

网络出版时间:2023-06-27 14:20:07 网络出版地址:https://kns.cnki.net/kcms2/detail/34.1065.R.20230626.0958.009.html

人牙源性间充质干细胞成骨分化潜能的比较

付贵强¹, 邹多宏^{1,2}

摘要 **目的** 比较人根尖乳头干细胞(SCAPs)、牙髓间充质干细胞(DPSCs)和牙槽骨间充质干细胞(ABMSCs)的体外成骨分化能力。**方法** 取智齿和牙槽骨组织,分别提取根尖乳头干细胞、牙髓和牙槽骨间充质干细胞,待细胞贴壁后传代。在显微镜下观察原代和P3代的细胞形态;流式细胞仪检测细胞免疫表型;实时荧光定量PCR(qRT-PCR)和Cell Counting Kit-8试剂盒分析细胞的衰老状态和增殖能力;成骨诱导后进行碱性磷酸酶(ALP)和茜素红染色以及qRT-PCR检测成骨相关基因比较成骨能力。**结果** 3种细胞形态无明显差异,呈现成纤维细胞形态,长梭形,传代后细胞形态光滑一致;3种细胞无衰老差异,均保持稳定增殖能力,SCAPs的增殖能力明显高于其他2种细胞,ABMSCs的增殖能力较弱;7 d和14 d成骨诱导后ALP染色和茜素红染色表明ABMSCs的成骨能力明显强于SCAPs和DPSCs;qRT-PCR检测显示ABMSCs的成骨相关基因升高最为显著。**结论** SCAPs、DPSCs和ABMSCs具有稳定的生物学性能,均可进行成骨分化,ABMSCs体外成骨能力强于DPSCs和SCAPs。

关键词 成骨分化;牙髓干细胞;根尖乳头干细胞;牙槽骨干细胞

中图分类号 R 782

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2023)07-1119-07
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2023.07.010

骨缺损是一种骨质缺失导致骨不连或不愈合进而引起功能障碍疾病^[1]。引起骨缺损常见的原因有创伤、炎症和肿瘤等^[2]。一般轻微的骨缺损可以由自身组织修复再生,但是严重骨缺损超越了自身愈合的极限,必须采用骨移植或生物材料促进缺损修复。因此,开发一种新型骨移植系统,包括理想的支架材料及优异的种子细胞^[3]等,在组织工程中尤为重要。间充质干细胞是组织工程中最有潜力的种

子细胞。随着研究的深入,越来越多的口腔来源间充质干细胞被发现^[4],这些干细胞与骨髓间充质干细胞有着类似的细胞表面标志物、克隆增殖能力和多向分化潜能,已被研究应用于骨、血管、神经等疾病。

人根尖乳头干细胞(human apical papilla stem cells, SCAPs)、牙髓间充质干细胞(dental pulp mesenchymal stem cells, DPSCs)和牙槽骨间充质干细胞(alveolar bone mesenchymal stem cells, ABMSCs)取材便宜、易培养,能够稳定传代扩增,可以作为组织工程中优异的种子细胞库。为了研究三者之间的差异,该实验通过衰老检测、细胞增殖实验、成骨诱导后染色和成骨相关基因检测来研究3种细胞之间的异同。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器 I型胶原酶(美国西格玛公司),胎牛血清(中国赛默飞世尔科技有限公司),青-链霉素、ALP染色试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司),0.25%胰蛋白酶(上海碧云天生物技术有限公司),CD24、CD90、CD34、CD73(美国博奥派克生物科技有限公司),RNAiso Plus(北京宝日生物技术有限公司),CCK-8试剂(日本同仁化学研究所),成骨诱导培养基(苏州赛业生物科技有限公司),SYBR Green master mix(上海弈圣生物科技有限公司),LightCycler 96(瑞士罗氏公司),酶标仪(美国赛默世尔科技有限公司)。

1.2 细胞分离与培养 供体年龄为14~20岁,采来自第3磨牙的健康牙齿和牙槽骨。将牙根面牙髓组织、根尖乳头组织用磷酸盐缓冲液(PBS)冲洗后剪成小块,分离培养DPSCs和SCAPs。用3 mg/ml I型胶原酶消化,在37℃下孵育40 min。1 200 r/min离心5 min,重悬于含20%胎牛血清和100 U/ml青-链霉素的 α -MEM培养基中。随后将牙槽骨夹碎成小块,接种在上述培养基的培养皿中。将细胞在37℃含5% CO₂的细胞培养箱中孵育。在约80%融合时,用0.25%胰蛋白酶消化分离细胞,并按1:3传代。培养基每3 d更换1次,取第3代细

2023-03-21 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:32171347)

作者单位:¹安徽医科大学口腔医学院,安徽医科大学附属口腔医院,安徽省口腔疾病研究重点实验室,合肥 230032

²上海交通大学医学院附属第九人民医院·口腔医学院口腔外科,上海市口腔医学重点实验室,上海 200001

作者简介:付贵强,男,硕士研究生;

