

# 牙囊细胞分化的调控机制

郭淑娟综述 吴亚菲审校

(四川大学华西口腔医院牙周科 四川 成都 610041)

[摘要] 牙囊细胞是一类具有异质性的细胞群,可分化形成牙周组织。调控牙囊细胞分化的机制十分复杂,上皮—间充质之间的相互作用扮演着重要的角色,其导致牙囊细胞分化相关基因的程序化表达过程又被一个包括多种细胞因子在内的分子调节网络控制。下面就牙囊细胞及其分化调节机制作一综述。

[关键词] 牙囊细胞; 分化; 赫特维希上皮根鞘; 骨形态发生蛋白; 釉基质蛋白衍生物

[中图分类号] Q 254 [文献标志码] A [doi] 10.3969/j.issn.1673-5749.2010.04.013

**Regulating mechanisms of dental follicle cells differentiation** GUO Shu-juan, WU Ya-fei. (Dept. of Periodontics, West China College of Stomatology, Sichuan University, Chengdu 610041, China)

[Abstract] Dental follicle cells are composed by a group of heterogeneous cells, that can differentiate to form the periodontium. The regulating mechanisms of cell differentiation is very complex. Epithelial to mesenchymal interactions play a critical role in dental follicle cells differentiation, which induce the programmed expression of differentiation-related genes. Meanwhile, the differentiation is regulated by a molecular network of various cytokines.

[Key words] dental follicle cell; differentiation; Hertwig epithelial root sheath; bone morphogenetic protein; enamel matrix derivative

牙囊细胞(dental follicle cell, DFC)既可发育形成牙周组织<sup>[1]</sup>,又可通过牙根处成骨和牙冠处骨吸收来协助牙的萌出<sup>[2]</sup>。DFC由含有干细胞异质性的细胞群组成<sup>[3-4]</sup>,具有自我更新和多向分化的潜能。自第三磨牙分离出的人DFC经体外诱导,可分别形成膜样结构和钙化结节,在严重免疫缺陷小鼠体内则可形成纤维状质地坚韧的组织<sup>[5]</sup>。Yao等<sup>[6]</sup>在体外诱导大鼠DFC分化为脂肪细胞和神经细胞的研究进一步证实,DFC源自间充质且有较强的分化潜能。有关DFC的研究对了解牙周组织的生长发育和牙萌出过程意义重大,DFC较强的增殖分化能力使其成为牙周组织工程的候选种子细胞<sup>[7]</sup>。因此,DFC分化的调节机制成为研究热点,下面就此作一综述。

## 1 上皮—间充质作用机制

随着牙根的发育,牙周组织也随之发生<sup>[8]</sup>。牙周组织生长发育的首要条件就是DFC分化为成骨细胞、成纤维细胞和成牙骨质细胞。细胞分化

的本质是特定基因活化的结果,上皮—间充质间的相互作用在其中扮演着重要的角色。上皮—间充质间的相互作用既可以是细胞与细胞之间的直接作用,也可以是细胞与基质之间的间接作用。两者均能诱导DFC分化相关基因的程序化表达,这一过程又被一个包括多种细胞因子在内的分子调节网络控制<sup>[9]</sup>。

### 1.1 细胞与细胞间的作用

细胞间相互作用依靠细胞间信息传递系统来实现,由于受细胞信号通路的复杂性和研究手段的限制,故具体机制尚不明确。MacNeil等<sup>[10-11]</sup>发现,只有牙囊而根部基膜或赫特维希上皮根鞘(Hertwig epithelial root sheath, HERS)缺失,则根部牙骨质无法形成,即HERS和根部基膜对DFC分化为成牙骨质细胞具有重要的作用。

在根部牙本质形成时,包绕牙根的HERS断裂形成网状。这时DFC穿过HERS,进入新形成牙根的牙本质表面并分化为成牙骨质细胞,在牙根表面和牙周膜周围分泌基质和胶原,形成原发性牙骨质。有人认为,原发性牙骨质是由HERS细胞分化形成的成牙骨质细胞产生的。原发性牙骨质形成期的部分成牙骨质细胞表达dlx-2基因,

