

[DOI] 10.12016/j.issn.2096-1456.2021.08.004

· 基础研究 ·

抑制 p38 MAPK 对小鼠釉质发育相关基因表达的影响

罗晓娜¹, 刘向晖¹, 王博², 刘昕¹, 谢晓华¹

1. 哈尔滨医科大学附属第二医院口腔科, 黑龙江 哈尔滨(150086); 2. 黑龙江省第二医院口腔科, 黑龙江 哈尔滨(150086)

【摘要】 目的 研究 p38 丝裂原活化蛋白激酶(p38 mitogen activated protein kinase, p38 MAPK)对成釉上皮中釉质发育相关基因表达的影响,为釉质发育分子机制的研究提供基础。方法 在体外小鼠下颌磨牙牙胚的培养基中加入以 DMSO 溶解的 p38 MAPK 特异性抑制剂 SB203580 为实验组,以培养基中加入等量 DMSO 处理的牙胚为对照组,利用 Western blot 检测成釉上皮中磷酸化 p38(p-p38)的蛋白表达水平,实时定量 PCR 检测成釉上皮中 Runt 相关转录因子 2(runt-related transcription factor 2, Runx2)、成骨细胞特异性转录因子(osterix, Osx)以及成釉细胞标志物牙成釉细胞相关蛋白(odontogenic ameloblast associated protein, ODAM)、釉成熟蛋白(amelotin, AMTN)、基质金属蛋白酶 20(matrix metalloproteinase 20, MMP20)和激肽释放酶 4(kallikrein 4, KLK4)的 mRNA 表达水平。结果 Western blot 结果显示,在抑制剂 SB203580 的作用下,小鼠成釉上皮中 p38 MAPK 的磷酸化水平降低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。实时定量 PCR 结果表明,SB203580 组的转录因子 Runx2 和 Osx 以及成釉细胞标志物 ODAM、AMTN、MMP20、KLK4 的表达均低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 p38 MAPK 信号通路可能通过调控转录因子 Runx2、Osx 及成釉细胞标志物 ODAM、AMTN、MMP20 和 KLK4 的表达介导釉质发育。

【关键词】 p38 MAPK; SB203580; 牙釉质; 牙胚; 成釉上皮; 釉质发育; 信号通路; Runt 相关转录因子 2; 成骨细胞特异性转录因子; 成釉细胞标志物

【中图分类号】 R78 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 2096-1456(2021)08-0529-06

开放科学(资源服务)标识码(OSID)

【引用著录格式】 罗晓娜,刘向晖,王博,等.抑制 p38 MAPK 对小鼠釉质发育相关基因表达的影响[J].口腔疾病防治,2021,29(8):529-534. doi: 10.12016/j.issn.2096-1456.2021.08.004.

The effect of inhibiting p38 MAPK on the expression of genes related to enamel development in mice LUO Xiaona¹, LIU Xianghui¹, WANG Bo², LIU Xin¹, XIE Xiaohua¹. 1. Department of Stomatology, The Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150086, China; 2. Department of Stomatology, Heilongjiang Second Hospital, Harbin 150086, China

Corresponding author: XIE Xiaohua, Email: xiexiaohua_79@126.com, Tel: 86-451-86605706

【Abstract】 Objective To study the effect of p38 mitogen activated protein kinase (p38 MAPK) on the expression of genes related to enamel development in the enamel epithelium and to provide a basis for the study of the molecular mechanism of enamel development. **Methods** The p38 MAPK-specific inhibitor SB203580 dissolved in DMSO was added to the culture medium of mouse mandibular molar tooth germs *in vitro* as experiment group, and mouse mandibular molar tooth germs treated with the same amount of DMSO were used as control group. Western blot was used to detect the protein expression level of phosphorylated p38 (p-p38) in the enamel epithelium. Real-time PCR was used to detect the mRNA expression levels of runt-related transcription factor 2 (Runx2), osteoblast-specific transcription factor

