-1 siRNA lentivirus) and CKIP-1 group (infected by a CKIP-1 overexpression virus). All of the cells were cultured under osteogenic induction for 21 days. Then, alizarin red staining and quantitative determination were performed to detect the osteogenic differentiation ability of the hPDLSCs. In addition, qPCR was used to detect the transcriptional level of osteogenesis-related regulatory factors, such as Runt-related transcription factor 2 (Runx2), alkaline phosphatase (ALP), osteocalcin (OCN), and receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand (RANKL), and the osteogenesis-related regulatory factors of the bone morphogenetic protein (BMP) signaling pathway. **Results** There were no differences in the indexes between the negative control group and the control group ($P > 0.05$). Compared with the negative control group, the CKIP-siRNA group demonstrated more mineralized nodules ($P < 0.05$), significantly increased calcium salt deposition ($P < 0.05$), and increased mRNA levels of osteogenesis-related regulatory factors, such as Runx2, ALP, OCN, and RANKL, and the osteogenesis-related regulatory factors of BMP signaling pathway ($P < 0.05$). **Conclusion** Downregulation of CKIP-1 could promote the osteogenic differentiation of hPDLSCs, which is related to the transcription level of osteogenic-related regulatory factors.

【Key words】 periodontitis; periodontal bone loss; casein kinase 2 interacting protein-1; human periodontal ligament stem cells; osteogenic differentiation; siRNA interference; Runt-related transcription factor 2; alkaline phosphatase; osteocalcin; receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand; bone morphogenetic protein signaling pathway

J Prev Treat Stomatol Dis, 2020, 28(7): 421-426.

牙周骨量丧失是牙周炎患者牙齿松动、缺失的重要原因之一。因此,维持牙周现有骨量或逆转牙周骨量丧失成为牙周炎治疗的研究热点。人牙周膜干细胞(human periodontal ligament stem cells, hPDLSCs)作为人牙周组织中重要的干细胞来源,其成骨分化能力对牙周骨量的维持具有重要作用^[1]。酪蛋白激酶2相互作用蛋白1(casein kinase 2 interacting protein-1, CKIP-1)是新发现的一种重要的骨形成负调控因子。有研究显示,下调CKIP-1既可促进成骨细胞的成骨能力,又可促进骨髓间充质干细胞的成骨向分化进程;应用CKIP-1特异性siRNA可对多种骨质疏松动物模型产生逆转骨量丧失的作用^[2-3]。另有研究也显示,CKIP-1的下调可以减轻实验性牙周炎大鼠的牙周骨量丧失程度^[4],但具体机制尚未阐明。本研究将通过siRNA干扰技术下调hPDLSCs内的CKIP-1水平,观察CKIP-1对hPDLSCs的成骨分化能力及成骨相关因子的表达影响,并探索骨形态发生蛋白(bone morphogenetic protein, BMP)信号通路的调控功能,以期CKIP-1特异性siRNA应用于牙周炎临床治疗提供实验依据。

1 材料和方法

1.1 主要试剂和仪器

α -MEM培养基、100 mL/L新生牛血清(Gibco, 美国);10 g/L青霉素/链霉素、引物、CKIP-1 siRNA慢病毒、CKIP-1过表达慢病毒(GeneRay, 上海吉凯);成骨诱导液(第四军医大学口腔医院组织工程中心);RNA提取试剂盒(RNAiso Plus, Takara, 日本)、实时荧光定量PCR试剂盒(Takara, 日本);茜素红染色及定量检测试剂盒(上海生工);分光光度计(BioTek, 美国);实时定量PCR仪(Applied biosystems, 美国)。

1.2 实验方法

1.2.1 hPDLSCs原代培养 选取第四军医大学口腔医院门诊因正畸需要拔除的牙体完整、无畸形、无牙体及牙周组织疾病的第二前磨牙40个,分别来自20例身体健康者,年龄15~22岁。牙拔除后立即用0.01 mol/L PBS冲洗,无菌条件下,用锐利刀片刮取根中1/3区域的牙周膜组织,并将其切割成约 $1 \times 1 \text{ mm}^3$ 的小块,并放置于6孔板中(含150 mL/L FBS、0.292 mg/mL谷氨酰胺、100 U/mL青霉素及链霉素的 α -MEM培养基),在37℃、5% CO₂及饱