邹多宏,男,教授,副主任医师,博士生导师,责任作者, E-mail: zdhyy@ahmu.edu.cn

胞进行实验。

1.3 流式检测 用胰蛋白酶消化收集第3代细胞, 1 200 r/min 离心 5 min, 然后用 PBS 重悬细胞转移到测试管中。使用 FITC 偶联 CD24、CD90 和 PE 偶联 CD34、CD73 以及相应的同型抗体作为对照, 避光孵育 30 min, 收集到流式细胞仪中, 用 CytExpert 软件对结果进行分析。

1.4 细胞衰老检测 当第2代细胞生长至 90% 时, 胰酶消化离心。新鲜培养基重悬计数, 按照 2×10^5 个/孔的密度将细胞接种在 6 孔板中。待细胞生长至 90% 时吸弃培养基, PBS 清洗 2 次, 加入 RNAiso Plus 裂解细胞, 提取 RNA。

1.5 细胞增殖 当第2代细胞生长至 90% 时, 胰酶消化离心。新鲜培养基重悬计数, 按照 1 500 个/孔的密度将细胞接种在 96 孔板中, 设置 3 个复孔, 每孔加入 10 μ l 的 CCK-8 试剂 37 $^{\circ}$ C 孵育 2 h, 接种细胞 24 h 后用酶标仪检测 450 nm 波长下的吸光度, 连续检测 7 d, 绘制生长曲线。

1.6 成骨分化 在 6 孔板中以 2×10^5 个/孔接种 3 种细胞, 用含 10% 胎牛血清的 α -MEM 培养, 当细胞达到 60% 融合时, 更换成骨诱导培养基, 每 3 d 更换新鲜的培养基, 诱导 14 d。

1.7 ALP 染色和茜素红染色 成骨诱导 7 d 后, 按照 ALP 染色试剂盒染色, PBS 清洗 2 次, 加入染色固定液固定 15 min, PBS 清洗 2 次, 加入染色液, 避光孵育 10 min 后 PBS 清洗 2 次。使用扫描仪捕捉数字图像。吸弃培养基, PBS 清洗 2 次, 加入 RNAiso Plus 裂解细胞, 提取 RNA。

1.8 茜素红染色 诱导成骨 14 d 后, PBS 清洗 2 次, 加入染色固定液固定 15 min, PBS 清洗 2 次, 加入染色液染色 5 min, PBS 清洗 2 次。使用扫描仪捕捉数字图像。吸弃培养基, PBS 清洗 2 次, 加入 RNAiso Plus 裂解细胞, 提取 RNA。

1.9 提取 RNA 和实时荧光定量 PCR (qRT-PCR)

用 RNAiso Plus 提取 RNA。使用酶标仪检测 RNA 浓度和纯度。用 Yeasen 逆转录试剂盒合成 cDNA, 使用 SYBR Green master mix 和 LightCycler 96 进行 qRT-PCR。引物序列在表 1 中列出。各基因的相对表达量以 GAPDH RNA 归一化得到的 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 值作为对照。

1.10 统计学处理 采用 SPSS 18.0 和 GraphPad Prism 9.2.0 软件进行统计分析和作图, 所有数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 至少重复 3 次实验, 3 组以上差异采用单因素方差分析 (ANOVA) 对各组所得的结果进行

分析, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

表 1 qRT-PCR 引物序列

基因	引物序列 (5' - 3')
GAPDH	F: GGAGCGAGATCCCTCCAAAAT R: GGCTGTTGTCATCTTCTCATGG
p16	F: GATCCAGGTGGGTAGAAGGTC R: CCCCTGCAAACTTCGTCCT
p21	F: TGTCCGTCAGAACCCATGC R: AAAGTCGAAGTTCATCGCTC
p53	F: AATCTACTGGGACGGAACAGCTTTGAGG R: GGAGAGGAGCTGCTGTTGTTGGG
ALP	F: AACATCAGGGACATTGACGTG R: GTATCTCGGTTTGAAGCTCTTCC
OSX	F: CCTCTGCGGGACTCAACAAC R: AGCCCATTAGTGCTGTAAAGG
COL-1	F: GAGGGCCAAGACGAAGACATC R: CAGATCACGTCATCGACAAC
OPN	F: GAAGTTTCGACAGACCTGACAT R: GTATGCACCATTCAACTCCTCG
OCN	F: GGCGCTACCTGTATCAATGG R: GTGGTCAGCCAACCTCGTCA

2 结果

2.1 SCAPs、DPSCs 和 ABMMSCs 的细胞形态

提取 3 种细胞的原代, 在培养基中传代扩增, 用倒置显微镜观察 P0 和 P3 代细胞形态。P0 代细胞从组织块中爬出, 成放射状生长, 细胞的形态类似成纤维细胞, 长梭形, 密度较高时表现为漩涡状。传代后细胞形态光滑, 继续保持成纤维细胞样外观, 3 种细胞的形态无明显差异。见图 1。

2.2 流式结果分析 数据显示内皮细胞和造血干细胞表面标志物 CD24 和 CD34 为低表达, 而间充质干细胞表面抗原标志物 CD73 和 CD90 呈现高表达 (图 2)。该结果表明提取的 3 种细胞均为间充质干细胞, 细胞免疫表型无明显差异。