【收稿日期】 2020-12-15; **【修回日期】** 2021-02-08

【基金项目】 国家自然科学基金项目(81600848);黑龙江省自然科学基金联合引导项目(LH2020H056);黑龙江省博士后面上项目(LBHZ19079)

【作者简介】 罗晓娜,医师,硕士,Email: 949606235@qq.com

【通信作者】 谢晓华,副教授,博士,Email: xiexiaohua_79@126.com, Tel: 86-451-86605706

(Osx), ameloblast markers odontogenic ameloblast associated protein (ODAM), amelotin (AMTN), matrix metalloproteinase 20 (MMP20) and kallikrein 4 (KLK4) in the enamel epithelium. **Results** Western blot results showed that under the action of the inhibitor SB203580, the phosphorylation level of p38 MAPK in mouse enamel epithelium decreased, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). Real-time PCR results showed that the expression levels of the transcription factors Runx2 and Osx and the ameloblast markers ODA, AMTN, MMP20, and KLK4 in the SB203580 group were lower than those in the control group, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion** The p38 MAPK signaling pathway can mediate enamel development by regulating the expression of the transcription factors Runx2 and Osx and the ameloblast markers ODA, AMTN, MMP20 and KLK4 in the mouse enamel epithelium.

【Key words】 p38 MAPK; SB203580; enamel; tooth germ; enamel epithelium; enamel development; signaling pathway; runt-related transcription factor 2; osterix; ameloblast markers

J Prev Treat Stomatol Dis, 2021, 29(8): 529-534.

【Competing interests】 The authors declare no competing interests.

This study was supported by the grants from National Natural Science Foundation of China (No. 81600848); Natural Science Foundation of Heilongjiang Province of China (No. LH2020H056); Postdoctoral Science Foundation of Heilongjiang Province (No. LBHZ19079).

牙釉质作为覆盖在牙冠表面的高度矿化组织^[1],由成釉细胞分泌形成^[2]。成釉细胞的分化受到上皮-间充质作用的调节^[3],这一过程由多种信号分子调控,其中转化生长因子- β (transforming growth factor β , TGF- β)和骨形态发生蛋白 (bone morphogenetic proteins, BMPs)被认为是调节釉质发育最重要的信号分子^[4-6]。作为TGF- β 和BMPs的非经典信号通路,p38丝裂原活化蛋白激酶(p38 mitogen activated protein kinase, p38 MAPK)通路可通过级联反应传递信号;上游激酶MAPK激酶激酶(MAP3K)和MAPK激酶(MAP2K)可通过活化环中苏氨酸和酪氨酸的双磷酸化激活p38 MAPK;活化后的p38可磷酸化细胞质和细胞核中的多种底物,引起蛋白质功能和基因表达的变化,从而执行炎症、凋亡、细胞分化和细胞周期调节等生物反应^[7]。

既往研究发现,p38 MAPK非经典通路参与BMPs和TGF- β 1协同诱导的人牙龈上皮细胞向成釉细胞分化的过程^[1]。Greenblatt等^[8]发现小鼠中p38 α 的上皮特异性缺失可导致牙尖形态和釉质分泌的缺陷。目前,p38 MAPK信号通路与釉质发育分子机制的研究尚不完全清楚。本研究通过将SB203580加入体外培养小鼠牙胚的培养基中,观察抑制小鼠牙胚中p38 MAPK信号通路对成釉上皮中釉质发育相关基因表达的影响,为p38 MAPK非经典信号通路与釉质发育分子机制的研究提供基础。

1 材料和方法

1.1 主要材料与仪器

本研究所用动物为出生2 d (Postnatal 2, PN2)