和湿度条件下培养,每2 d换液1次,细胞从组织块边缘爬出后继续培养7 d;待细胞生长融合至80%时,用胰酶/EDTA (0.25/0.1, pH = 6.4)消化传代。本研究进行实验的hPDLSCs细胞均为P4代。

1.2.2 hPDLSCs 鉴定 取培养的P4代hPDLSCs,调整细胞密度为 1×10^6 /mL,用40 g/L多聚甲醛固定15 min;PBS洗涤后分别加入鼠抗人CD105单抗,室温孵育1 h;再经PBS洗涤后分别加入羊抗鼠Ig-FITC,室温避光贮存45 min;流式细胞仪检测细胞表面CD105的表达水平。hPDLSCs经过成骨诱导液诱导培养21 d后,40 g/L多聚甲醛固定细胞1 h, PBS清洗3次后,茜素红染色20 min,再用PBS洗去多余染色剂,光镜下观察矿化结节形成情况,鉴定hPDLSCs细胞的多向分化能力。

1.2.3 分组及慢病毒感染 取hPDLSCs接种于培养板中,调整细胞密度为 5×10^4 个/mL,并将其分为4组:①空白对照组(Con):细胞不感染任何慢病毒;②阴性对照组(shNC):细胞感染空白质粒慢病毒;③CKIP-1 siRNA组(CKIP-1 siRNA):细胞感染CKIP-1 siRNA慢病毒;④CKIP-1组(CKIP-1):细胞感染CKIP-1过表达慢病毒。感染方法:待细胞融合至80%时进行慢病毒感染,期间选用感染增强液提高感染效果。6 h后换液,72 h后进行收集细胞。将细胞按 1×10^5 个/孔的浓度接种于6孔板中,无双抗培养基培养。

1.2.4 茜素红染色及矿化结节的定量分析 取上述分组P4代hPDLSCs,分别经成骨诱导液诱导培养21 d后,进行茜素红染色并于镜下观察矿化结节形成情况;再取100 g/L氯化十六烷基1 mL室温下吹打30 min至钙化结节完全溶解,吸取上清液300 μ L,用紫外分光光度计562 nm波长下测量A值^[5]。

1.2.5 qPCR 检测成骨调控因子和BMP信号通路相关因子mRNA水平 首先,分别取各组成骨诱导培养21 d的细胞,经PBS洗涤并离心后,调整细胞密度为 1×10^5 个/mL,取1 mL,用Trizol裂解各组hPDLSCs,分离RNA,并利用其作为模板进行反转录成cDNA,其中反转录所得cDNA保存于-20 $^{\circ}$ C冰箱中以防分解。按照Takara公司的qPCR试剂盒要求,加入上下游引物,利用qPCR仪进行反应,合成所设计的相关基因。对照基因选择为 β -actin,用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法统计分析各组间成骨相关因子Runt相关转录因子2(Runt-related transcription factor 2, Runx2)、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)、骨钙素(osteocalcin, OCN)、核因子 κ B受体活化因

子配体(receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand, RANKL)和I型胶原(type I collagen, Coll I)的转录水平的差异,以及BMP信号通路相关因子BMP2、泛素连接酶1(Smad ubiquitination regulatory factor 1, Smurf1)和Smad家族成员4(mothers against decapentaplegic homolog 4, Smad4)水平差异。反应条件:95 $^{\circ}$ C, 10 s;95 $^{\circ}$ C, 5 s;60 $^{\circ}$ C 30 s, 40个循环。引物序列见表1。

