

LIF 促进脂多糖诱导的牙髓炎性反应的实验研究

刘昊^{1,2}, 朱友明^{1,2}, 李頌^{1,2}¹安徽医科大学口腔医学院, 安徽医科大学附属口腔医院, 合肥 230032;²安徽省口腔疾病研究重点实验室, 合肥 230032)

摘要 **目的** 探究白血病抑制因子(LIF)在牙髓炎症中的作用。**方法** 首先体外培养人牙髓干细胞(hDPSCs)作为研究目的细胞,经脂多糖(LPS)诱导细胞炎性反应,高通量测序检测炎性状态下相关的高表达基因。实时荧光定量 PCR(qPCR)检测浓度梯度 LPS 刺激下 LIF 的表达情况。进而检测敲低和过表达 LIF 后炎症因子白介素 6(IL-6)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)及肿瘤坏死因子 α (TNF- α)的表达水平。最后收集正常牙髓及炎性牙髓组织,qPCR、免疫荧光(IF)检测两类组织中 LIF 的表达情况。**结果** LIF 的表达水平在 LPS 刺激后的人牙髓细胞中升高。在浓度梯度 LPS 诱导的炎性牙髓炎症中,LIF 表达水平随之升高;在 LPS 刺激下,敲低 LIF 后 hDPSCs 中 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 的表达下调($P < 0.05$),而过表达 LIF 后,IL-6、IL-1 β 、TNF- α 水平上调($P < 0.001$)。qPCR、IF 实验显示在炎性牙髓组织中 LIF 高表达。**结论** LIF 参与牙髓炎症,并促进了牙髓炎的发展。

关键词 白血病抑制因子;牙髓炎;免疫炎症;脂多糖;人牙髓干细胞;牙髓再生

中图分类号 R 781.31

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2025)11-2124-07

doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2025.11.018

牙髓炎是口腔常见疾病之一。近年来,大量研究^[1-2]表明,即使是成熟恒牙不可复性牙髓炎,只要在严格无菌和标准化的操作流程下,也可以尝试进行活髓保存治疗,因其牙髓感染可能并未进展到根部牙髓,但如何精准判断牙髓感染的进展程度以及牙髓状态比较困难。因此,需要深入研究牙髓炎的反应机制,追踪调控炎症反应的靶点物质。

白血病抑制因子(leukemia inhibitory factor, LIF)是 IL-6 家族中具有多效性的成员之一,相比 LIF 在骨髓白血病细胞系中的作用,其在肺^[3]、神经^[4]、癌症^[5]等多方面发挥了重要作用,但在牙髓炎症方面的研究较少,其在牙髓炎症的作用有待进一步验证。该实验探究 LIF 在牙髓炎症中的作用,为进一步探究 LIF 发挥作用的机制奠定基础,以期为牙髓保存再生治疗提供新靶点和思路。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞与样本 人牙髓干细胞(human dental

pulp stem cells, hDPSCs)提取自临床收集的 30 岁以下、健康无牙体牙周组织疾病、因阻生或正畸需要拔除的正畸牙和智齿。正常牙髓样本取自正畸牙和智齿(同前),炎性牙髓样本来自临床收集 35 岁以下、诊断为牙髓炎的牙髓组织,迅速放入含 4% 多聚甲醛的 EP 管中,常温保存,数日内石蜡切片用于免疫荧光染色。

1.1.2 试剂 胎牛血清购自美国 Corning 公司; α -MEM 培养基购自美国赛默飞公司;青链霉素溶液、PBS、胰酶购自苏州新赛美公司;转染试剂 Lipofectamine2000 购自美国 invitrogen 公司;实时荧光定量 PCR(real-time fluorescence quantitative PCR, qPCR)相关试剂购自日本 TaKaRa 公司;焦碳酸二乙酯(diethyl pyrocarbonate, DEPC)水、RIPA 裂解液购自上海碧云天科技有限公司;4% 多聚甲醛通用型组织固定液购自合肥 Biosharp 生物技术有限公司;脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)购自北京索莱宝科技有限公司;RNA 提取试剂盒购自上海奕杉生物科技有限公司。qPCR 所需引物、敲低与过表达质粒购自上海生工生物工程有限公司。 β -Actin 抗体购自杭州华安生物技术有限公司;LIF 抗体购自江苏亲科生物研究中心有限公司;IL-1 β 抗体购自美国 CST 生物公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 获取健康牙髓组织后,采用改良

2025-08-25 接收

基金项目:安徽省自然科学基金(编号:2308085Y23)

作者简介:刘昊,男,硕士研究生;

李頌,女,教授,硕士生导师,通信作者, E-mail: 3197053337@qq.com

组织酶消化法,培养并收集人牙髓干细胞。细胞维持含 10% FBS、1% 青链霉素双抗的培养基中,培养于 37 ℃、5% CO₂ 培养箱中,隔天换液,70% ~ 90% 汇合度传代,取 P2-P5 用于实验。