2.3 衰老相关基因检测 图 3 显示 qRT-PCR 检测结果表明, 衰老相关基因 p16 ($F = 3.386$, $P = 0.1037$)、p21 ($F = 4.004$, $P = 0.0786$)、p53 ($F = 1.997$, $P = 0.2164$) 在 3 种细胞的表达差异无统计学意义。说明体外培养的 P2 代 3 种细胞状态良好, 无衰老差异。

2.4 患者 SCAPs、DPSCs 和 ABMMSCs 增殖能力曲线 用 P3 代的 SCAPs、DPSCs 和 ABMMSCs 连续测量 7 d 的吸光度, 如图 4 显示, 3 种细胞在前 3 d 的生长能力相似, 但在 5 d 后 DPSCs 和 SCSPs 的增长能力明显高于 ABMMSCs, 且 SCAPs 的生长快于

DPSCs, 说明 SCAPs 具有很强的生长潜力, 而 ABMMSCs 的增殖能力较弱, 见图 4。5 d ($F = 105.5, P < 0.0001$), 6 d ($F = 26.53, P < 0.001$), 7 d ($F = 197.4, P < 0.0001$)。

2.5 成骨诱导和相关基因检测 成骨诱导 7 d 后进行 ALP 染色, ABMMSCs 的蓝色范围最广, 染色最

深, DPSCs 次之, SCAPs 染色最浅(图 5A)。诱导 3 周后茜素染色与 7 d 的 ALP 染色一致, ABMMSCs 红色最深, SCAPs 与其他 2 种细胞相比染色较少(图 5B), 且在显微镜下观察细胞形成红色矿物质结节, ABMMSCs 明显多于 SCAPs 和 DPSCs(图 6)。qRT-PCR 结果表明成骨诱导 7 d 和 14 d 后 ALP、OSX、