表1 基因名称和引物序列

Table 1 The gene name and primer sequence

Gene name	Primer sequence(5'-3')	bp
CKIP-1	F: 5'-AACCGCTATGTGGTGCTGAA-3'	118
	R: 5'-CAGGGTGAAGCTTGTGTGATTT-3'	
Runx2	F: 5'-CCCCTGGCCTTCAAGGT-3'	92
	R: 5'-CGTTACCCGCCATGACAGTA-3'	
Coll I	F: 5'-CCAGAAGAAGCTGATCATCAGCAA-3'	235
	R: 5'-CGCCATACTCGAAGTGAATC-3'	
ALP	F: 5'-AAGTACTGGACAGACCAAGC-3'	239
	R: 5'-AGAGGGCCAAGAAGGGGAAGT-3'	
OCN	F: 5'-ATGAGAGCCCTCAGACTCCTC-3'	212
	R: 5'-CGGGCCGTAGAAGCGCCGATA-3'	
RANKL	F: 5'-CAGCTATGATGGAAGGTTCTGTG-3'	188
	R: 5'-AACCCGATGGGATGTTGG-3'	
BMP2	F: 5'-CGGACTGCGGTCTCTCTAA-3'	217
	R: 5'-GGAAGCAGCAACGCTAGAAG-3'	
Smurf1	F: 5'-GAAACCCAATGGCAGAAA-3'	186
	R: 5'-GCAGATGTTGAGGGATGAG-3'	
Smad4	F: 5'-GACTCACGGGCTTGGATTGA-3'	153
	R: 5'-TCCCCAAAGCAGAAGCTACG-3'	
β -actin	F: 5'-TGGCACCCAGCACAATGAA-3'	186
	R: 5'-CTAAGTCATAGTCCGCCTAGAAGCA-3'	

1.3 统计学分析

采用SPSS 22.0软件对所有数据进行统计分析。统计软件绘制P-P图验证数据正态性,单因素方差分析法验证数据方差齐性。计量资料结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组比较使用单因素方差分析,组间比较采用SNK-q法,并应用Bonferroni进行事后检验。以 $\alpha = 0.05$ 为检验水准。

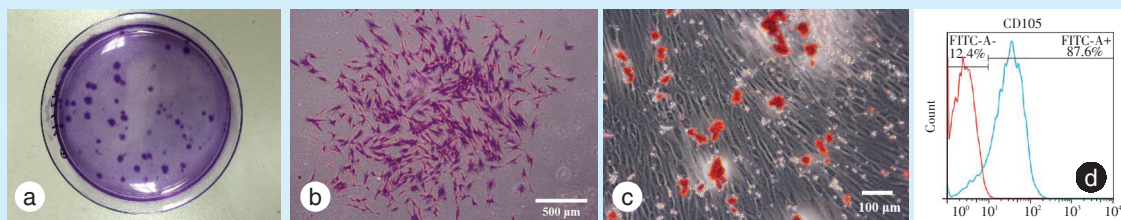
2 结果

2.1 hPDLSCs的鉴定

培养细胞形态呈长梭形类似成纤维样细胞(图1 a、b),茜素红染色可见矿化结节(图1c),且阳性表达间充质干细胞表面标记物CD105(图1d),符合hPDLSCs表型特征。

2.2 慢病毒感染后hPDLSCs的CKIP-1 mRNA水平

CKIP-1 si-RNA水平方差齐性检验显著性值为

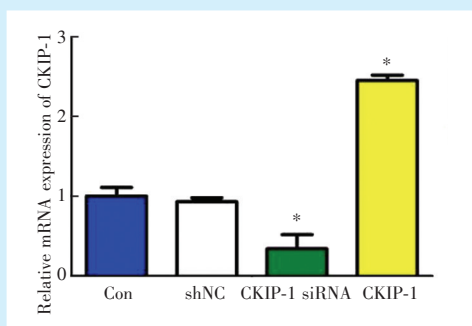


a, b: clone formation assay; c, alizarin red staining; d, cell surface marker CD105 expression

Figure 1 Identification of hPDLSCs

图1 hPDLSCs的鉴定

$P = 0.234$, 满足方差齐性, 可采用单因素方差分析。qPCR 结果(图2)显示, 空白对照组与阴性对照组内 CKIP-1 转录水平无明显差异($P = 0.319$), CKIP-1 siRNA 组 CKIP-1 mRNA 转录水平较阴性对照组显著降低($P = 0.000$), CKIP-1 过表达组 CKIP-1 转录水平较阴性对照组显著升高($P = 0.000$)。