的ICR小鼠,购自哈尔滨医科大学附属第二医院实验动物中心,本实验通过哈尔滨医科大学附属第二医院伦理委员会审批。

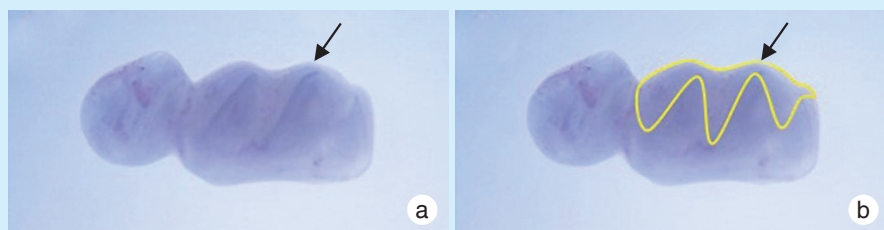
DMEM培养基(Hyclone,美国);青霉素(Sigma,美国);链霉素(Sigma,美国);SB203580(Sigma,美国);PBS缓冲液(索莱宝,中国);Trizol试剂(Invitrogen,美国);逆转录试剂盒(Takara,日本);SYBR Premix Ex Taq试剂盒(Takara,日本);BCA蛋白定量试剂盒(碧云天,中国);SDS-PAGE凝胶配制试剂盒(碧云天,中国);兔抗小鼠抗体:Pan-p38 (CST,美国);p-p38 (CST,美国);GAPDH (CST,美国);HRP标记的山羊抗兔二抗(索莱宝,中国)。

体视显微镜(SMZ445,谱锐西玛,中国);超净工作台(1300 SERIES A2, Thermo, 美国);细胞恒温孵育箱(371, Thermo, 美国);超高速低温离心机(Heraeus Multifuge X1R, Thermo, 美国);电泳仪(164-5050, BIO-RAD, 美国);电转仪(164-5050, BIO-RAD, 美国);恒温电子摇床(MAXQ 4450, Thermo, 美国);Western Blot显色仪(5200, 天能, 中国);实时定量PCR仪(QuantStudio 3, Thermo, 美国)。

1.2 方法

1.2.1 牙胚器官培养 体视显微镜下解剖出生2 d的ICR小鼠下颌第一磨牙牙胚(图1),将牙胚置于含有100 μ g/mL链霉素、100 U/mL青霉素和10%胎牛血清的DMEM培养基中,于细胞恒温孵育箱中培养24 h。

1.2.2 实验分组 根据处理条件不同,将培养基中加入20 μ mol/L DMSO溶解的SB203580处理后的



a: the arrow points to the enamel epithelium of the tooth germ; b: the area enclosed by the solid yellow line is the enamel epithelium of the mandibular first molar tooth germ

Figure 1 The appearance of the tooth germ of the mouse mandibular first molar 2 days after birth observed under a stereomicroscope

图1 体视显微镜下观察到出生2 d的小鼠下颌第一磨牙牙胚外观

牙胚作为实验组(SB203580组);培养基中加入等量DMSO处理的牙胚作为对照组(Control组),每组培养基内放置6~8个牙胚。培养完成后,在体视显微镜下于碳酸盐缓冲液中分别分离两组下颌第一磨牙牙胚的上皮和间充质,收集下颌第一磨牙牙胚的上皮组织并对其进行研究分析。

1.2.3 Western blot 使用RIPA裂解液分别提取匀浆处理后的SB203580组和对照组的总蛋白,采用BCA法测定蛋白浓度,制备蛋白样品。取30 μg蛋白样品加入制备完成的10% SDS-PAGE凝胶孔内,经电泳分离蛋白并转移至PVDF膜上,5%脱脂奶粉封闭2 h,加入p38(1:1 000)、p-p38(1:1 000)的一抗稀释液以及内参GAPDH(1:1 000),4℃孵育过夜,复温1 h后TBST洗涤,加入相应的二抗稀释液(1:5 000),室温孵育2 h,TBST洗膜后于化学发光显色仪上曝光、显影,采用Image J软件分析蛋白条带的灰度值。