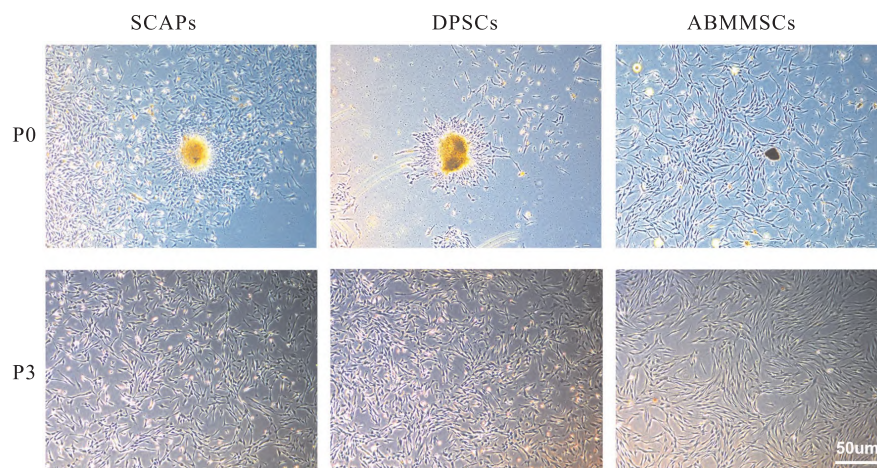


图1 SCAPs、DPSCs 和 ABMMSCs 原代和 P3 代细胞的形态特征 ×40

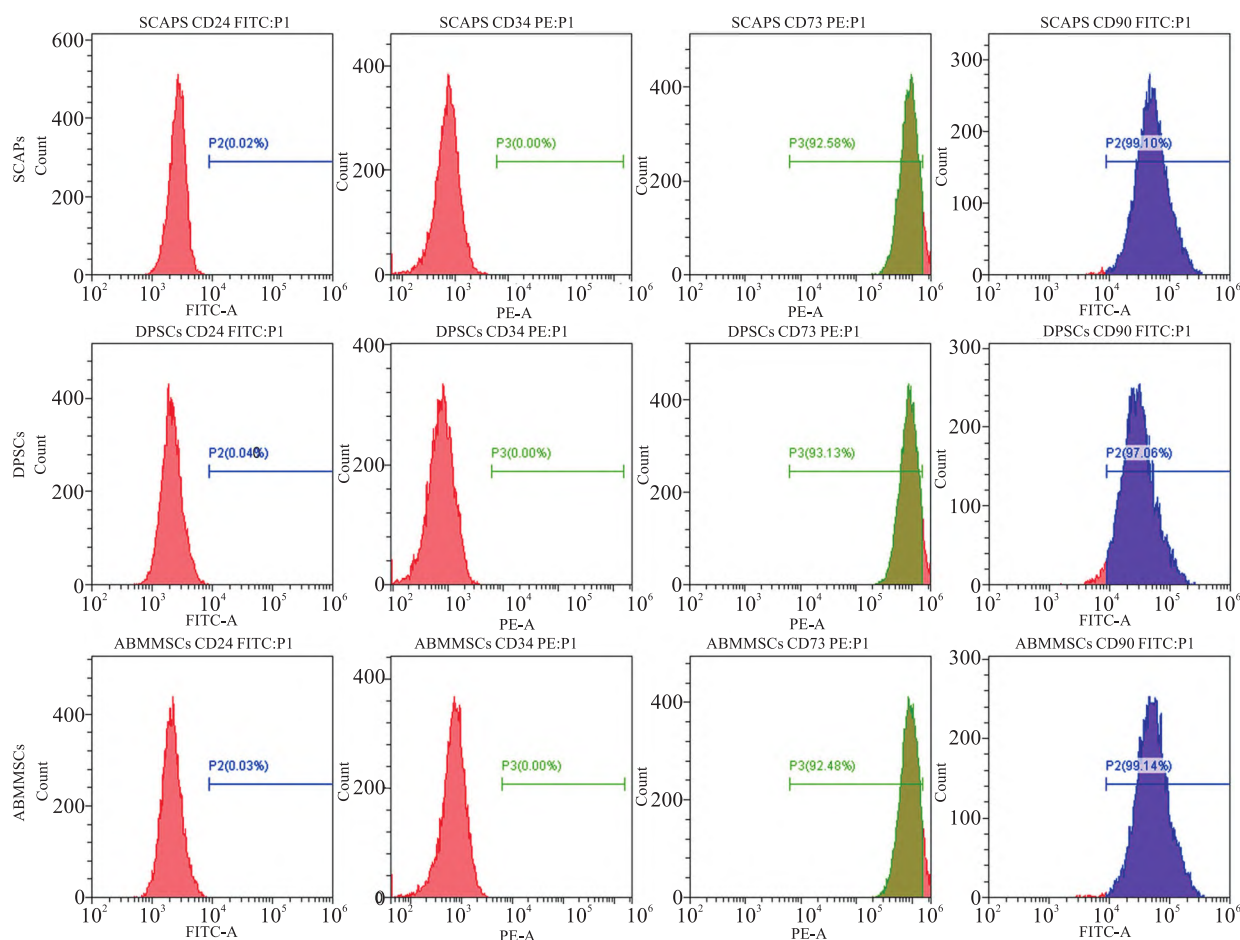


图2 SCAPs、DPSCs 和 ABMMSCs 表面抗原标志物的表达

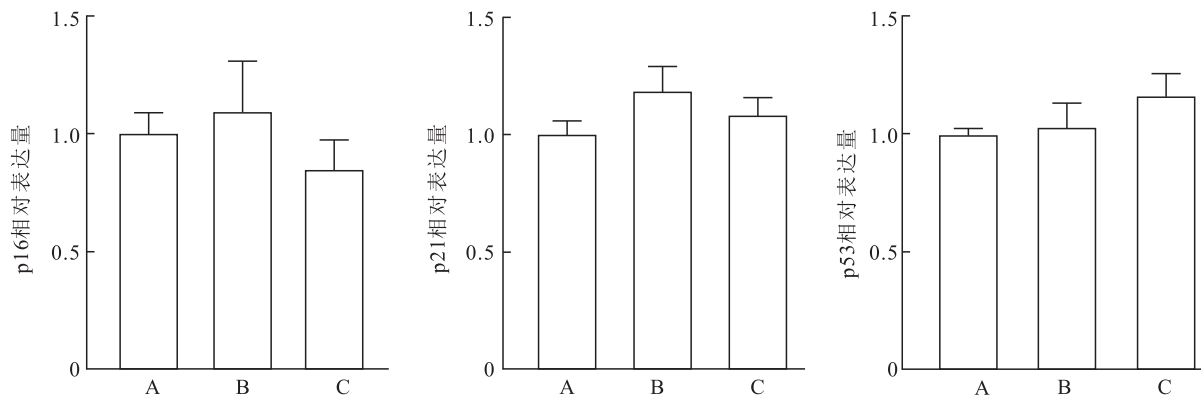


图3 3种细胞衰老相关基因的表达
A: SCAPs 组; B: DPSCs 组; C: ABMMSCs 组

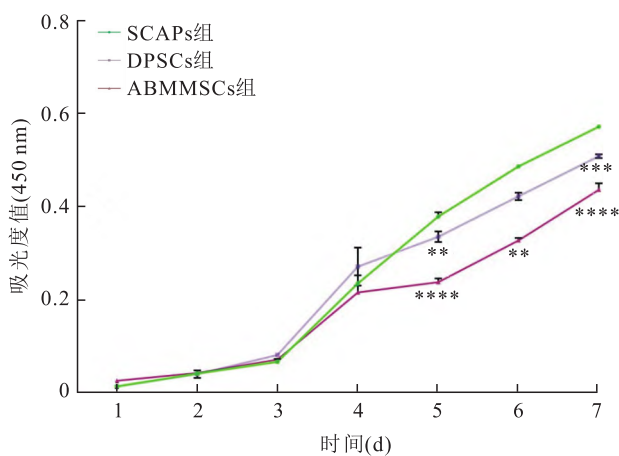


图4 第三代 SCAPs、DPSCs 和 ABMMSCs 的增殖曲线
与 SCAPs 组比较: ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$

