

· 基础研究 ·

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2024.06.002

网络首发 [https://link.cnki.net/urlid/50.1097.R.20240229.0932.004\(2024-03-02\)](https://link.cnki.net/urlid/50.1097.R.20240229.0932.004(2024-03-02))氯化锂通过 PI3K/Akt 信号通路调控牙髓干细胞
成牙本质向分化的研究*李 鹏¹, 刘会琴², 李东雨³, 朱小苗³, 王胜朝³, 何文喜⁴, 王志华^{3△}

(1. 中国科学院大学成都存济口腔医院, 成都 610031; 2. 新安县人民医院口腔科, 河南洛阳 471899; 3. 口腔系统重建与再生全国重点实验室/国家口腔疾病临床医学研究中心/陕西省口腔医学重点实验室/空军军医大学第三附属医院牙体牙髓病科, 西安 710032; 4. 空军军医大学空军特色医学中心口腔科, 北京 100142)

[摘要] **目的** 探讨 Wnt/ β -连环素(β -catenin)通路激活剂氯化锂对牙髓干细胞(DPSCs)分化能力的影响及其相关分子机制。**方法** 体外培养 DPSCs, 通过茜素红染色评估不同浓度氯化锂(1 和 10 mmol/L)刺激 DPSCs 1、2 周后矿化结节的形成情况; 采用实时荧光定量逆转录 PCR(RT-qPCR)检测 1 mmol/L 氯化锂对 DPSCs 成牙本质标志基因[牙本质涎磷蛋白(DSPP)、牙本质基质蛋白 1(DMP1)、碱性磷酸酶(ALP)、骨涎蛋白(BSP)、骨钙素(OCN)的 mRNA]表达的影响; 采用 LY294002 抑制磷脂酰肌醇-3 激酶/蛋白激酶 B(PI3K/Akt)信号通路, 通过茜素红染色和 RT-qPCR 验证其对 DPSCs 矿化结节形成及成牙本质标志基因表达的影响。进一步通过 Western blot 分析 1 mmol/L 氯化锂加或不加 LY294002 (25 μ mol/L)刺激 DPSCs 对其下游 Akt 磷酸化表达的影响。**结果** 与 0 mmol/L 氯化锂相比, 1 mmol/L 氯化锂可明显促进 DPSCs 矿化结节形成和 DSPP、DMP1、BSP、ALP mRNA 的表达($P < 0.05$), 而 10 mmol/L 氯化锂则抑制矿化结节形成($P < 0.05$)。加入 LY294002 (25 μ mol/L)培养 DPSCs 2 周后, 抑制了氯化锂(1 mmol/L)刺激导致的矿化结节形成增加和 DSPP、DMP1、ALP mRNA 的表达, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。Western blot 结果显示, 氯化锂(1 mmol/L)能够明显促进 Akt 的磷酸化($P < 0.05$), 并具有时间依赖性, 而 LY294002 可明显抑制 Akt 的磷酸化($P < 0.05$)。**结论** 氯化锂可通过调控 PI3K/Akt 信号通路调控 DPSCs 的成牙本质向分化过程。

[关键词] 氯化锂; 牙髓干细胞; 成牙本质向分化; 磷脂酰肌醇-3-激酶; 蛋白激酶 B**[中图分类号]** R78 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2024)06-0805-06

Lithium chloride regulates odontogenic differentiation of dental pulp stem cells through phosphatidylinositol 3-kinase/Akt signaling pathways*

LI Peng¹, LIU Huiqin², LI Dongyu³, ZHU Xiaomiao³, WANG Shengchao³, HE Wenxi⁴, WANG Zhihua^{3△}

(1. Chengdu Cunji Stomatological Hospital, Chinese Academy of Science, Chengdu, Sichuan 610031, China; 2. Department of Stomatology, Xin'an People's Hospital, Luoyang, Henan 471899, China; 3. State Key Laboratory of Oral & Maxillofacial Reconstruction and Regeneration/National Clinical Research Center for Oral Diseases/Shaanxi Key Laboratory of Stomatology/Department of Operative Dentistry and Endodontics, the Third Affiliated Hospital of Air Force Medical University, Xi'an, Shaanxi 710032, China; 4. Department of Stomatology, Air Force Medical Center, Air Force Medical University, Beijing 100142, China)