*: vs. shNC group, $P < 0.05$

Figure 2 mRNA expression of CKIP-1

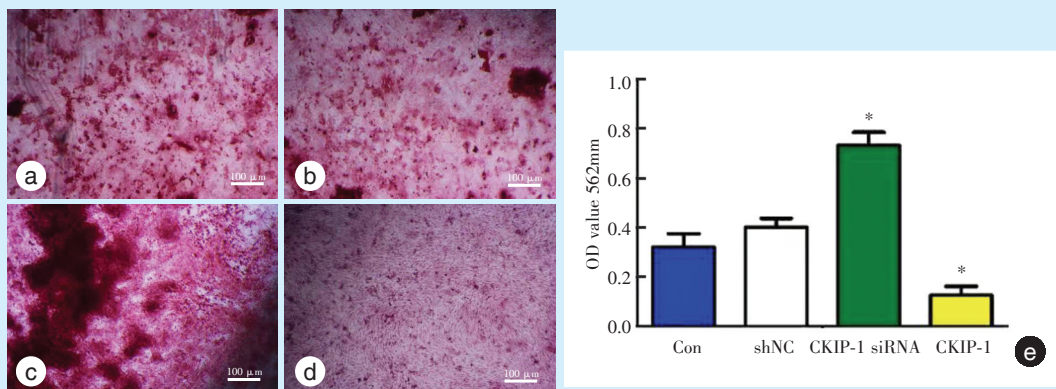
图2 CKIP-1 mRNA 表达水平

2.3 慢病毒感染后对 hPDLSCs 成骨分化能力的影响

各组 hPDLSCs 经 21 d 成骨诱导培养后, 茜素红染色结果显示, 与空白对照组和阴性对照组相比, CKIP-1 siRNA 组具有更多的矿化结节, CKIP-1 过表达组成骨结节形成较少。用分光光度计法对矿化结节进行定量分析, 矿化结节定量分析数据水平方差齐性检验显著性值为 $P = 0.145$, 满足方差齐性, 可采用单因素方差分析。统计结果显示, 可见 CKIP-1 siRNA 组细胞光吸收值更高($P = 0.036$, vs. 空白对照组; $P = 0.038$, vs. 阴性对照组; $P = 0.030$, vs. CKIP-1 组), CKIP-1 过表达组吸光度值更低($P = 0.032$, vs. 空白对照组; $P = 0.033$, vs. 阴性对照组; $P = 0.030$, vs. CKIP-1 组), 说明 CKIP-1 siRNA 组细胞成骨分化效果更为显著(图3)。

2.4 成骨相关调控因子水平

成骨相关调控因子水平数据方差齐性检验显著性值均 $P > 0.05$, 满足方差齐性, 可采用单因素方差分析。qPCR 结果显示(图4), CKIP-1 siRNA

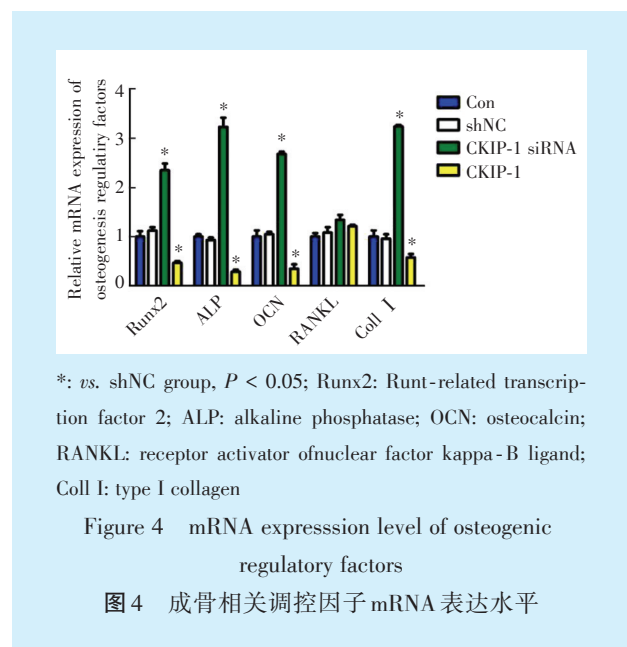


a, control group; b, negative control group; c, CKIP-1 siRNA group; d, CKIP-1 group; e, quantitative determination; *: vs. shNC group, $P < 0.05$