[收稿日期] 2009-09-23; [修回日期] 2010-04-15

[作者简介] 郭淑娟(1982—),女,陕西人,博士

[通讯作者] 吴亚菲, Tel: 028-61153002

而此基因原本仅表达于牙根形成初期的根部上皮细胞,即形成原发性牙骨质的细胞来源不仅仅是 DFC,还有可能来源于 HERS<sup>[12]</sup>。Zeichner-David 等<sup>[13]</sup>发现,HERS 细胞最初合成且分泌一些釉基质蛋白,而后细胞形态发生改变并生成类似牙骨质基质的矿化性细胞外基质。他们推测,HERS 可通过分泌釉基质蛋白来诱导自身或者 DFC 分化形成成牙骨质细胞。

## 1.2 细胞与基质间的作用

细胞外基质(extracellular matrix, ECM)作为细胞生存的微环境,含有多种复杂的信号分子,在组织发育过程中间接调节细胞的增殖与分化。细胞与基质间的相互作用,即 ECM 中的一系列细胞因子对 DFC 分化的调节。骨形态发生蛋白(bone morphogenetic protein, BMP)在诱导牙周骨缺损修复和新骨形成方面有着积极的意义,而釉基质蛋白衍生物(enamel matrix derivative, EMD)则是一组来源于 HERS 的蛋白质,在 DFC 向牙周组织的发育分化中起重要的调控作用。

Zhao 等<sup>[14]</sup>发现, BMP-2 可以诱导 DFC 向成骨和牙骨质细胞分化,核心结合因子(core binding factor, cbf)- $\alpha$ 、骨涎蛋白(bone sialoprotein, BSP)和骨钙蛋白(osteocalcin, OC)mRNA 表达升高,细胞矿化能力增强。若以药物阻断促丝裂原激活蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)途径,矿化相关蛋白表达不升高,则说明 BMP-2 调节 DFC 分化可能是通过 MAPK 途径来实现的。在 EMD 中存在着 BMP-2、7,而以 BMP-2、7 诱导人 DFC 可产生与 EMD 类似的结果<sup>[15]</sup>。BMP-2、7 或 EMD 作用 24 h 后,DFC 内源性 BMP-2、7 表达均升高,碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, AKP)活性和钙化物沉积明显增强,并且表达牙骨质附着蛋白(cementum attachment protein, CAP)和牙骨质蛋白(cementum protein, CP)-23。头蛋白(noggin)可阻断 BMP 信号通路中 Smad-1 的磷酸化,但不能完全阻断 MAPK 信号通路,说明 EMD 中含有除 BMP 之外的可以诱导细胞分化的分子,这些分子可通过 MAPK 通路或其他途径诱发细胞的分化。

除此以外, I 型胶原(collagen type I, Col-I)对 DFC 向矿化细胞分化也有促进作用。将 Col-I 作用于 DFC,细胞的增殖能力和 AKP 活性增强,矿化相关的基因表达升高;体内植入 Col-I 后,有少量钙化物形成<sup>[16]</sup>。在牙骨质形成的

初期,DFC 与根部牙本质的接触也有可能诱导细胞分化<sup>[17]</sup>。经牙本质非胶原蛋白(dentin non-collagenous protein, dNCP)诱导后的 DFC,形态发生变化,增殖能力下降,矿化相关基因与蛋白水平均升高。这说明 dNCP 可诱导 DFC 分化形为具有矿化性质的细胞,而非成牙本质细胞。将经 dNCP 处理的细胞团移植入裸鼠体内则生成大量的牙骨质样组织,这为研究牙周组织的形成机制提供了一条新线索。