[Abstract] **Objective** To explore the effect of Wnt/ β -catenin pathway activator lithium chloride on the differentiation ability of dental pulp stem cells (DPSCs) and its related molecular mechanism. **Methods** The formation of mineralized nodules in DPSCs cultured in vitro was evaluated by alizarin red staining after 1 and 2 weeks of stimulation with different concentrations of lithium chloride (1 and 10 mmol/L). Real-time fluorescent quantitative reverse transcription PCR (RT-qPCR) was used to detect the effects of 1 mmol/L lithium chloride on the mRNA expressions of dentin sialophosphoprotein (DSPP), dentin matrix protein 1 (DMP1), alkaline phosphatase (ALP), bone sialoprotein (BSP) and osteocalcin (OCN) in DPSCs. LY294002 was used to inhibit the phosphoinositide-3-kinase/protein kinase B (PI3K/Akt) signaling pathway, and its effects on the formation of mineralized nodules and mRNA expression of mineralized related proteins in DPSCs were verified

* 基金项目: 国家自然科学基金项目(81970932); 陕西省自然科学基金基础研究计划项目(2022JZ-42)。△ 通信作者, E-mail: wangzhihua3544@163.com。

by alizarin red staining and RT-qPCR. Further, Western blot analysis was performed to analyze the phosphorylation expression of Akt in DPSCs stimulated by 1 mmol/L lithium chloride with or without LY294002. **Results** Compared with 0 mmol/L lithium chloride, 1 mmol/L lithium chloride significantly promoted the formation of mineralization nodules and the mRNA expressions of DSPP, DMP1, BSP and ALP in DPSCs ($P < 0.05$), while 10 mmol/L lithium chloride significantly inhibited the formation of mineralization nodules in DPSCs ($P < 0.05$). After adding 1 mmol/L lithium chloride and LY294002 (25 $\mu\text{mol/L}$) to culture DPSCs for 2 weeks, the increased formation of mineralized nodules and the expressions of DSPP, DMP1 and ALP mRNA induced by 1 mmol/L lithium chloride stimulation were inhibited, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). Western blot results showed that lithium chloride (1 mmol/L) significantly promoted the phosphorylation of Akt in a time-dependent manner ($P < 0.05$), while LY294002 significantly inhibited the phosphorylation of Akt ($P < 0.05$). **Conclusion** Lithium chloride can regulate the odontogenic differentiation of DPSCs by regulating the PI3K/Akt signaling pathway.

[Key words] lithium chloride; dental pulp stem cells; odontoblastic differentiation; phosphoinositide-3-kinase; protein kinase B

牙髓干细胞(dental pulp stem cells, DPSCs)在牙髓损伤修复过程中发挥着重要作用,但调控 DPSCs 成牙本质向分化的信号转导机制仍不完全清楚。Wnt/ β -连环素(β -catenin)信号通路在牙胚生长发育、牙齿和牙周组织形态发生、牙上皮的增殖发育及成牙本质细胞的生长分化等过程中都发挥着重要作用^[1-3]。氯化锂(LiCl)作为 Wnt/ β -catenin 通路激活剂,可促进成牙骨质细胞增殖及牙周膜干细胞分化^[4-6]。然而,氯化锂是否可以促进牙髓损伤修复过程目前尚未见报道。磷脂酰肌醇-3 激酶/蛋白激酶 B(phosphoinositide-3-kinase/protein kinase B, PI3K/Akt)信号通路在整个机体细胞存活、生长和分化等生物行为的调控中起着核心作用^[7-8]。研究发现 PI3K/Akt 通路可受到 Wnt 配体的调节,二者之间发生复杂的相互作用,在诱导成骨细胞功能和骨折愈合等方面发挥重要作用^[9]。而 PI3K/Akt 是否可通过 Wnt/ β -catenin 信号通路调控牙髓再生和牙髓损伤修复过程仍未可知。本研究拟观察氯化锂对人 DPSCs 生物学行为的影响及其相关分子机制,这对阐明牙髓损伤修复的分子机制有重要意义,也可以为将来临床活髓保存治疗和 DPSCs 组织工程应用提供新思路。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 人 DPSCs 培养和鉴定