1.2.2 细胞转染 将细胞设置 4 组: shNC 组、shLIF 组、shNC + LPS 组、shLIF + LPS 组,shNC 组敲低非相关基因作阴性对照组,shLIF 组敲低 LIF 基因,shNC + LPS 组和 shLIF + LPS 组在敲低对应分组基因的情况下加入适宜浓度的 LPS 培养,过表达同理进行实验。提前 12 ~ 24 h 将细胞铺板至 6 孔板,细胞量为 2.5×10^5 个/孔,待细胞融合度 80% ~ 90% 左右进行实验。参照 Lipofectamine2000 试剂说明书转染敲低或过表达质粒,每孔设 A、B 液(A: 5 μ L Lipo, 200 μ L α -MEM 培养基; B: 7.5 μ L 目的质粒, 200 μ L α -MEM 培养基),分别室温孵育 5 min,将 A、B 液混合孵育 20 min,加入到每孔含 2 mL 无血清 α -MEM 培养基的 6 孔板内,转染培养 8 h 后更换为含 10% FBS 的 α -MEM 培养基; 24 h 后炎症组每孔加入 2 μ g/mL 的 LPS 孵育; 6 h 后提取总 RNA。

1.2.3 qPCR 使用 RNA 快速提取试剂盒,按照生产商的说明提取细胞总 RNA。使用 TAKARA TB Green Premix 进行 qPCR,对 1 μ g 总 RNA 进行逆转录,然后根据生产商的方案配置体系(20 μ L),包括:上游引物 0.8 μ L,下游引物 0.8 μ L, Mix 10 μ L, ROX 0.4 μ L, cDNA 2 μ L, DEPC 水 6 μ L。PCR 扩增反应程序为: 95 ℃、2 min, 60 ℃、15 s, 72 ℃、20 s, 重复 45 个循环。以 β -actin 作为分子内参,采用 ($\Delta\Delta C_T$) 方法计算相关 RNA 水平。引物序列见表 1。

表 1 引物序列
Tab.1 Primer sequences

Genes	Primer sequences (5'-3')
LIF	F: GTCTTGGCGGCAGTACACAG R: CGACTATGCGGTACAGCTCC
IL-6	F: ACACAGACAGCCACTCACCT R: CCACTGCTCTTTGCTGCTT
IL-1 β	F: GGACAGGATATGGAGCAACAAGTGG R: TCATCTTTCAACACGCAGGACAGG
TNF- α	F: TGCCTATGCTCAGCCTCTTC R: GGTCTGGGCCATAGAACTGA
β -actin	F: CTCCATCCTGGCCTCGCTGT R: GCTGTCACCTTCACCGTTCC

1.2.4 蛋白质印迹(Western blot)实验 用 PBS 洗 2 遍细胞,使用 RIPA 裂解混合液(RIPA: 蛋白酶抑制剂: 磷酸酶抑制剂: PMSF = 1 mL: 20 μ L: 20 μ L: 10 μ L)和细胞刮刀裂解细胞,以上步骤均在冰

上进行。将细胞裂解液置入对应 EP 管内,置于冰上摇床 30 min;提前预冷离心机,摇完后配平离心, 12 000 r/min, 4 ℃、10 min。留存上清液。通过 10% 和 15% SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳(PAGE)分离蛋白质提取物,然后印迹到 PVDF 膜上。在室温下用 5% 脱脂牛奶封闭膜 2 h,然后与相应的一抗(4 ℃过夜)和适当的 HRP 偶联二抗(室温 1 h)孵育,显影。用于蛋白质印迹的抗体包括 LIF(ku 18)、IL-1 β (ku 31)、 β -Actin(ku 42)。

1.2.5 免疫荧光实验 将保存于 4% 多聚甲醛的牙髓组织进行石蜡切片、脱蜡及抗原修复。滴加 3% 过氧化氢去除内源性过氧化物酶,在含 10% 正常二抗来源血清中室温封闭 1 h。使用 PBS 稀释的抗 LIF 一抗在 4 ℃孵育过夜。孵育 HRP 标记的二抗。封片镜检。

1.2.6 高通量测序 设置 Ctrl 组、Ctrl + LPS 组培养并处理人牙髓干细胞(hDPSCs)进行实验。提 mRNA 并测浓度后,取部分 mRNA 进行 qPCR 实验验证炎症处理是否成功,剩余 mRNA 样本保存于 -80 ℃ 冰箱,准备送测序处理。测序与建库由上海派森诺公司完成。最后对完成初步验证并成功完成测序的样本原始表格数据进行分析。

1.2.7 细胞流式术 以实验常用的 P4 hDPSCs 进行实验。将细胞消化制备成细胞悬液后,分装至 1.5 mL EP 管中并加入牙髓原代细胞和流式抗体 CD34、CD14、CD90、CD73 各 2 μ L,置于 4 ℃冰箱染色 30 min。使用染色缓冲液清洗后转移至流式管中,上机检测。

1.3 统计学处理 应用 GraphPad Prism 8 软件分析数据,用 Image J 软件分析 WB 条带与免疫荧光。使用 *t* 检验比较两组之间的差异,多组之间的数据使用单因素方差分析,*P* < 0.05 为有差异有统计学意义。