## 2 基因调控机制

### 2.1 成骨向分化

Morszeck 等<sup>[18]</sup>利用地塞米松和胰岛素诱导 DFC 骨向分化,在分析诱导后 DFC 表达成骨和成牙骨质细胞相关基因的情况时发现, oc、bmp-2 和巢蛋白(nestin)基因表达均升高,而 bsp 基因表达降低, cbf- $\alpha_1$  基因表达无变化。此后他们又具体研究了骨向分化相关基因 cbf- $\alpha_1$ 、成骨细胞特异性转录因子(osterix, osx)、c-fos、以及 dlx-3、5 和 msx-2 的表达情况,结果 DFC 与骨髓间充质干细胞骨向分化时的基因表达存在明显差异,而且可能拥有不同的调控基因<sup>[19]</sup>。Jin 等<sup>[20]</sup>利用 DNA 微阵列技术检测骨向诱导分化后的 dfc 基因表达情况,并且在选出 7 种具有明显差异的基因进行 RT-PCR 验证之后发现, col- $\alpha_1$  基因表达升高大于 10 倍, akp、bmp 和其他型胶原基因表达显著升高,转化生长因子- $\beta$  与成纤维细胞生长因子则显示差别表达趋势。上述研究为研究 DFC 骨向分化提供了一些有价值的候选基因,但其具体的调节机制仍需要进一步的研究证实。

### 2.2 成牙骨质向分化

虽然成牙骨质细胞和成骨细胞同属具有矿化性质的细胞,但两者间还是存在着一定的差别。成牙骨质细胞可特异性地合成并分泌 CAP 到周围细胞外基质中,促进 DFC 的黏附、分化和牙骨质的形成<sup>[21]</sup>。因此, CAP 可作为成牙骨质细胞的标志物来与成骨细胞相鉴别。BMP-2、7 以及 EMD 均可作用于 DFC,使其 AKP 活性和钙化物沉积明显增强,并表达 CAP 和 CP-23<sup>[15]</sup>。将 DFC 移植于严重免疫缺陷大鼠体内,可形成牙骨质样组织,细胞外基质中的 cap、bsp、oc、col-I 和骨桥蛋白(osteopontin, opn)等基因表达均升高<sup>[22]</sup>。

### 2.3 成纤维向分化

Yokoi 等<sup>[23]</sup>建立成纤维向分化的大鼠永生系

DFC 株, 结果细胞表达 Scleraxis、GDF-5、EphA-4、Six-1 和 Col-1 类似于腱前体细胞。体外移植亦可形成牙周膜样结构且表达 periostin、Scleraxis 和 Col-1。其中, periostin 仅表达于终末分化的牙周膜细胞, 说明牙周膜前体细胞存在着 DFC 群; 而 Scleraxis 最初为腱前体细胞分化相关的一种标志物, 此次试验在 DFC 中检测到高表达的 Scleraxis, 说明其可能与 DFC 成纤维向分化相关。Kim 等<sup>[24]</sup>认为 DFC 保持成纤维向分化而不发生矿化, 缘于 BMP-4 与头蛋白间的相互作用, 而头蛋白抑制了 BMP-4 的表达。牙周膜相关蛋白-1 在 DFC 和牙周膜细胞特异性表达, 抑制 BMP-2 诱导的细胞骨向分化, 起着负性调节牙周膜细胞分化与矿化的作用<sup>[25]</sup>。

### 3 参考文献

[1] Ten Cate AR. The development of the periodontium: A largely ectomesenchymally derived unit[J]. *Periodontol* 2000, 1997, 13:9-19.

[2] Wise GE, Frazier-Bowers S, D'Souza RN. Cellular, molecular and genetic determinants of tooth eruption[J]. *Crit Rev Oral Biol Med*, 2002, 13(4):323-334.

[3] 葛少华, 李德懿, 杨丕山. 小鼠牙囊细胞的体外分离培养鉴定及异质性研究[J]. *上海口腔医学*, 2004, 13(6):506-509.

[4] Luan X, Ito Y, Dangaria S, et al. Dental follicle progenitor cell heterogeneity in the developing mouse periodontium[J]. *Stem Cells Dev*, 2006, 15(4):595-608.

[5] Morszeck C, Götz W, Schierholz J, et al. Isolation of precursor cells(PC) from human dental follicle of wisdom teeth[J]. *Matrix Biol*, 2005, 24(2):155-165.

[6] Yao S, Pan F, Prpic V, et al. Differentiation of stem cells in the dental follicle[J]. *J Dent Res*, 2008, 87(8):767-771.