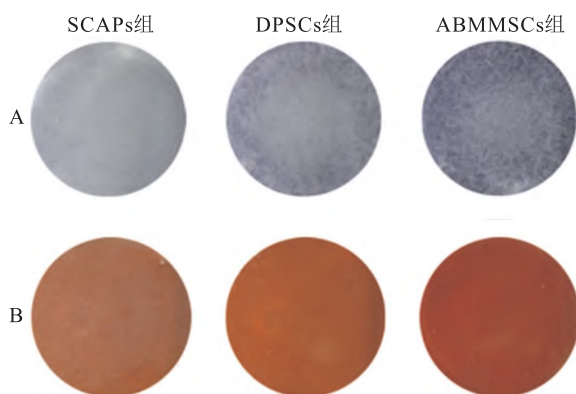


图5 3种细胞成骨诱导7 d和14 d后 ALP 和茜素红染色
A: ALP 染色; B: 茜素红染色

COL-1、OCN、OPN 在 ABMMSCs 中的表达均高于其他 2 种细胞, DPSCs 次之, SCAPs 中上述成骨基因的表达在 3 种细胞中的表达最低(图 7)。ALP ($F = 523.8, P < 0.0001$), OSX ($F = 21.17, P < 0.0019$),

COL-1 ($F = 51.35, P < 0.0002$), OCN ($F = 638.6, P < 0.0001$), OPN ($F = 2659, P < 0.0001$)。

3 讨论

间充质干细胞在再生医学骨组织工程的相关研究中已得到了广泛的应用^[5-10]。但不同的间充质干细胞有着不同的分化潜能和特性,因此挑选合适的干细胞作为种子细胞尤为重要。

该实验主要研究作为骨组织工程的种子细胞 SCAPs、DPSCs 和 ABMMSCs 在体外生物学特性方面的不同。将来自 14~20 岁供体的牙齿和牙槽骨通过酶消化-组织块法提取原代 SCAPs、DPSCs 和 ABMMSCs。经过体外传代培养后,细胞生长旺盛,类似成纤维细胞,形态均一稳定。流式细胞术检测造血干细胞表面标志物 CD34 阴性, CD90 和 CD73 阳性率高达 90% 以上。说明此方法分离得到的细胞符合间充质干细胞的标准。

骨组织工程需要大量的细胞,因此,细胞状态和增殖能力关系到其在组织工程中的治疗效果。细胞衰老是指细胞出现持续性的周期阻滞^[11],其中衰老相关标志物 p53、p21、p16 发挥重要的作用。肿瘤抑制因子 p53 介导的 DNA 损伤反应(DDR)通路在细胞对基因组不稳定性的内在反应中发挥重要作用,包括短暂的细胞周期阻滞、衰老和凋亡, p21 和 p16 作为一种细胞周期依赖性激酶抑制剂阻碍细胞周期加速衰老进程^[12-13]。该实验通过 qRT-PCR 检测了 3 种细胞的衰老相关标志物 p53、p21、p16 的表达,结果显示三者之间无显著差异,表明 P2 代的 3 种细胞之间状态一致。贴壁培养后连续 7 d 检测 3 种间充质干细胞的增殖能力。结果显示所有间充质干细胞在第 3 天均达到对数生长期,此后快速生长,