本研究经空军军医大学第三附属医院伦理委员会审核通过(IRB-REV-2022065),所有受试者均知情同意。参照文献[10-11]报道的方法进行 DPSCs 培养和鉴定,从新鲜拔除的人(18~20 岁)第三磨牙牙冠取新鲜牙髓组织于 6 孔板,采用胶原酶和 Dispase 酶联合消化牙髓组织 20 min 后进行原代培养,用含 20% 胎牛血清的 α -最低必需培养液(α -minimum essential medium, α -MEM, 美国 Gibco 公司)0.7 mL 重悬组织,静置培养,3 d 后补液至 1 mL,每 2 天更换培养液至细胞呈放射状生长,传代后进行单克隆培养。单克隆筛选获得 DPSCs 细胞系,进行干细胞鉴定。

1.1.2 主要仪器与试剂

主要仪器:超净工作台(苏州安泰空气技术有限公司);ELX808 全自动酶标仪(美国 BioTek 公司);倒置相差显微镜和照相系统(日本 Olympos 公司);PCR 仪及实时定量 PCR 系统(美国 Applied Biosystems 公司);电泳仪、全能型蛋白转印系统、转膜仪及化学发光成像系统(美国 Bio-Rad 公司)。主要试剂: α -MEM 培养基、胰蛋白酶(美国 Gibco 公司);胶原酶(德国 BioFroxx 公司);胎牛血清(杭州四季青生物工程材料有限公司); β -甘油磷酸钠、Western 封闭液、一抗稀释液、二抗稀释液(上海碧云天生物技术有限公司);1%茜素红染色液(北京索莱宝科技有限公司);反转录试剂盒(德国 Qiagen 公司);SYBR PCR 试剂盒(日本 TaKaRa 公司);PCR 仪及 ABI Prism 7500 real-time PCR 系统(美国 Applied Biosystems 公司);二喹啉甲酸(BCA)定量试剂盒、RIPA(强)裂解液(西安赫特生物科技有限公司);超敏电化学发光(electrochemiluminescence, ECL)显影液(苏州四正柏生物科技有限公司);LY294002(美国 Sigma 公司);小鼠抗人 3-磷酸甘油醛脱氢酶(GAPDH, 武汉三鹰生物技术有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 茜素红染色检测矿化结节生成

取克隆生长状态好的 P5 代 DPSCs,以 2×10^5 个/孔的细胞密度接种于 6 孔培养板。用含 10% 胎牛血清的 α -MEM 培养基培养细胞达 80% 以上的汇合率,更换矿化诱导液(10% 胎牛血清、100 U/mL 青霉素、100 $\mu\text{g/mL}$ 链霉素、10 nmol/L 地塞米松、50 mg/L 维生素 C 和含 10 mmol/L β -甘油磷酸钠的 α -MEM 培养基)。用浓度 0、1、10 mmol/L 的氯化锂加或不加 LY294002(25 $\mu\text{mol/L}$)刺激 DPSCs,每 3 天换液 1 次,诱导 1 或 2 周后终止。磷酸盐缓冲液(phosphate buffer saline, PBS)清洗细胞 3 次,4% 多聚甲醛固定细胞 15~30 min;再用 PBS 清洗细胞 3 次,清除残余固定液;40 mmol/L pH 4.2 的茜素红染色 5~10 min,用双蒸水(double distilled water, ddH₂O)洗去残留染液,直至洗液变清为止。倒置显微镜下观察并

拍照记录矿化结节的形成情况。最后,用 10%十六烷基吡啶溶液溶解培养皿里的茜素红,采用 ELX808 全自动酶标仪检测 562 nm 波长处的吸光度[$A_{(562)}$]值并记录。