[7] Morszeck C, Schmalz G, Reichert TE, et al. Somatic stem cells for regenerative dentistry[J]. *Clin Oral Investig*, 2008, 12(2):113-118.

[8] Bosshardt DD, Schroeder HE. Cementogenesis reviewed: A comparison between human premolars and rodent molars[J]. *Anat Rec*, 1996, 245(2):267-292.

[9] Thesleff I, Mikkola M. The role of growth factors in tooth development[J]. *Int Rev Cytol*, 2002, 217:93-135.

[10] MacNeil RL, Thomas HF. Development of the murine periodontium. Role of basement membrane in formation of a mineralized tissue on the developing root dentin surface[J]. *J Periodontol*, 1993, 64(2):95-102.

[11] MacNeil RL, Thomas HF. Development of the murine periodontium. Role of the epithelial root sheath in formation of the periodontal attachment[J]. *J Periodontol*, 1993, 64(4):285-291.

[12] Lézot F, Davideau JL, Thomas B, et al. Epithelial Dlx-2 homeogene expression and cementogenesis[J]. *J Histochem Cytochem*, 2000, 48(2):277-284.

[13] Zeichner-David M, Oishi K, Su Z, et al. Role of Hertwig's epithelial root sheath cells in tooth root development[J]. *Dev Dyn*, 2003, 228(4):651-663.

[14] Zhao M, Xiao G, Berry JE, et al. Bone morphogenetic protein 2 induces dental follicle cells to differentiate toward a cementoblast/osteoblast phenotype[J]. *J Bone Miner Res*, 2002, 17(8):1441-1451.

[15] Kémoun P, Laurencin-Dalicieux S, Rue J, et al. Human dental follicle cells acquire cementoblast features under stimulation by BMP-2/-7 and enamel matrix derivatives (EMD) *in vitro*[J]. *Cell Tissue Res*, 2007, 329(2):283-294.

[16] Tsuchiya S, Honda MJ, Shinohara Y, et al. Collagen type matrix affects molecular and cellular behavior of purified porcine dental follicle cells[J]. *Cell Tissue Res*, 2008, 331(2):447-459.

[17] Wu J, Jin F, Tang L, et al. Dentin non-collagenous proteins(dNCP) can stimulate dental follicle cells to differentiate into cementoblast lineages[J]. *Biol Cell*, 2008, 100(5):291-302.

[18] Morszeck C, Moehl C, Götz W, et al. *In vitro* differentiation of human dental follicle cells with dexamethasone and insulin[J]. *Cell Biol Int*, 2005, 29(7):567-575.

[19] Morszeck C. Gene expression of runx2, Osterix, c-fos, DLX-3, DLX-5, and MSX-2 in dental follicle cells during osteogenic differentiation *in vitro*[J]. *Calcif Tissue Int*, 2006, 78(2):98-102.

[20] Jin ZL, Zhang YK, Sun HY, et al. Osteogenic-related gene expression profiles of human dental follicle cells induced by dexamethasone[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2008, 29(9):1013-1020.

[21] Saito M, Iwase M, Maslan S, et al. Expression of cementum-derived attachment protein in bovine tooth germ during cementogenesis[J]. *Bone*, 2001, 29(3):242-248.

[22] Handa K, Saito M, Yamauchi M, et al. Cementum matrix formation *in vivo* by cultured dental follicle cells[J]. *Bone*, 2002, 31(5):606-611.

[23] Yokoi T, Saito M, Kiyono T, et al. Establishment of immortalized dental follicle cells for generating periodontal ligament *in vivo*[J]. *Cell Tissue Res*, 2007, 327(2):301-311.

[24] Kim JY, Cho SW, Hwang HJ, et al. Evidence for expansion-based temporal BMP4/NOGGIN interactions in specifying periodontium morphogenesis[J]. *Cell Tissue Res*, 2007, 330(1):123-132.

[25] Yamada S, Tomoeda M, Ozawa Y, et al. PLAP-1/aspirin, a novel negative regulator of periodontal ligament mineralization[J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(32):23070-23080.