2 结果

2.1 人牙髓原代细胞培养及鉴定 显微镜下显示 hDPSCs 为典型的长梭形,见图 1。为了鉴定 hDPSCs 的纯度,使用流式细胞术分析评估 hDPSCs 的表面标志物。结果显示,牙髓干细胞表面标记物 CD73 在 100% 的细胞中表达,CD90 在 98% 的细胞中表达,而 CD14 和 CD34 仅在 0.2%、0.12% 的细胞中表达,见图 2。这些表现均符合 hDPSCs 的特征。

2.2 高通量测序技术筛选目标基因 以 hDPSCs 为研究对象,设 Ctrl 组和 Ctrl + LPS 组进行处理,进

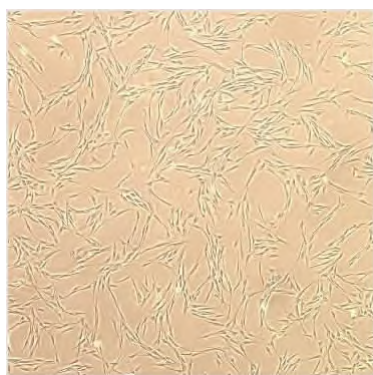


图1 人牙髓原代细胞形态

Fig.1 The morphology of primary human dental pulp cells

The primary cells were passaged to P4, and the typical long spindle morphology of human pulp cells was observed under the microscope.

行高通量测序技术检测,结果显示,在 Ctrl + LPS 组中,IL-6 家族细胞因子 *LIF* (ENSG00000128342) 表达升高,Fold Change (Ctrl + LPS group/ Ctrl group) 为 2.55,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。故将 *LIF* 确定为后续研究对象。

2.3 *LIF* 在 LPS 刺激后的体外牙髓炎中的表达情况 qPCR 检测 *LIF* 在梯度浓度 LPS 刺激条件下的 hDPSCs 中的表达情况。结果显示,与对照组 (0 $\mu\text{g/mL}$ 组) 相比,在 LPS 刺激下 *LIF* 表达上调,且随 LPS 浓度升各项炎症指标趋势稳定且均具有统计学意义 ($P < 0.0001$),故后续实验的 LPS 浓度设定在 2 $\mu\text{g/mL}$ 。见图 3。

2.4 敲低 *LIF* 对体外牙髓炎的炎性反应的影响

将 sh-*LIF* 质粒转染至 hDPSCs 中,qPCR 检测敲低 *LIF* 后,hDPSCs 中 *LIF*、*IL-6*、*IL-1 β* 、*TNF- α* 的表达情况。结果显示,在 LPS 刺激条件下,敲低 *LIF* 后,*IL-6*、*IL-1 β* 、*TNF- α* 的表达均下调 ($P < 0.001$);非 LPS 刺激条件下,单纯敲低 *LIF* 对炎症因子的影响较小,差异无统计学意义,见图 4A;Western blot 检测显示,炎症组中敲低 *LIF* 后 *IL-1 β* 蛋白表达水平下调 ($P < 0.01$),单纯敲低无明显变化,差异无统计学意义,见图 4B。

2.5 过表达 *LIF* 对体外牙髓炎的炎性反应的影响

将 *LIF* 过表达质粒转染至 hDPSCs 中,qPCR 检测结果显示,在 LPS 刺激下,过表达 *LIF* 后,*IL-6*、*IL-1 β* 、*TNF- α* 的表达水平均上调 ($P < 0.001$; $P < 0.01$; $P < 0.01$);非 LPS 刺激条件下,单纯过表达 *LIF* 对炎症因子表达无明显影响。见图 5A。Western blot 检测显示,炎症组中 *LIF* 过表达后,*IL-1 β* 蛋白表达水平上调,见图 5B。上述实验结果表明,*LIF* 参与牙髓炎症反应,并可能加重 LPS 诱导的体外牙髓炎的炎性反应。

2.6 *LIF* 在人牙髓组织中的表达情况 临床收集健康牙髓组织和炎性牙髓组织并进行免疫荧光实验检测 *LIF* 表达水平,结果显示,在炎性牙髓组织中 *LIF* 表达水平上调 ($t = 8.072$, $P < 0.01$),见图 6A。两组牙髓组织分别提取总 RNA,qPCR 检测两组牙髓组织中 *LIF* 的表达情况,结果显示,炎性牙髓组织中 *LIF* 表达水平较健康牙髓组织中 *LIF* 表达水平高 ($t = 3.223$, $P < 0.01$),见图 6B。