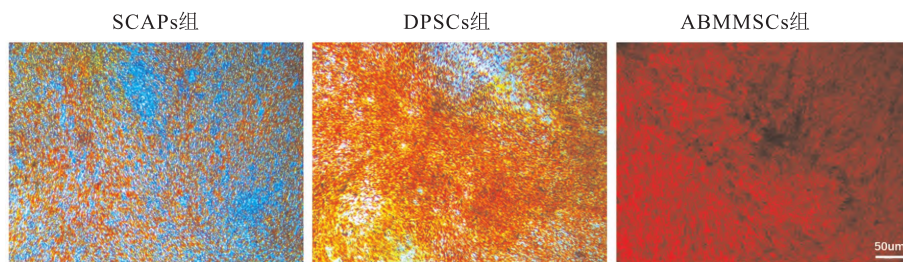


图6 茜素红染色镜下观察 ×40

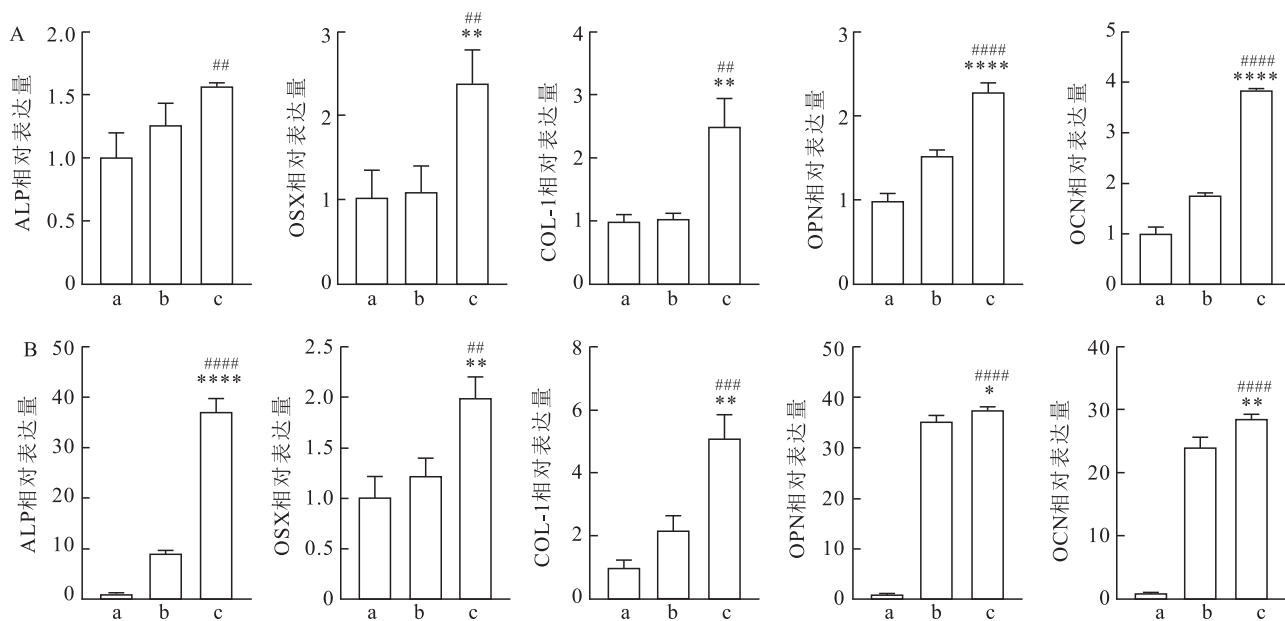


图7 qPCR 定量检测成骨诱导 7 d 和 14 d 后成骨相关标志物表达

A: 成骨诱导 7 d; B: 成骨诱导 14 d; a: SCAPs 组; b: DPSCs 组; c: ABMMSCs 组; 与 SCAPs 组比较: ## $P < 0.01$, ### $P < 0.001$, #### $P < 0.0001$; 与 DPSCs 组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.0001$

SCAPs 生长速度最快, DPSCs 次之, ABMMSCs 生长最慢。

作为骨组织工程的种子细胞, 其成骨分化能力也发挥重要的作用。为了进一步探究 SCAPs、DPSCs 和 ABMMSCs 3 种细胞成骨能力的差异, 该实验设计了体外成骨诱导实验。成骨诱导 7 d 后, ALP 染色可见, ABMMSCs 的染色范围最广, 颜色最深, 其次是 DPSCs, SCAPs 的染色最浅。诱导 14 d 后进行茜素红染色, 与 ALP 染色一致, ABMMSCs 染色最强, SCAPs 染色最弱。镜下观察在成骨诱导过程中细胞外基质形成矿物质结节, 其中 ABMMSCs 形成的钙结节最多, 对成骨分化诱导最为敏感。ALP、OSX、COL-1、OCN、OPN 是成骨分化过程中重要的调控因子^[14-15]。通过在转录水平上分析这些标志物的表达进一步探究三者之间成骨分化的能力。ALP 是成骨细胞合成矿化骨基质的早期经典标志物, 是反映成骨分化程度的良好指标; 成骨分化过程中的

关键调节因子 OSX 特异性表达于成骨细胞, 并调控成骨标志物的表达; I 型胶原 COL-1 是骨基质中主要的胶原成分; 骨钙素 (OCN)、骨桥蛋白 (OPN) 是成骨后期指标; 这些因子可以相互协同共同促进成骨分化。qRT-PCR 检测显示, 7 d 成骨诱导后 ABMMSCs 中 ALP 的表达水平最高, SCAPs 最低, 随着诱导至 14 d, 差异更加显著, OSX 和 COL-1 也表现出类似的趋势。晚期指标 OCN 和 OPN 在 14 d 诱导后达到较高水平, 且 ABMMSCs 和 DPSCs 中的表达量显著高于 SCAPs。

以上研究结果表明, 口腔来源的 3 种细胞体外培养扩增后状态良好, 均可保持稳定的增殖能力。SCAPs 相比 DPSCs 和 ABMMSCs 更容易生长扩增, 但是体外成骨诱导后显示, ABMMSCs 的成骨能力较强, 表明该细胞治疗骨相关疾病更有效, 是骨组织工程最为理想的种子细胞。该结果为临床上培养和选用种子细胞提供了理论支持, 未来还需要开展更多