1.2.4 实时定量PCR 采用Trizol法提取培养完成的下颌第一磨牙上皮组织中的RNA,紫外分光光度计测定RNA浓度。使用逆转录试剂盒将RNA逆转录为cDNA。根据SYBR® Premix Ex Taq™试剂盒说明书进行荧光定量PCR检测。Runt相关转录因子2(runt-related transcription factor 2, Runx2)、成骨细胞特异性转录因子(osterix, Osx)、牙成釉细胞相关蛋白(odontogenic ameloblast associated protein, ODAM)、釉成熟蛋白(amelotin, AMTN)、基质金属蛋白酶20(matrix metalloproteinase 20, MMP20)和激肽释放酶4(kallikrein 4, KLK4)引物由通用生物系统(安徽)有限公司合成,引物序列见表1。反应体系均为20 μL,具体组成如下:1 μL cDNA、上游引物和下游引物各1 μL、10 μL SYBR Green、7 μL DEPC

水。反应条件为:94℃ 1 min,95℃ 15 s,60℃ 30 s,40次循环。每个样品进行三次重复,结果采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法进行计算。

表1 实时定量PCR引物

Table 1 Primers for real-time PCR

Primers	Primer sequence, 5'-3'
Runx2	Forward: GAAATGCCTCCGCTGTTATG
	Reverse: GCTTCTGTCTGTGCCCTTCTTG
Osx	Forward: GGCCTCCTCTCTGCTTGAG
	Reverse: GGGCTGAAAGGTCAGCGTAT
ODAM	Forward: GCAATAGTTGGATCTATCCCAGA
	Reverse: GAATGCCAGTAGAAGGAAGCC
AMTN	Forward: TGAAGATTTGGGAGGCTAACG
	Reverse: CTGGGACCACTGAATGGACAG
MMP20	Forward: TGTCTAAGCTCAAGGTGCCCTGTT
	Reverse: TAAGTTGTCCATGTGGGTGCTGGA
KLK4	Forward: AACCTAAGGGACAGGGCAGT
	Reverse: GACAGTATCGGCCCTCAGGAA
GAPDH	Forward: TCCAGAACATCATCCCTGCCTCTA
	Reverse: ACAAAGTGCTCGTTGAGGGCAATG

Runx2: runt-related transcription factor 2; Osx: osterix; ODAM: odontogenic ameloblast associated protein; AMTN: amelotin; MMP20: matrix metalloproteinase 20; KLK4: kallikrein 4

1.3 统计学分析

采用GraphPad Prism 8.0软件进行数据分析,所有数据符合正态分布,数据以均数±标准差表示,组间比较采用独立样本t检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