1.2.2 实时荧光定量逆转录 PCR(real-time fluorescent quantitative reverse transcription PCR, RT-qPCR)检测成牙本质标志基因的表达

以 2×10^5 个/孔的细胞密度将 DPSCs 接种于 6 孔培养板,培养至汇和率达 80%左右时,用含浓度 0、1、10 mmol/L 氯化锂加或不加 LY294002 (25 μ mol/L)的矿化诱导液刺激 DPSCs,每 3 天换液 1 次,诱导 2 周后终止。用 Trizol 试剂提取细胞总

RNA,用 Omniscript RT 反转录试剂盒(德国 Qiagen 公司)合成 cDNA。将 cDNA 和 SYBR PCR 试剂混合,使用 ABI Prism 7500 real-time PCR 系统进行逆转录。PCR 循环条件:95 $^{\circ}$ C 10 s,60 $^{\circ}$ C 15 s,72 $^{\circ}$ C 10 s,35 个循环。牙本质涎磷蛋白(dentin sialophosphoprotein, DSPP)、牙本质基质蛋白 1(dentin matrix protein 1, DMP1)、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase,ALP)、骨涎蛋白(bone sialoprotein,BSP)、骨钙素(osteocalcin, OCN)基因引物序列见表 1。以 GAPDH 基因为内参基因,将目的基因相对于人 GAPDH 和对照(未处理细胞)水平的相对倍数变化归一化,采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法表示目的基因相对表达水平。

表 1 PCR 引物序列

目的基因	正向(5'-3')	反向(5'-3')
DSPP	TGG AGA CAA GAC CTC CAA GAG TGA	TGC TGG GAC CCT TGA TTT CTA TTC
DMP1	TGG GGA TTA TCC TGT GCT CT	GCT GTC ACT GGG GTC TTC AT
ALP	CCA CGT CTT CAC ATT TGG TG	AGA CTG CGC CTG GTA GTT GT
BSP	AAC TTT TAT GTC CCC CGT TGA	TGG ACT GGA AAC CGT TTC AGA
OCN	GGC AGC GAG GTA GTG AAG AG	CTG GAG AGG AGC AGA ACT GG
GAPDH	GCA CCG TCA AGG CTG AGA AC	TGG TGA AGA CGC CAG TGG A

1.2.3 Western blot 检测 Akt 及磷酸化 Akt(phosphorylated Akt,p-Akt)水平

6 孔板每孔接种 2×10^5 个 DPSCs,细胞汇合度达到 80%左右加入浓度 1 mmol/L 氯化锂(加或不加 LY294002),用不含血清的 α -MEM 培养基饥饿培养 6、12、24 h 后终止培养,以未加入氯化锂和 LY294002 处理的细胞为对照(0 h)。弃去培养液,加入预冷的 PBS,清洗 3 次;每组加入适量含苯甲基磺酰氟(PMSF)的 IP 裂解液(PMSF 终浓度 1 mmol/L),冰上裂解 10 min 将细胞刮下收集至 EP 管内,4 $^{\circ}$ C、12 000 $\times$ g 离心 15 min;然后将上清液转移至新的 EP 管中进行 BCA 定量,加入 5 $\times$ 十二烷基硫酸钠(SDS)上样缓冲液,煮沸 10 min。配制 10%分离胶和 5%浓缩胶,每条泳道加样 20 μ g 蛋白,220 V 恒压电泳 30 min 分离样品蛋白;聚偏二氟乙烯(PVDF)膜先用甲醇活化,再半干转膜,25 V 恒压电泳 7 min;转膜完成后,将 PVDF 膜放入封闭液中封闭 0.5 h。PI3K/Akt 各磷酸化蛋白和总蛋白抗体按照 1:1 000 稀释于 5%胎牛血清中,4 $^{\circ}$ C 过夜。TBST 清洗 3 次,每次 5 min,放入辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔 IgG 二抗(抗体稀释液 1:5 000 稀释),37 $^{\circ}$ C 孵育 1 h,TBST 清洗 3 次,每次 5 min。ECL 液(A、B 液以 1:1 混合)均匀涂于膜上,使用增强型化学发光成像系统对蛋白质条带进行曝光。ImageJ 软件分析面板灰度作图,计算 p-Akt/Akt 比值。