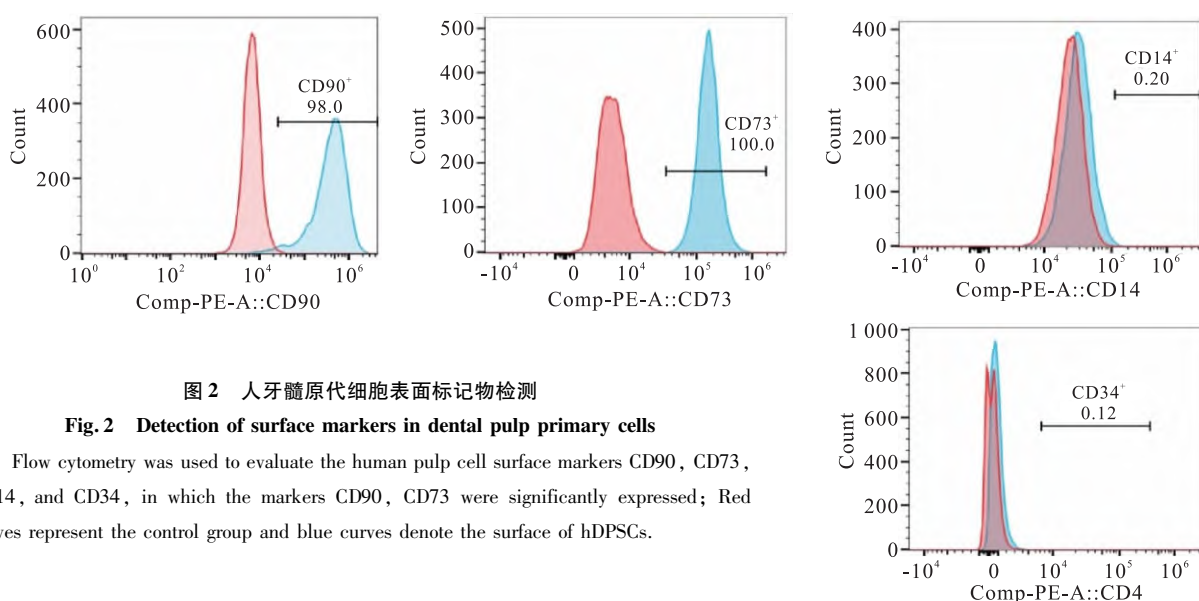
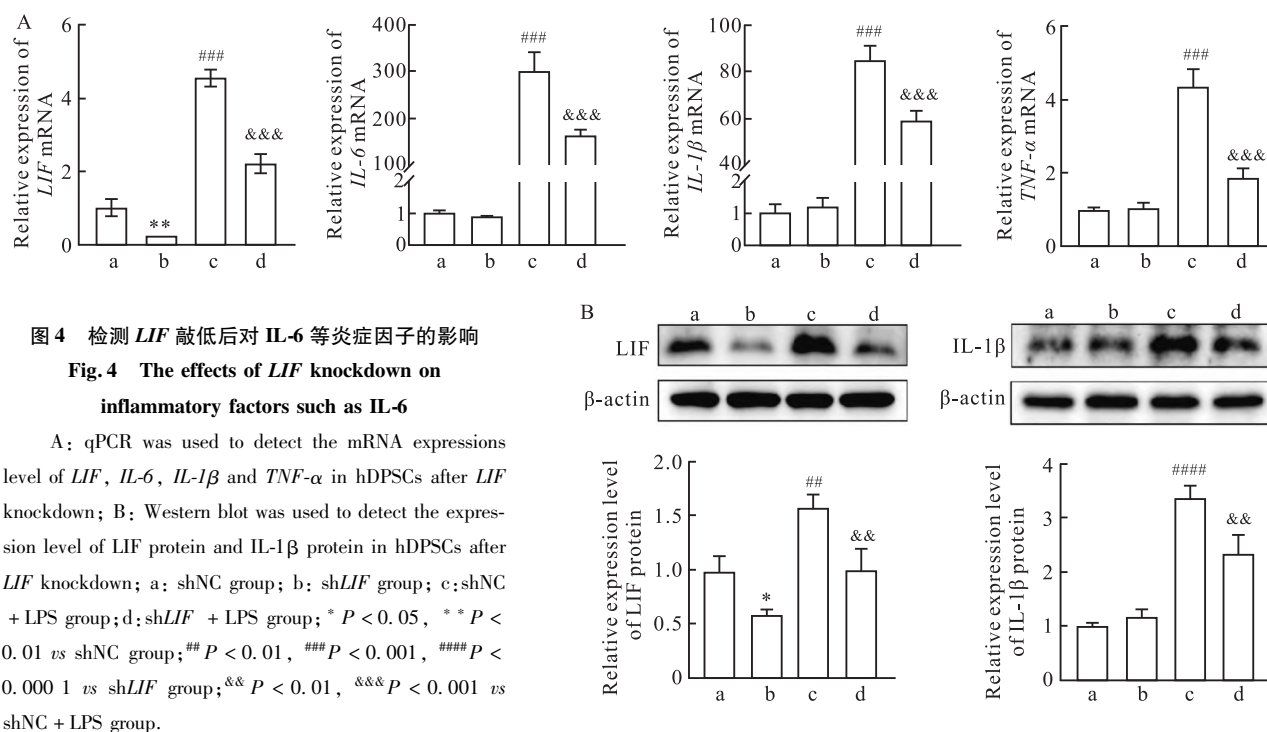