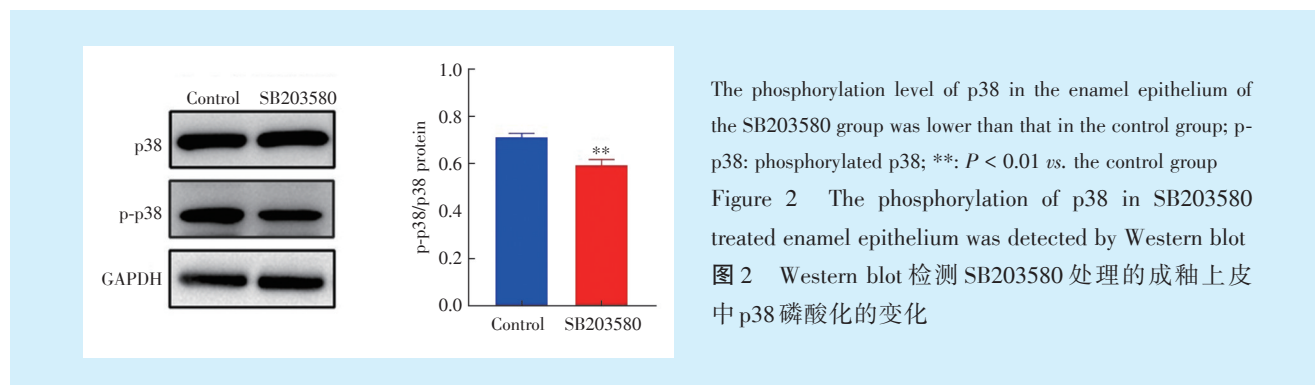
2 结果

2.1 p38 MAPK磷酸化水平的变化

Western blot结果显示,与未加入p38 MAPK抑

制剂SB203580的对照组相比,实验组的成釉上皮中p38 MAPK的磷酸化水平下降,差异有统计学意

义($P = 0.002$)(图2);表明SB203580可抑制小鼠牙胚成釉上皮中p38 MAPK的磷酸化。



2.2 转录因子 Runx2 和 OSX 的变化

实时定量PCR结果显示,与对照组相比,抑制剂SB203580处理后的成釉上皮中Runx2和Osx的mRNA表达水平下降,差异有统计学意义($P < 0.01$,表2);说明抑制p38磷酸化可以抑制牙胚发育过程中成釉上皮中转录因子Runx2和Osx的表达。

表2 实时定量PCR检测SB203580对成釉上皮中Runx2和Osx表达的影响

Table 2 Real-time PCR to detect the expression levels of Runx2 and Osx in the enamel epithelium treated with

Group	SB203580	$\bar{x} \pm s, n=3$
	Runx2	Osx
Control	1.00 ± 0.04	1.00 ± 0.10
SB203580	0.74 ± 0.07	0.60 ± 0.07
<i>t</i>	5.89	5.64
<i>P</i>	0.004	0.005

Runx2: runt-related transcription factor 2; Osx: Osterix

2.3 成釉细胞标志物的变化

实时定量PCR结果显示,与对照组相比,SB203580作用24h后,成釉上皮中的ODAM、AMTN、MMP20和KLK4的mRNA表达水平明显下降,差异有统计学意义($P < 0.05$,表3);表明在牙胚发育过程中,抑制剂SB203580可以负向调控成釉细胞标志物的表达。

3 讨论

釉质发育主要分为分泌和成熟两个功能阶段。分泌阶段,成釉细胞分泌釉原蛋白、成釉蛋白和釉蛋白等釉质基质蛋白进入釉质空间,同时分

表3 实时定量PCR检测SB203580对成釉上皮中ODAM、AMTN、MMP20和KLK4表达的影响

Table 3 Real-time PCR to detect the expression levels of ODA M, AMTN, MMP20 and KLK4 in the enamel epithelium treated with SB203580 $\bar{x} \pm s, n=3$

Group	ODAM	AMTN	MMP20	KLK4
Control	1.00 ± 0.10	1.00 ± 0.01	1.00 ± 0.04	1.00 ± 0.11
SB203580	0.39 ± 0.05	0.13 ± 0.01	0.52 ± 0.09	0.44 ± 0.01
<i>t</i>	7.445	69.87	8.629	8.847
<i>P</i>	0.018	< 0.001	0.001	0.001

ODAM: odontogenic ameloblast associated protein; AMTN: amelotin; MMP20: matrix metalloproteinase 20; KLK4: kallikrein 4

泌MMP20以降解加工釉质蛋白,使釉质晶体轴向生长。而成熟阶段的成釉细胞减少了釉质蛋白的表达,并分泌KLK4以清除釉质层中的釉质基质蛋白^[9],此时钙和磷酸盐在釉质空间内快速沉积于釉质晶体的侧面增加其宽度和厚度^[10],使釉质达到最终的矿化形式。研究发现,小鼠下颌第一磨牙的釉质形成开始于出生后1~2d,此时处于钟状晚期的下颌第一磨牙牙胚被认为是研究釉质发育的最佳时机^[11]。而从实验的可操作性上,出生2d小鼠的下颌第一磨牙牙胚更易于制取,因此本研究选择出生2d的ICR小鼠用于实验观察。

有研究表明,抑制剂SB203580已广泛应用于各种实验研究,其可通过与p38上的ATP位点竞争性结合,进而抑制p38 MAPK的催化活性^[12]。本实验采用p38 MAPK抑制剂SB203580对体外培养的小鼠下颌第一磨牙牙胚进行处理:Western blot结果显示,在抑制剂SB203580的作用下,成釉上皮中p38磷酸化蛋白表达下降,这说明SB203580阻断了小鼠牙胚成釉上皮中p38 MAPK信号通路;同时,