Figure 3 Alizarin red staining and quantitative detection of the osteogenic differentiation ability of hPDLSCs

图3 茜素红染色及定量检测 hPDLSCs 成骨分化能力

组细胞成骨相关调控因子 Runx2 ($P = 0.032$)、ALP ($P = 0.028$)、OCN ($P = 0.032$) 的转录水平均高于阴性对照组细胞, CKIP-1 过表达组成骨相关调控因子 Runx2 ($P = 0.042$)、ALP ($P = 0.040$)、OCN ($P = 0.042$) 表达下降; 同时, Coll I 作为成骨过程中的主要胶原纤维, CKIP-1 siRNA 组转录水平显著升高 ($P = 0.026$), 而 RANKL 作为破骨细胞分化的重要指标, CKIP-1 siRNA 组转录水平未见明显变化 ($P > 0.05$)。提示 CKIP-1 的作用主要针对 hPDLSCs 的成骨分化过程。

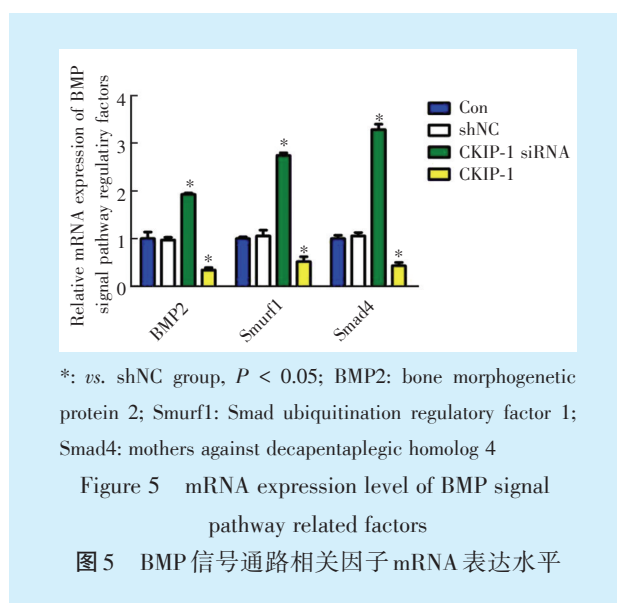


2.5 BMP 信号通路检测

BMP 信号通路相关分子数据方差齐性检验显著性值均 $P > 0.05$, 满足方差齐性, 可采用单因素方差分析。qPCR 结果(图5)显示, 与对照组比较, CKIP-1 siRNA 组的 BMP 信号通路相关因子 BMP2 ($P = 0.010$)、Smurf1 ($P = 0.017$) 和 Smad4 ($P = 0.013$) mRNA 水平有显著提高, 而 CKIP-1 组 BMP2 ($P = 0.032$)、Smurf1 ($P = 0.026$) 和 Smad4 ($P = 0.022$) 明显下降, 提示 CKIP-1 可能通过影响 BMP 信号通路活性, 对 hPDLSCs 成骨向分化进程产生影响。

3 讨论

hPDLSCs 作为人牙周组织重要的干细胞来源, 对牙周组织抵抗炎症、维持骨量、损伤修复等生理功能起到重要作用^[6-7]。其中, hPDLSCs 的成骨分化能力对健康牙周组织的骨量维持、牙周炎状态下的骨量保护、治愈状态下骨量恢复均具有重要