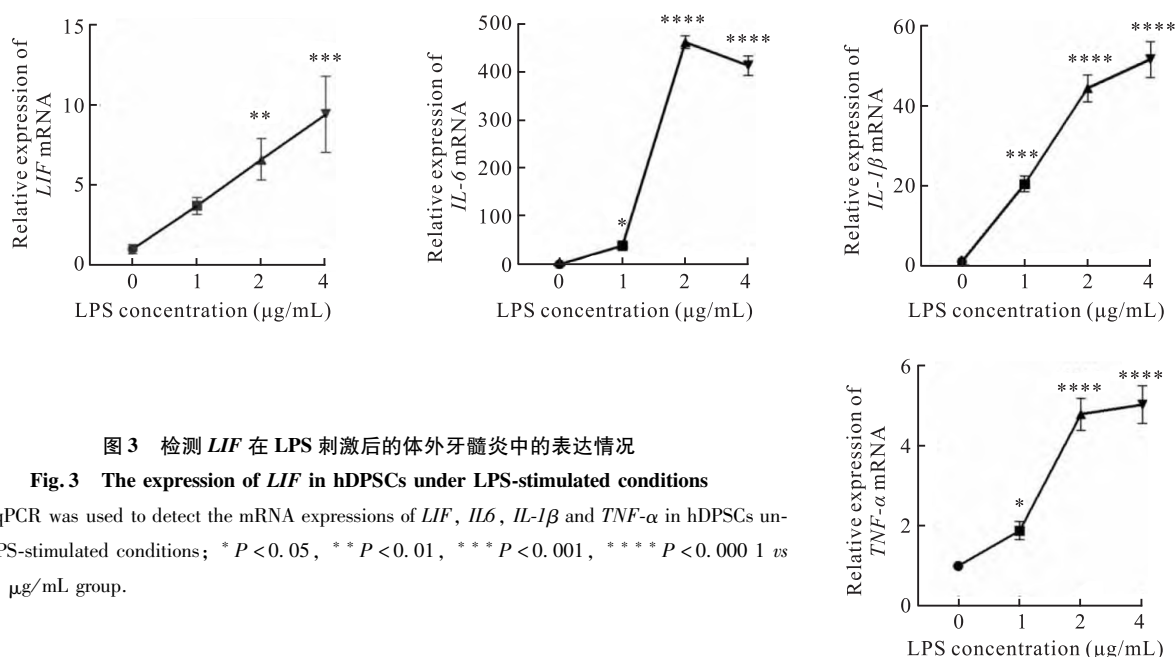