1.3 统计学处理

所有实验至少重复 3 次,采用 SPSS17.0 软件进行统计分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组组间比较采用独立样本 t 检验,多组间比较采用方差分析,进一

步组间两两比较采用 Student-Newman-Keuls 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

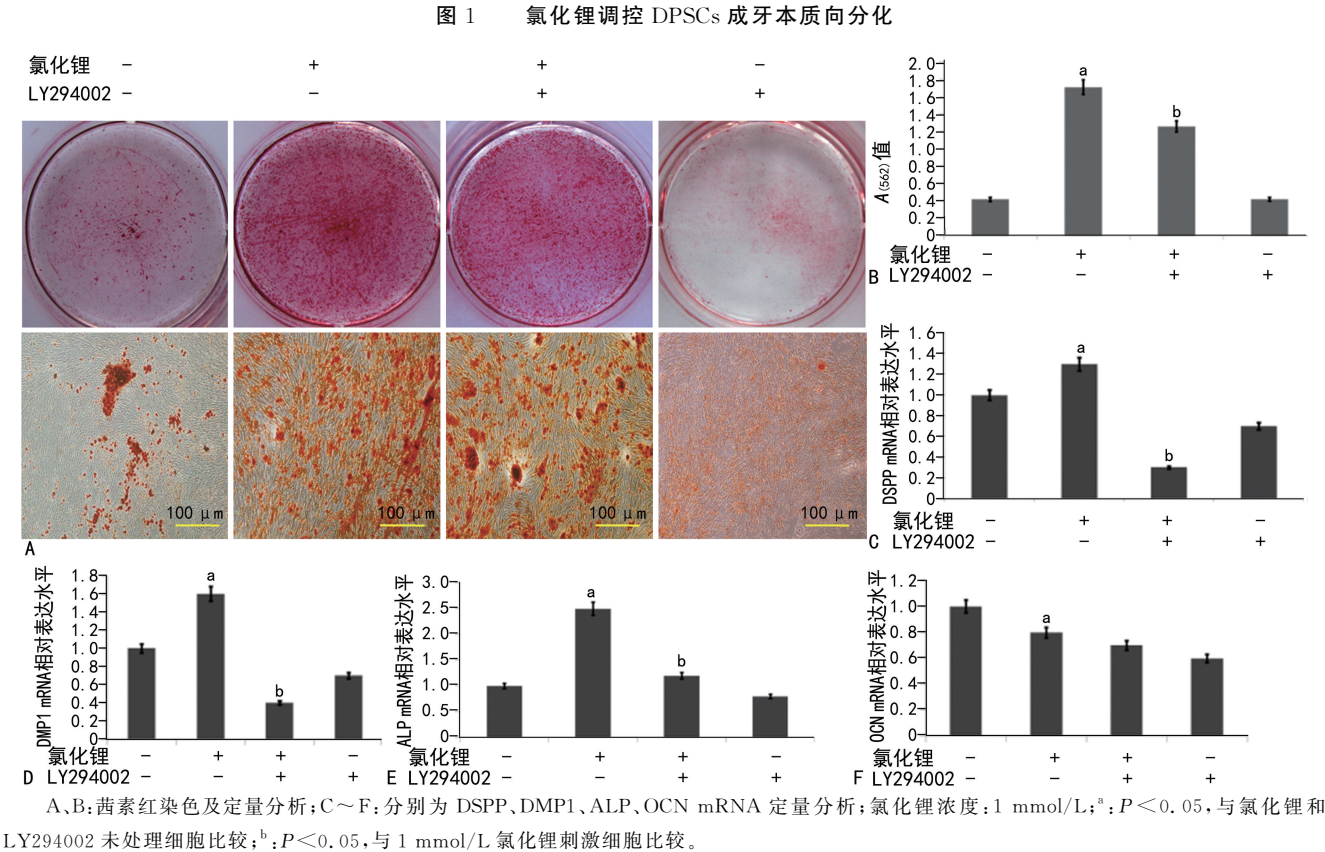
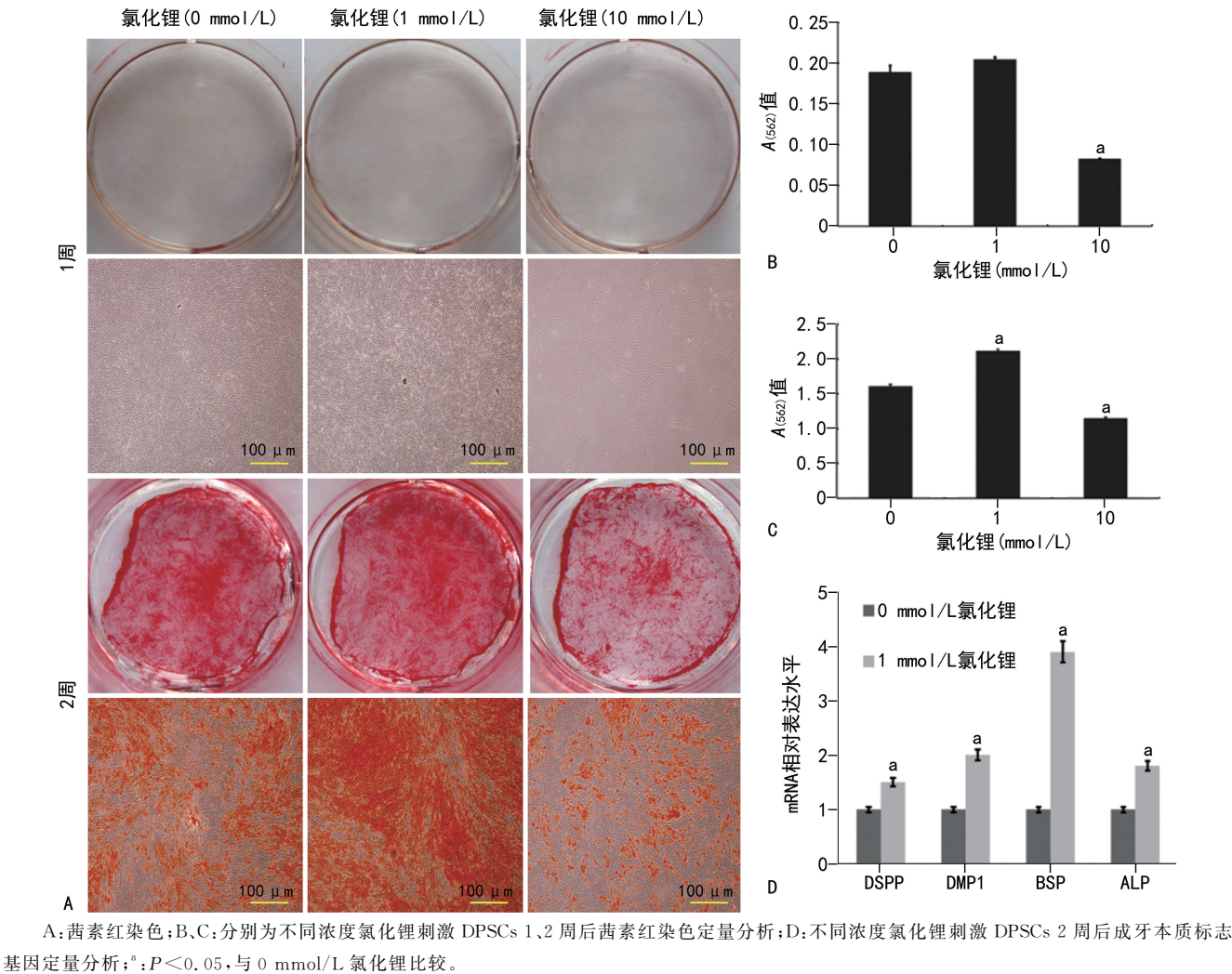
2 结 果