作用^[8-9]。在一系列生理过程中, 多种信号通路与细胞调节因子参与其中, 可调控某些关键因子的含量或功能, 进而促进 hPDLSCs 的成骨分化能力。

CKIP-1 具有高度的保守性, 动物与人的 CKIP-1 基因及蛋白极为相似, 为 CKIP-1 基础研究向临床转化提供了良好基础。同时, CKIP-1 广泛分布于机体中, 在细胞生存、周期调控、细胞骨架形成和维持、蛋白细胞内转运与亚细胞分布等多方面具有重要作用^[10-12]。其中, CKIP-1 对于骨组织形成的负向调控作用也是研究关注的重点。研究显示, CKIP-1 基因全身性敲除的小鼠相较于同窝、同性别的野生型小鼠具有更高的骨密度, 且该作用随年龄增长而越发显著^[13]。学者通过过量糖皮质激素注射^[3]和尾悬吊^[14]等多种方法, 分别制备了 CKIP-1 基因敲除小鼠的激素性和失重性(或称废用性)骨质疏松模型。结果显示, CKIP-1 基因敲除可部分改善上述类型骨质疏松小鼠的骨量丢失症状, 影像学检测可见 CKIP-1 基因敲除小鼠长骨松质骨区域骨量得到有效维持。还有研究显示, miR-980 可以通过干扰 CKIP-1 提高成骨细胞成骨能力^[18]。

另有研究显示, CKIP-1 在成骨细胞中主要通过 BMP 信号通路起作用。CKIP-1 可通过促进 E3 泛素连接酶 Smurf1 的作用, 提高其与底物的亲和力, 从而使 BMP 关键的下游分子 Smads 分解, 进而抑制 BMP 信号通路作用。而敲除或下调 CKIP-1 表达水平可促进 BMP 信号通路作用, 从而发挥促进成骨细胞分化及成骨功能的发挥^[15-16]。研究显示, CKIP-1 基因敲除小鼠的骨髓间充质干细胞成骨分化进程显著加快, 从而对长骨骨量维持起调控作

用^[2]。目前,CKIP-1对于骨组织影响的研究主要集中在肢体长骨松质骨部分,而其对颌骨组织,尤其是牙周骨组织的影响报道较为有限^[17]。研究显示,下调CKIP-1表达水平可在一定程度上缓解牙周炎骨量丧失^[4],而CKIP-1是否能影响hPDLSCs的成骨分化能力,进而在牙周骨量维持中起长期作用尚未报道。

本研究显示,下调hPDLSCs内CKIP-1转录水平可有效提高细胞中矿化结节的产生,促进hPDLSCs成骨分化进程,下调CKIP-1转录水平对hPDLSCs成骨分化具有单方面的积极作用。此外,BMP信号通路也是参与CKIP-1调控hPDLSCs成骨分化的重要分子机制。

总之,hPDLSCs是牙周组织骨量维持的重要细胞基础,下调CKIP-1可以有效促进hPDLSCs成骨分化能力。CKIP-1对于牙周组织骨量的调控作用,为通过组织工程的方法治疗牙周炎提供了新思路及实验依据。