实时定量PCR结果表明,SB203580可抑制成釉上皮转录因子Runx2和Osx的表达。已有研究表明,小鼠中Runx2的靶向破坏可导致骨骼和牙齿发育停止^[13-14]。人体中Runx2遗传障碍会导致颅骨发育不良和牙齿异常^[15]。此外,Runx2可通过促进KLK4的合成抑制釉原蛋白、成釉蛋白和釉蛋白的合成^[16],进而调控釉质的成熟。同时,研究指出Runx2可通过直接与Amtn启动子内的Runx2位点结合而上调成釉细胞中Amtn基因表达,以调节釉质矿化^[17]。作为Runx2的下游靶点,Osx缺乏可导致牙齿发育过程中成釉细胞分化中断,这表明Osx是釉质发育所必需的^[18]。有研究发现p38 MAPK可通过调控Runx2和Osx的表达介导成骨细胞分化^[19-20]。因此,在牙胚发育过程中,p38 MAPK信号通路可能通过Runx2和Osx调节釉质的形成。

釉质蛋白ODAM可通过调节MMP20参与釉质的矿化^[21]。AMTN可通过促进羟基磷灰石沉积影响釉质表层的矿化^[22]。此外Amtn基因缺失小鼠的下颌切牙呈白垩色外观,且釉质表面粗糙不规则^[23]。过表达Amtn的转基因小鼠的釉质薄且结构紊乱^[24]。这表明釉质蛋白ODAM和AMTN在釉质形成中的具有重要作用。蛋白酶MMP20和KLK4可通过促进釉质蛋白去除,以释放釉质基质内的空间,这对正常牙釉质的形成至关重要^[25-26]。本研究结果显示,p38 MAPK抑制剂SB203580可下调成釉细胞标志物ODAM、AMTN、MMP20和KLK4的表达水平,这提示成釉上皮中p38 MAPK信号通路可能通过调控ODAM、AMTN、MMP20和KLK4的表达参与釉质发育。同时,本课题组前期研究发现,Bmp2和Bmp4上皮条件性缺失的小鼠表现为釉质生成不良且成釉细胞中MMP20和KLK4的表达下降^[27],但是否通过p38 MAPK非经典信号通路调控MMP20和KLK4的表达进而导致釉质生成不良,仍需进一步研究。此外,有研究称p38 MAPK途径可影响BMP的表达^[28-29]。本研究抑制牙胚成釉上皮中p38 MAPK信号通路对釉质发育相关基因表达的影响,但尚未探究p38 MAPK途径对牙胚成釉上皮中BMP表达的影响,因此本课题组后续将对此进行研究分析,以更深入探索p38 MAPK信号通路对釉质发育影响的机制。

本研究通过体外培养小鼠牙胚,发现p38 MAPK信号通路可通过调控成釉上皮中转录因子Runx2、Osx及成釉细胞标志物ODAM、AMTN、MMP20和KLK4的表达介导釉质发育,这为非经典

信号通路调控釉质发育的机制研究提供思路,也为预防和治疗发育缺陷或受损的釉质相关疾病提供依据。

[Author contributions] Luo XN wrote the article. Liu XH, Wang B, Liu X revised the article. Xie XH designed the study. All authors read and approved the final manuscript as submitted.