2.1 氯化锂对 DPSCs 牙本质向分化能力的影响

茜素红染色分析发现:矿化诱导 1 周后,各组均形成很少的矿化结节,见图 1A、B;矿化诱导 2 周后,各组均产生较多的矿化结节,其中 1 mmol/L 氯化锂刺激可明显促进 DPSCs 矿化结节的形成($P < 0.05$),而 10 mmol/L 氯化锂刺激后矿化结节形成减少($P < 0.05$),见图 1A、C。RT-qPCR 结果发现,1 mmol/L 氯化锂刺激 DPSCs 2 周可明显促进成牙本质标志基因 DSPP、DMP1、BSP、ALP mRNA 的表达(图 1D),提示 1 mmol/L 氯化锂刺激 DPSCs 能够诱导其牙本质向分化。

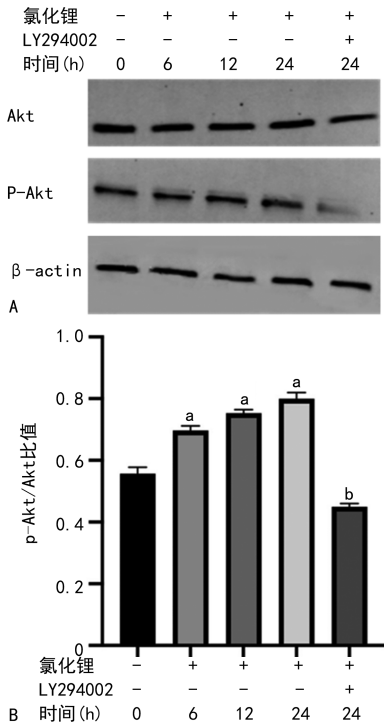
2.2 PI3K/Akt 信号通路对氯化锂调控的 DPSCs 分化过程的影响

为了验证 PI3K/Akt 信号通路是否参与氯化锂调控的 DPSCs 成牙本质向分化过程,用 PI3K 信号通路抑制剂 LY294002 (25 μ mol/L)加或不加氯化锂(1 mmol/L)刺激 DPSCs 矿化诱导 2 周,通过茜素红染色分析发现,氯化锂(1 mmol/L)可明显促进 DPSCs 矿化结节形成($P < 0.05$),而加入 LY294002 (25 μ mol/L)明显削弱了氯化锂(1 mmol/L)对 DPSCs 矿化结节形成的作用($P < 0.05$),见图 2A、B。RT-qPCR 结果发现,氯化锂(1 mmol/L)明显促进 DPSCs 牙本质标志基因 DSPP、DMP1、ALP mRNA 的表达;而加入 LY294002 (25 μ mol/L)后 DSPP、DMP1、ALP mRNA 表达明显下调($P < 0.05$),见图 2C~F。



2.3 PI3K/Akt 信号通路对氯化锂诱导的 DPSCs 内 Akt 蛋白活化情况的影响

为了进一步验证 PI3K/Akt 信号通路的作用,用 1 mmol/L 氯化锂刺激 DPSCs 0、6、12、24 h(加或不加 LY294002),通过 Western blot 检验 PI3K 通路下游 Akt 活化情况,结果显示:氯化锂刺激 DPSCs 后 p-Akt/Akt 比值明显升高($P<0.05$),并具有时间依赖性;而加入 LY294002 共同刺激 24 h 后,p-Akt/Akt 比值明显下降($P<0.05$),LY294002 明显抑制 Akt 的磷酸化,见图 3。



A: Akt 及 p-Akt 蛋白表达变化;B: p-Akt/Akt 比值比较;氯化锂浓度:1 mmol/L;^a: $P<0.05$,与 0 h 比较;^b: $P<0.05$,与 1 mmol/L 氯化锂刺激 24 h 比较。