的体内研究为最佳种子细胞的临床应用奠定基础。

参考文献

- [1] El-Rashidy A A, Roether J A, Harhaus L, et al. Regenerating bone with bioactive glass scaffolds: a review of *in vivo* studies in bone defect models[J]. *Acta Biomater*, 2017,62:1–28.
- [2] Majidinia M, Sadeghpour A, Yousefi B. The roles of signaling pathways in bone repair and regeneration[J]. *J Cell Physiol*, 2018,233(4):2937–48.
- [3] Shang F, Yu Y, Liu S, et al. Advancing application of mesenchymal stem cell-based bone tissue regeneration[J]. *Bioact Mater*, 2021,6(3):666–83.
- [4] Shi X, Mao J, Liu Y. Pulp stem cells derived from human permanent and deciduous teeth: biological characteristics and therapeutic applications[J]. *Stem Cells Transl Med*, 2020,9(4):445–64.
- [5] Liu T, Xu J, Pan X, et al. Advances of adipose-derived mesenchymal stem cells-based biomaterial scaffolds for oral and maxillo-facial tissue engineering[J]. *Bioact Mater*, 2021,6(8):2467–78.
- [6] Kim Y S, Mikos A G. Emerging strategies in reprogramming and enhancing the fate of mesenchymal stem cells for bone and cartilage tissue engineering[J]. *J Control Release*, 2021,330:565–74.
- [7] Schreurs M, Suttrop C M, Mutsaers H, et al. Tissue engineering strategies combining molecular targets against inflammation and fibrosis, and umbilical cord blood stem cells to improve hampered muscle and skin regeneration following cleft repair[J]. *Med Res Rev*, 2020,40(1):9–26.
- [8] Orapiriyakul W, Tsimbouri M P, Childs P, et al. Nanovibrational stimulation of mesenchymal stem cells induces therapeutic reactive oxygen species and inflammation for three-dimensional bone tissue engineering[J]. *ACS Nano*, 2020,14(8):10027–44.
- [9] Rahman M, Peng X L, Zhao X H, et al. 3D bioactive cell-free-scaffolds for *in-vitro/in-vivo* capture and directed osteoinduction of stem cells for bone tissue regeneration[J]. *Bioact Mater*, 2021,6(11):4083–95.
- [10] Lin Z, Zhang X, Fritch M R, et al. Engineering pre-vascularized bone-like tissue from human mesenchymal stem cells through simulating endochondral ossification[J]. *Biomaterials*, 2022,283:1214–51.
- [11] He S, Sharpless N E. Senescence in health and disease[J]. *Cell*, 2017,169(6):1000–11.
- [12] Wang L, Wang B, Gasek N S, et al. Targeting p21(Cip1) highly expressing cells in adipose tissue alleviates insulin resistance in obesity[J]. *Cell Metab*, 2022,34(1):75–89.
- [13] Hernandez-Segura A, Nehme J, Demaria M. Hallmarks of cellular senescence[J]. *Trends Cell Biol*, 2018,28(6):436–53.
- [14] Chen D, Gong Y, Xu L, et al. Bidirectional regulation of osteogenic differentiation by the FOXO subfamily of forkhead transcription factors in mammalian MSCs[J]. *Cell Prolif*, 2019,52(2):e12540.
- [15] Ching H S, Luddin N, Rahman I A, et al. Expression of odontogenic and osteogenic markers in DPSCs and SHED: a review[J]. *Curr Stem Cell Res Ther*, 2017,12(1):71–9.

Comparison of the osteogenic differentiation potential of human dental-derived mesenchymal stem cells

Fu Guiqiang¹, Zou Duohong^{1,2}

(¹College of Stomatology, Anhui Medical University, The Affiliated Stomatological Hospital of Anhui Medical University, Key Lab of Oral Diseases Research of Anhui Province, Hefei 230032;
²Shanghai Ninth People's Hospital of Shanghai Jiaotong University Medical College, College of Dentistry, Shanghai Key Laboratory of Stomatology, Shanghai 200001)

Abstract Objective To compare the osteogenic differentiation ability of human apical papilla stem cells (SCAPs), dental pulp mesenchymal stem cells (DPSCs) and alveolar bone mesenchymal stem cells (ABMSCs) *in vitro*. **Methods** The apical papilla stem cells, dental pulp mesenchymal stem cells and alveolar bone mesenchymal stem cells isolated from the third molars and alveolar bone tissues were cultured and passaged. The morphology of primary and P3 generation cells was observed under a microscope. Flow cytometry was used to detect cell immunophenotype. Real-time fluorescent quantitative PCR (qRT-PCR) and cell counting kit-8 were used to analyze cell senescence and proliferation ability. After osteogenic induction, alkaline phosphatase (ALP) and alizarin red staining and qRT-PCR were used to detect osteogenic related genes to compare osteogenic ability. **Results** There was no significant difference in the morphology of the three cells, which showed the morphology of fibroblasts, long spindle-shaped, smooth and uniform after passage. There were no senescence differences among the 3 types of cells, all of which maintained stable proliferative capacity; the proliferation capacity of SCAPs was significantly

网络出版时间:2023-06-27 15:16:05 网络出版地址:https://kns.cnki.net/kcms2/detail/34.1065.R.20230626.0959.010.html