图2 人牙髓原代细胞表面标记物检测

Fig.2 Detection of surface markers in dental pulp primary cells

Flow cytometry was used to evaluate the human pulp cell surface markers CD90, CD73, CD14, and CD34, in which the markers CD90, CD73 were significantly expressed; Red curves represent the control group and blue curves denote the surface of hDPSCs.



3 讨论

根管治疗是牙髓炎的主要治疗方式之一。研究^[6]表明,即使经过完善的根管治疗,仍有部分患牙继发根尖周病、根折等问题,而随着再生牙髓学基础研究开展及材料广泛应用,活髓保存治疗成为热点^[7],其可以通过保留部分活髓或重建牙髓血运功

能,延长患牙的使用寿命。不过如何精准判断牙髓组织炎症进展程度和活髓保存治疗中炎性牙髓切除部位,需要一个实际的检测指标来指导临床医生进行活髓保存治疗。同时为了探究影响牙髓炎性反应的新靶点,本研究通过体外培养 hDPSCs,经 LPS 刺激建立炎症反应模型,通过高通量测序技术,筛选出在炎症牙髓细胞中高表达的基因——*LIF*,进而探究

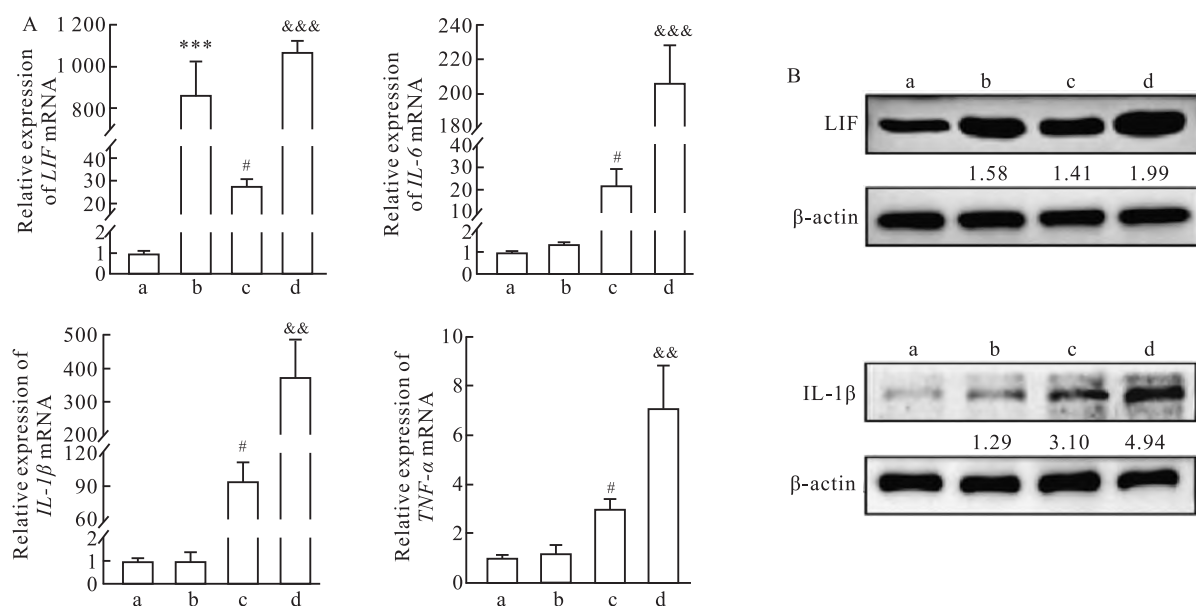


图5 检测过表达 *LIF* 后对 *IL-6* 等炎症因子的影响

Fig. 5 The effects of *LIF* overexpression on inflammatory factors such as *IL-6*

A: qPCR was used to detect the expressions level of *LIF*, *IL-6*, *IL-1β* and *TNF-α* in hDPSCs after *LIF* overexpression; B: Western blot was used to detect the expression level of *LIF* protein and *IL-1β* protein in hDPSCs after *LIF* overexpression; a: oeNC group; b: oe*LIF* group; c: oeNC + LPS group; d: oe*LIF* + LPS group; *** $P < 0.001$ vs oeNC group; # $P < 0.05$ vs oe*LIF* group; && $P < 0.01$, &&& $P < 0.001$ vs oeNC + LPS group.

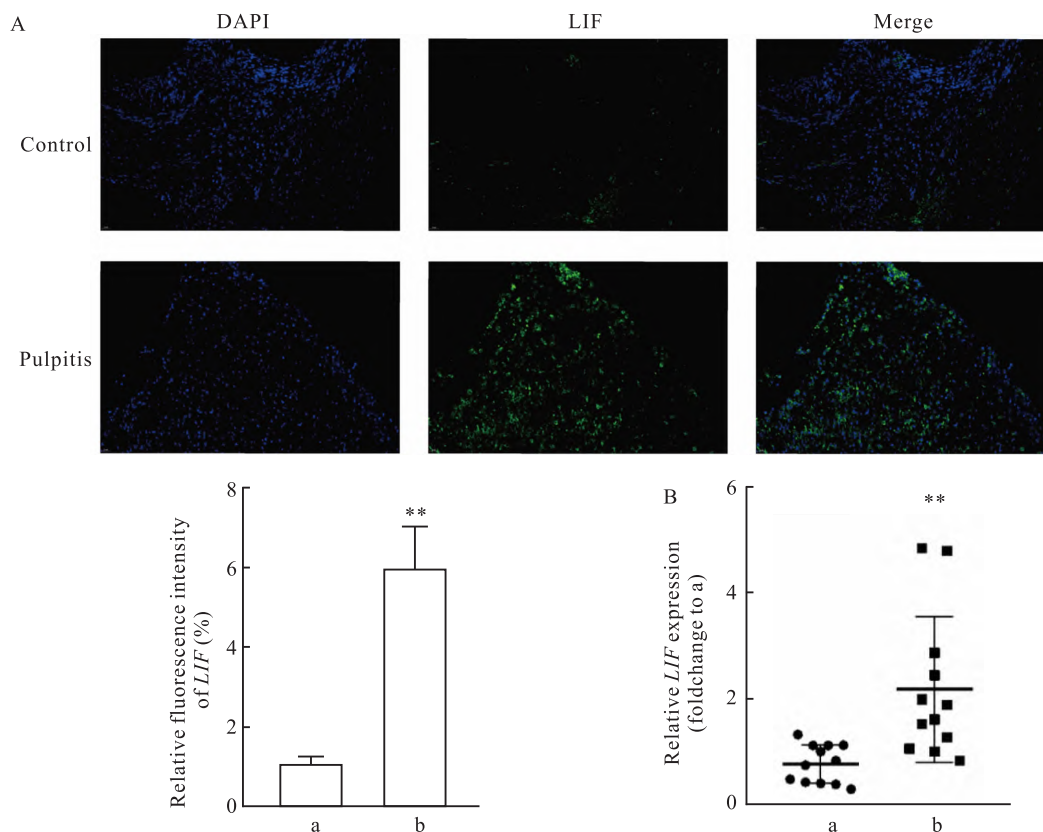


图6 *LIF* 在牙髓组织中的表达情况

Fig. 6 The expression of *LIF* in pulp tissue

A: The expression of *LIF* in inflammatory pulp tissue detected by immunofluorescence staining ($\times 40$) and its fluorescence quantification histogram; B: qPCR was used to detect the expression of *LIF* in normol and inflammatory dental pulp tissues; a: Control group; b: Pulpitis group; ** $P < 0.01$ vs Control group.