参考文献

- [1] Hyun SY, Mun S, Kang KJ, et al. Amelogenic transcriptome profiling in ameloblast-like cells derived from adult gingival epithelial cells[J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 3736. doi: 10.1038/s41598-019-40091-x.
- [2] Binder M, Biggs LC, Kronenberg MS, et al. Novel strategies for expansion of tooth epithelial stem cells and ameloblast generation[J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 4963. doi: 10.1038/s41598-020-60708-w.
- [3] Imhof T, Rosenblatt K, Prymachuk G, et al. Epithelial loss of mitochondrial oxidative phosphorylation leads to disturbed enamel and impaired dentin matrix formation in postnatal developed mouse incisor[J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 22037. doi: 10.1038/s41598-020-77954-7.
- [4] Song W, Wang Y, Chu Q, et al. Loss of transforming growth factor- β 1 in epithelium cells affects enamel formation in mice[J]. *Arch Oral Biol*, 2018, 96(96): 146-154. doi: 10.1016/j.archoralbio.2018.09.003.
- [5] Machiya A, Tsukamoto S, Ohte S, et al. Smad4-dependent transforming growth factor- β family signaling regulates the differentiation of dental epithelial cells in adult mouse incisors[J]. *Bone*, 2020, 137: 115456. doi: 10.1016/j.bone.2020.115456.
- [6] Malik Z, Alexiou M, Hallgrímsson B, et al. Bone morphogenetic protein 2 coordinates early tooth mineralization[J]. *J Dent Res*, 2018, 97(7): 835-843. doi: 10.1177/0022034518758044.
- [7] Martínez-Limón A, Joaquín M, Caballero M, et al. The p38 pathway: from biology to cancer therapy[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(6): 1913. doi: 10.3390/ijms21061913.
- [8] Greenblatt MB, Kim JM, Oh H, et al. p38 α MAPK is required for tooth morphogenesis and enamel secretion[J]. *J Biol Chem*, 2015, 290(1): 284-295. doi: 10.1074/jbc.M114.599274.
- [9] Ali S, Farooq I. A review of the role of amelogenin protein in enamel formation and novel experimental techniques to study its function[J]. *Protein Pept Lett*, 2019, 26(12): 880 - 886. doi: 10.2174/0929866526666190731120018.
- [10] Lacruz RS. Enamel: molecular identity of its transepithelial ion transport system[J]. *Cell Calcium*, 2017, 65(65): 1-7. doi: 10.1016/j.ceca.2017.03.006.
- [11] 董宁, 刘岩, 张田田, 等. ICR小鼠下颌第一磨牙牙胚发育的动态组织学观察[J]. *中国比较医学杂志*, 2017, 27(4): 63-68. doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2017.04.011.
Dong N, Liu Y, Zhang TT, et al. Establishment of first mandibular molar development of the time sequence in ICR mice[J]. *Chin J Comparat Med*, 2017, 27(4): 63 - 68. doi: 10.3969/j.issn.1671 - 7856.2017.04.011.