参考文献

- [1] Guo Z, Chen R, Zhang F, et al. Exendin-4 relieves the inhibitory effects of high glucose on the proliferation and osteoblastic differentiation of periodontal ligament stem cells[J]. Arch Oral Biol, 2018, 91: 9-16.
- [2] 李五一, 谢昊, 刘建国, 等. 人牙周膜干细胞的分离培养及初步鉴定[J]. 广东牙病防治, 2015, 23(3): 117-121.
Li WY, Xie H, Liu JG, et al. Isolation culture and identification of human periodontal ligament stem cells[J]. J Prev Treat Stomatol Dis, 2015, 23(3): 117-121.
- [3] Jin L, Lu C, Wu X, et al. Targeting osteoblastic casein kinase-2 interacting protein-1 to enhance Smad-dependent BMP signaling and reverse bone formation reduction in glucocorticoid-induced osteoporosis[J]. Sci Rep, 2017, 7: 41295.
- [4] 王也, 林晓萍. 牙周炎和骨质疏松症共同危险因素及相关机制研究进展[J]. 口腔疾病防治, 2019, 27(12): 794-798.
Wang Y, Lin XP. Research Progress on common risk factors and related mechanisms of periodontitis and osteoporosis[J]. J Prev Treat Stomatol Dis, 2019, 27(12): 794-798.
- [5] 廖春晖, 李明飞, 叶金梅, 等. IGF1通过BMP2-Smad1/5信号通路调控犬上颌窦黏膜干细胞成骨分化[J]. 口腔疾病防治, 2020, 28(1): 16-23.
Liao CH, Li MF, Ye JM, et al. IGF1 regulates osteogenic differentiation of canine maxillary sinus mucosa stem cells through bmp2-smad1/5 signal pathway[J]. J Prev Treat Stomatol Dis, 2020, 28(1): 16-23.
- [6] 李夏宇, 赵红宇, 赵华. 牙周膜干细胞成脂分化的研究进展[J]. 口腔疾病防治, 2016, 24(5): 317-320.
Li XN, Zhao HY, Zhao H. The research progress of adipogenic differentiation of periodontal ligament stem cells[J]. J Prev Treat Stomatol Dis, 2016, 24(5): 317-320.
- [7] Wang H, Li J, Zhang X, et al. Priming integrin alpha 5 promotes the osteogenic differentiation of human periodontal ligament stem cells due to cytoskeleton and cell cycle changes[J]. J Proteomics, 2018, 179: 122-130.
- [8] Han N, Zhang F, Li G, et al. Local application of IGFBP5 protein enhanced periodontal tissue regeneration via increasing the migration, cell proliferation and osteo/dentinogenic differentiation of mesenchymal stem cells in an inflammatory niche[J]. Stem Cell Res Ther, 2017, 8(1): 210.
- [9] Diomedea F, D' Aurora M, Gugliandolo A, et al. Biofunctionalized scaffold in bone tissue repair[J]. Int J Mol Sci, 2018, 19(4): 1022.
- [10] Tokuda E, Fujita N, Ohhara T, et al. Casein kinase 2-interacting protein-1, a novel Akt pleckstrin homology domain-interacting protein, down-regulates PI3K/Akt signaling and suppresses tumor growth *in vivo*[J]. Cancer Res, 2007, 67(20): 9666-9676.
- [11] Xi S, Tie Y, Lu K, et al. N-terminal PH domain and C-terminal auto-inhibitory region of CKIP-1 coordinate to determine its nucleus-plasma membrane shuttling[J]. FEBS Lett, 2010, 584(6): 1223-1230.
- [12] Chen G M, Ding R F, Tan Y D, et al. Role of the CKIP1 gene in proliferation and apoptosis of the human lung cancer cell line H1299[J]. Genet Mol Res, 2015, 14(2): 4005-4014.
- [13] Guo B, Zhang B, Zheng L, et al. Therapeutic RNA interference targeting CKIP-1 with a cross-species sequence to stimulate bone formation[J]. Bone, 2014, 59(1): 76-88.
- [14] Zhang X, Wang Q, Wan Z, et al. CKIP-1 knockout offsets osteoporosis induced by simulated microgravity[J]. Prog Biophys Mol Biol, 2016, 122(2): 140-148.
- [15] Jin L, Chao L, Guo B, et al. Increased PLEKHO1 within osteoblasts suppresses Smad-dependent BMP signaling to inhibit bone formation during aging [J]. Aging Cell, 2017, 16(2): 360-376.
- [16] Lu K, Yin X, Weng T, et al. Targeting WW domains linker of HECT-type ubiquitin ligase Smurf1 for activation by CKIP-1[J]. Nat Cell Biol, 2008, 10(8): 994-1002.
- [17] Zhang L, Wu K, Song W, et al. Chitosan/siCKIP-1 biofunctionalized titanium implant for improved osseointegration in the osteoporotic condition [J]. Sci Rep, 2015, 5: 10860.
- [18] Liu Q, Guo Y, Wang Y, et al. miR985p promotes osteoblast differentiation in MC3T3E1 cells by targeting CKIP1[J]. Mol Med Rep, 2018, 17(3): 4797-4802.

(编辑 周春华,张兆强)



官网



公众号