其参与牙髓炎症反应的作用及其机制。通过浓度梯度的 LPS 刺激 hDPSCs, qPCR 检测不同浓度刺激的牙髓干细胞中 *LIF* 的表达水平, 结果显示, 在 LPS 刺激的 hDPSCs 中 *LIF* 表达水平上调, 提示 *LIF* 与体外牙髓炎症反应有密不可分的联系, 而且随 LPS 浓度水平提高, hDPSCs 中 *LIF* 表达水平随之升高, 证实其在炎症过程中的重要作用。此外, 相较于正常人牙髓组织, 炎性牙髓组织中也检测到了高表达的 *LIF*, 该结果也提示 *LIF* 在人牙髓炎症反应中发挥了促炎作用。

LIF 作为 IL-6 家族的一员, 在免疫炎症反应中的作用不容忽视^[8], IL-6 与人类口腔及全身各类组织疾病息息相关^[9]。此外, 大量研究证实它可以在不同环境或组织中发挥相反的抗炎或促炎作用。例如, *LIF* 可以诱导 myMAF 分泌的骨桥蛋白促进免疫抑制性巨噬细胞表型^[10]。相反地, *LIF* 在骨组织、前列腺细胞癌等组织环境中又发挥促炎作用^[11-12]。此外, 有关 *LIF* 作为肿瘤等疾病生物标志物的研究发现似乎同样起到了相反的致癌或抑癌作用^[13-14], 这些研究均说明 *LIF* 在炎症反应中的多效性和自身的复杂性。为了明确 *LIF* 在牙髓炎中的作用, 本研究也通过 *LIF* 敲低和过表达实验, 检测不同分组中 *LIF* 敲低和过表达后炎症因子 IL-6、IL-1 β 和 TNF- α 的表达水平, 结果显示, 敲低 *LIF* 可以抑制 hDPSCs 炎性状态下 IL-6 等炎症因子的表达, 而过表达 *LIF* 后, 炎症组中 IL-6 等炎症因子表达明显上调, 这些实验说明 *LIF* 调控炎症因子的表达和释放, *LIF* 的存在可能会加重炎症反应的进展。然而, 在非 LPS 刺激条件下, 单纯敲低或过表达 hDPSCs 中的 *LIF*, 炎症指标无显著变化, 这提示 *LIF* 调控炎症因子的作用似乎也需要炎症反应本身的激活, 这表明 *LIF* 与炎症反应可能是相互促进的关系; 同时, Western blot 也显示炎症组中 IL-1 β 蛋白表达在 *LIF* 敲低后降低, 而在 *LIF* 过表达后升高, 这与 qPCR 的结果一致。这些实验都表明 *LIF* 参与牙髓炎症反应, 并可能发挥促炎作用。后续可进一步探究 *LIF* 在牙髓炎症反应中的作用机制。

既往研究^[15]聚焦于 *LIF* 通过 JAK/STAT3 等信号通路参与各器官组织的免疫炎症反应, 但是否有其他通路或是其他机制值得进一步讨论和深究。本实验后续将构建相关人牙髓细胞模型并进行高通量测序分析, 筛选部分可能参与牙髓炎反应的下游因子及共有转录因子以验证这一猜想。