- [12] 赵振宇, 李影, 王港, 等. p38 丝裂原活化蛋白激酶对人乳牙牙髓干细胞成骨分化能力的影响[J]. 中华老年口腔医学杂志, 2019, 17(3): 129-134. doi: 10.19749/j.cn.cjgd.1672-2973.2019.03.001.
Zhao ZY, Li Y, Wang G, et al. Effect of p38 mitogen-activated protein kinase on osteogenic differentiation of human deciduous dental pulp stem cells[J]. Chin J Geriatric Dent, 2019, 17(3): 129-134. doi: 10.19749/j.cn.cjgd.1672-2973.2019.03.001.
- [13] Tosa I, Yamada D, Yasumatsu M, et al. Postnatal Runx2 deletion leads to low bone mass and adipocyte accumulation in mice bone tissues[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2019, 516(4): 1229-1233. doi: 10.1016/j.bbrc.2019.07.014.
- [14] Togo Y, Takahashi K, Saito K, et al. Antagonistic functions of USAG-1 and RUNX2 during tooth development[J]. PLoS One, 2016, 11(8): e0161067. doi: 10.1371/journal.pone.0161067.
- [15] Merametdjian L, Prud'homme T, Le CC, et al. Oro-dental phenotype in patients with RUNX2 duplication[J]. Eur J Med Genet, 2019, 62(2): 85-89. doi: 10.1016/j.ejmg.2018.05.019.
- [16] Chu Q, Gao Y, Gao X, et al. Ablation of Runx2 in ameloblasts suppresses enamel maturation in tooth development[J]. Sci Rep, 2018, 8(1): 9594. doi: 10.1038/s41598-018-27873-5.
- [17] Liu X, Wang Y, Zhang L, et al. Combination of Runx2 and Cbfb upregulates Amelotin gene expression in ameloblasts by directly interacting with cis enhancers during amelogenesis[J]. Mol Med Rep, 2018, 17(4): 6068-6076. doi: 10.3892/mmr.2018.8564.
- [18] Bae JM, Clarke JC, Rashid H, et al. Specificity protein 7 is required for proliferation and differentiation of ameloblasts and odontoblasts[J]. J Bone Mineral Res, 2018, 33(6): 1126-1140. doi: 10.1002/jbmr.3401.
- [19] Xiao WL, Zhang DZ, Fan CH, et al. Intermittent stretching and osteogenic differentiation of bone marrow derived mesenchymal stem cells via the p38MAPK - Osterix signaling pathway[J]. Cell Physiol Biochem, 2015, 36(3): 1015 - 1025. doi: 10.1159/000430275.
- [20] Ni S, Xiong XB, Ni XY. MgCl₂ promotes mouse mesenchymal stem cell osteogenic differentiation by activating the p38/Osx/Runx2 signaling pathway[J]. Mol Med Rep, 2020, 22(5): 3904-3910. doi: 10.3892/mmr.2020.11487.
- [21] Lee HK, Lee DS, Ryoo HM, et al. The odontogenic ameloblast-associated protein (ODAM) cooperates with RUNX2 and modulates enamel mineralization *via* regulation of MMP-20[J]. J Cell Biochem, 2010, 111(3): 755-767. doi: 10.1002/jcb.22766.
- [22] Abbarin N, San Miguel S, Holcroft J, et al. The enamel protein amelotin is a promoter of hydroxyapatite mineralization[J]. J Bone Miner Res, 2015, 30(5): 775-785. doi: 10.1002/jbmr.2411.
- [23] N  n  ez SM, Chun YP, Ganss B, et al. Maturation stage enamel malformations in Amtn and Klk4 null mice[J]. Matrix Biol, 2016, 52-54(2016): 219-233. doi: 10.1016/j.matbio.2015.11.007.
- [24] Lacruz RS, Nakayama Y, Holcroft J, et al. Targeted overexpression of amelotin disrupts the microstructure of dental enamel[J]. PLoS One, 2012, 7(4): e35200. doi: 10.1371/journal.pone.0035200.
- [25] Yamazaki H, Tran B, Beniash E, et al. Proteolysis by MMP20 prevents aberrant mineralization in secretory enamel[J]. J Dent Res, 2019, 98(4): 468-475. doi: 10.1177/0022034518823537.
- [26] Smith C, Kirkham J, Day PF, et al. A fourth KLK4 mutation is associated with enamel hypomineralisation and structural abnormalities[J]. Front Physiol, 2017, 8: 333. doi: 10.3389/fphys.2017.00333.
- [27] Xie X, Liu C, Zhang H, et al. Abrogation of epithelial BMP2 and BMP4 causes Amelogenesis Imperfecta by reducing MMP20 and KLK4 expression[J]. Sci Rep, 2016, 6: 25364. doi: 10.1038/srep25364.
- [28] GJ X, Cai S, Wu JB. Effect of insulin-like growth factor-1 on bone morphogenetic protein - 2 expression in hepatic carcinoma SMMC7721 cells through the p38 MAPK signaling pathway[J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2012, 13(4): 1183-1186. doi: 10.7314/apjcp.2012.13.4.1183.
- [29] Suto M, Nemoto E, Kanaya S, et al. Nanohydroxyapatite increases BMP-2 expression via a p38 MAP kinase dependent pathway in periodontal ligament cells[J]. Arch Oral Biol, 2013, 58(8): 1021-1028. doi: 10.1016/j.archoralbio.2013.02.014.

(编辑 罗燕鸿, 曾曙光)



官网



公众号