蛋白质精氨酸甲基转移酶 5 在胃癌中的表达及作用研究

陈 萍¹,王慧之¹,王德强²,刘骏强¹

摘要 目的 检测蛋白质精氨酸甲基转移酶 5 (PRMT5) 在胃癌组织及细胞中的表达,研究 PRMT5 对胃癌细胞增殖、迁移、侵袭能力以及上皮间质转化(EMT)过程中作用。**方法**

① 利用 GEO 数据库基于生物信息学分析 PRMT5 在慢性非萎缩性胃炎、胃癌前病变(慢性萎缩性胃炎和肠上皮化生)以及早期胃癌病理组织中的表达。通过 Ualcan、HPA 肿瘤数据库分析 PRMT5 在胃癌组织中的表达情况。通过 Western blot 检测 PRMT5 在胃癌细胞中的蛋白表达。② 通过质粒调控胃癌细胞 PRMT5 表达,并运用 Western blot 及 RT-PCR 验证其效率。通过细胞克隆形成实验、CCK-8、划痕实验、Transwell 实验分别探究 PRMT5 调控胃癌细胞增殖以及迁移、侵袭能力。③ 通过 Western blot 分析 PRMT5 对胃癌上皮细胞相关蛋白和间质细胞相关蛋白影响。**结果** GEO 数据库显示 PRMT5 在慢性非萎缩性胃炎、癌前病变至早期胃癌中表达逐渐升高,Ualcan、HPA 数据库显示 PRMT5 在胃癌组织中 mRNA 及蛋白的表达水平较胃正常黏膜组织升高。调控胃癌细胞 PRMT5 表达后,结果显示 PRMT5 促进胃癌细胞迁移及侵袭、增殖能力,促进间质细胞相关蛋白表达,抑制上皮细胞蛋白表达。**结论** 在胃癌组织中 PRMT5 呈相对高表达,具有促进胃癌细胞迁移、侵袭、增殖以及 EMT 作用。

关键词 PRMT5;胃癌;增殖;迁移;侵袭;上皮间质转化

中图分类号 R 735.2

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2023)07-1125-07
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2023.07.011

胃癌的全球发病率在癌症中居第 5 位,易导致患者死亡,预后不佳^[1]。目前早期胃癌的诊疗以内

镜下手术和外科手术为主,治疗可达到完全切除效果^[2]。进展期患者失去了胃癌根治机会,存在转移、复发可能,预后及生存质量远远不及早癌患者。

蛋白翻译后修饰是肿瘤表观遗传改变研究的重要领域之一,其中甲基化、磷酸化、羟基化等修饰形式受到广泛关注^[3]。蛋白质精氨酸甲基转移酶家族(protein arginine methyltransferases, PRMTs)被认为将甲基转移至精氨酸残基上,通过不同的甲基化修饰影响肿瘤细胞发生发展^[4]。依据催化形成的不同产物,PRMTs 家族大致分成 4 型,其中 II 型 PRMTs 主要催化修饰形成对称性二甲基,包括 PRMT5 和 PRMT9^[5]。有研究^[6]表明 PRMT5 在肺癌细胞中高表达,促进肺癌转移。同时有研究^[7]表明 PRMT5 通过 ERK 信号通路促进肝癌细胞增殖,另外,PRMT5 是乳腺癌干细胞增殖以及自我更新的重要调控因子^[8],因此,PRMT5 扮演着癌基因角色,以 PRMT5 作为靶点的分子抑制剂的抗肿瘤研究也日益增多^[9]。该研究通过相关肿瘤数据库分析 PRMT5 在胃癌组织中表达,体外实验分析 PRMT5 在不同胃癌细胞株中的表达差异及其相关生物学作用,进而为胃癌诊疗提供可行性参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料 人源胃癌细胞(AGS、BGC823、SGC7901、MGC803)均来自江苏大学医学院实验室细胞保存库。质粒均由江苏大学医学院基础研究所保存提供。胎牛血清购自美国 Gibco 公司,PRMT5 抗体购自美国 Santa Cruz 公司,基质金属蛋白酶 2(matrix metalloproteinase 2, MMP2)、基质金属蛋白酶 9(matrix metalloproteinase 9, MMP9)、上皮间质转化(epi-

2023-03-26 接收

基金项目:江苏省青年医学重点人才培养项目(编号:QNR2016829)

作者单位:江苏大学附属医院¹ 消化内科、² 化疗科,镇江 212000

作者简介:陈 萍,女,副主任护师;

刘骏强,男,主治医师,责任作者,E-mail:993973528@qq.com

higher than that of the other 2 types of cells, and the proliferation capacity of ABMMSCs was weaker; ALP staining and alizarin red staining after 7 and 14 d osteogenesis induction showed that the osteogenic ability of ABMMSCs was significantly stronger than that of SCAPs and DPSCs; qRT-PCR showed that ABMMSCs had the most significant increase in osteogenesis-related genes. **Conclusion** SCAPs, DPSCs and ABMMSCs have stable biological properties and can undergo osteogenic differentiation, and ABMMSCs have stronger osteogenic ability than DPSCs and SCAPs *in vitro*.

Key words osteogenic differentiation; dental pulp stem cells; apical papilla stem cells; alveolar bone stem cells