综上所述, *LIF* 参与并加重了体外牙髓炎症反

应, 但其作用机制尚不明确。后续将继续收集人炎性牙髓组织, 并补充体内实验, 为应用并指导临床治疗提供方向和参考。

参考文献

- [1] Yong D, Cathro P. Conservative pulp therapy in the management of reversible and irreversible pulpitis[J]. Aust Dent J. 2021, 66 Suppl 1:S4-14. doi:10.1111/adj.12841.
- [2] Ricucci D, Siqueira J F, Li Y, et al. Vital pulp therapy: histopathology and histobacteriology-based guidelines to treat teeth with deep caries and pulp exposure[J]. J Dent, 2019, 86: 41-52. doi:10.1016/j.jdent.2019.05.022.
- [3] Gogoi M, Clark P A, Ferreira A C F, et al. ILC2-derived LIF licences progress from tissue to systemic immunity[J]. Nature, 2024, 632(8026): 885-92. doi:10.1038/s41586-024-07746-w.
- [4] Chen Q, Liu Q, Zhang Y, et al. Leukemia inhibitory factor regulates Schwann cell proliferation and migration and affects peripheral nerve regeneration[J]. Cell Death Dis, 2021, 12(5): 417. doi:10.1038/s41419-021-03706-8.
- [5] Zhang F, Yan Y, Cao X, et al. TGF- β -driven LIF expression influences neutrophil extracellular traps (NETs) and contributes to peritoneal metastasis in gastric cancer[J]. Cell Death Dis, 2024, 15(3): 218. doi:10.1038/s41419-024-06594-w.
- [6] Guan X, Zhou Y, Yang Q, et al. Vital pulp therapy in permanent teeth with irreversible pulpitis caused by caries: a prospective cohort study[J]. J Pers Med, 2021, 11(11): 1125. doi:10.3390/jpm11111125.
- [7] Duncan H F. Present status and future directions-Vital pulp treatment and pulp preservation strategies[J]. Int Endod J, 2022, 55 (Suppl 3): 497-511. doi:10.1111/iej.13688.
- [8] Guo D, Dong W, Cong Y, et al. LIF aggravates pulpitis by promoting inflammatory response in macrophages[J]. Inflammation, 2024, 47(1): 307-22. doi:10.1007/s10753-023-01910-6.
- [9] 杨 扬, 李 威, 王左敏, 等. 牙周炎合并 AECOPD 患者血清 IL-6、IL-8 水平及相关性研究[J]. 安徽医科大学学报, 2018, 53(6): 964-6. doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2018.06.029.
- [9] Yang Y, Li W, Wang Z M, et al. Clinical significance of IL-6 and IL-8 in patients with periodontal disease and AECOPD and their correlations[J]. Acta Univ Med Anhui, 2018, 53(6): 964-6. doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2018.06.029.
- [10] Raymant M, Astuti Y, Alvaro-Espinosa L, et al. Macrophage-fibroblast JAK/STAT dependent crosstalk promotes liver metastatic outgrowth in pancreatic cancer[J]. Nat Commun, 2024, 15(1): 3593. doi:10.1038/s41467-024-47949-3.
- [11] Pascual-García M, Bonfill-Teixidor E, Planas-Rigol E, et al. LIF regulates CXCL9 in tumor-associated macrophages and prevents CD8⁺ T cell tumor-infiltration impairing anti-PD1 therapy[J]. Nat Commun, 2019, 10(1): 2416. doi:10.1038/s41467-019

- 10369 – 9.
- [12] Jones S A, Jenkins B J. Recent insights into targeting the IL-6 cytokine family in inflammatory diseases and cancer[J]. *Nat Rev Immunol*, 2018, 18(12): 773 – 89. doi:10.1038/s41577-018-0066-7.
- [13] Lorient Y, Marabelle A, Guégan J P, et al. Plasma proteomics identifies leukemia inhibitory factor (LIF) as a novel predictive biomarker of immune-checkpoint blockade resistance[J]. *Ann Oncol*, 2021, 32(11): 1381 – 90. doi:10.1016/j.annonc.2021.08.1748.
- [14] Wang J, Chang C Y, Yang X, et al. Leukemia inhibitory factor, a double-edged sword with therapeutic implications in human diseases[J]. *Mol Ther*, 2023, 31(2): 331 – 43. doi:10.1016/j.ymthe.2022.12.016.
- [15] Zhou C, He X, Tong C, et al. Cancer-associated adipocytes promote the invasion and metastasis in breast cancer through LIF/CX-CLs positive feedback loop[J]. *Int J Biol Sci*, 2022, 18(4): 1363 – 80. doi:10.7150/ijbs.65227.

Experimental research on *LIF* promoting lipopolysaccharide-induced pulpal inflammatory response

Liu Hao^{1,2}, Zhu Youming^{1,2}, Li Song^{1,2}

(¹College & Hospital of Stomatology, Anhui Medical University, Hefei 230032;

²Key Lab. of Oral Diseases Research of Anhui Province, Hefei 230032)

Abstract *Objective* To explore the role of leukemia inhibitory factor (*LIF*) in dental pulp inflammation. *Methods* Human dental pulp stem cells (hDPSCs) were cultured *in vitro* as the target cells, the inflammatory response was induced by lipopolysaccharide (LPS), and high-throughput sequencing was used to detect relevant highly expressed genes in the inflammatory state. The expression of *LIF* under graded concentrations of LPS stimulation was detected by real-time fluorescence quantitative PCR (qPCR). The expression levels of interleukin-6 (*IL-6*), interleukin-1 β (*IL-1 β*), and tumor necrosis factor- α (TNF- α) were detected after *LIF* knockdown and overexpression in hDPSCs by qPCR. Normal and inflammatory pulp tissues were collected, and the expression of *LIF* in both tissues was detected by qPCR and immunofluorescence (IF). *Results* The expression level of *LIF* increased in human dental pulp cells after LPS stimulation. The expression level of *LIF* was subsequently elevated in inflammatory pulp induced by graded concentrations of LPS. The expression of *IL-6*, *IL-1 β* , and TNF- α was significantly down-regulated in hDPSCs after *LIF* knockdown in response to LPS stimulation, while *LIF* overexpression upregulated the expression of these cytokines. qPCR and IF assays showed high expression of *LIF* in inflamed pulp tissue. *Conclusion* *LIF* is involved in dental pulp inflammation and promotes the development of pulpitis.

Key words leukemia inhibitory factor; pulpitis; immunoinflammation; LPS; human dental pulp stem cells; pulp regeneration

Fund program Natural Science Foundation of Anhui Province (No. 2308085Y23)

Corresponding author Li Song, E-mail: 3197053337@qq.com