图 3 氯化锂刺激 DPSCs 后 Akt 活化情况

3 讨论

DPSCs 成牙本质向分化对于牙髓损伤修复和牙齿再生,甚至组织再生都起着至关重要的作用,其机制研究一直是牙髓生物学领域的热点研究问题。氯化锂是美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)批准的可通过阻止 β -catenin 磷酸化激活 Wnt/ β -catenin 通路的药物^[12]。研究发现,氯化锂可通过抑制糖原合成酶激酶-3 β (glycogen synthase kinase-3 β , GSK-3 β)而激活 Wnt/ β -catenin 通路促进骨形成^[13]。体内研究也发现,氯化锂可促进骨质疏松大鼠的骨再生^[14]。此外,氯化锂可明显降低正畸治疗导致的牙根吸收^[15],促进成牙骨质细胞增殖及牙周膜干细胞分化^[4-6]。本研究结果发现,1 mmol/L 氯化锂刺激 DPSCs 可明显促进矿化结节的形成,而 10 mmol/L 氯化锂刺激后矿化结节明显减少。进一步通过 RT-qPCR 检测发现,1 mmol/L 氯化锂刺激 DPSCs 后成牙本质标志基因 DSPP、DMP1、BSP 及

ALP mRNA 表达明显上调。以上结果提示,低浓度氯化锂可促进 DPSCs 成牙本质向分化。

间充质干细胞的分化是一个非常复杂的过程,涉及大量的信号通路、细胞因子和转录因子的调控。其中,Wnt 和 PI3K/Akt 信号通路对干细胞分化过程的调控发挥着重要作用。在典型的 Wnt 通路中, β -catenin 作为关键的转录辅激活因子,将细胞外信号传递到细胞核内,从而激活靶基因的表达^[16]。如 GSK-3 β 失活可导致 β -catenin 在细胞质大量聚集而转位至细胞核,从而作用于下游的靶基因如 Runx2 和过氧化物酶增殖物活化受体 γ (peroxisome proliferator-activated receptor γ , PPAR γ)基因,继而调控干细胞成骨或成脂向分化^[16-18]。在间充质干细胞则主要通过抑制 GSK-3 β 活化而激活 β -catenin,最终促进成骨分化,抑制成脂向分化^[19]。体内或体外实验发现,间充质干细胞内 β -catenin 失活导致成骨分化能力下降^[20-21]。由此可见, β -catenin 激活有利于间充质干细胞成骨向分化,本研究结果低浓度氯化锂促进 DPSCs 成牙本质向分化与大部分研究报道一致。Wnt 信号在骨再生中的重要作用已经得到了很好的研究^[22-23]。有研究发现,Wnt 和 PI3K/Akt 信号转导通路可促进成骨细胞增殖,抑制破骨细胞分化^[24-25]。也有报道指出,Wnt 蛋白可通过激活 Src/细胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinase, ERK)和 PI3K/Akt 信号级联来延长成骨细胞和成骨祖细胞的存活时间^[26]。然而,PI3K/Akt 是否通过与 Wnt/ β -catenin 通路的相互作用促进牙本质再生仍未知。本研究发现,PI3K/Akt 信号通路抑制剂 LY294002 明显减弱了氯化锂诱导的 DPSCs 矿化结节形成和 DSPP、DMP1、ALP 矿化基因表达水平。由此可见,PI3K/Akt 信号通路可能参与氯化锂诱导的 DPSCs 成牙本质向分化的调控。此外,本研究进一步发现氯化锂能够明显促进 Akt 的磷酸化,并具有时间依赖性,而 LY294002 可明显抑制氯化锂刺激导致的 Akt 磷酸化,证明 PI3K/Akt 信号通路确实参与调控氯化锂刺激的 DPSCs 成牙本质向分化过程。

综上所述,本研究发现低浓度氯化锂(1 mmol/L)可明显促进 DPSCs 成牙本质向分化,PI3K/Akt 信号通路在此过程中可能发挥着重要调控作用。针对这些信号通路的研究将为龋源性感染的治疗提供新的靶点。氯化锂也可能用作具有生物活性的下一代活髓保存剂,但尚需进一步的研究。

参考文献

[1] ZHANG F, SONG J, ZHANG H, et al. Wnt and BMP signaling crosstalk in regulating dental stem cells; implications in dental tissue engineering[J]. Genes Dis, 2016, 3(4): 263-276.

- [2] LU X, YANG J, ZHAO S, et al. Advances of Wnt signalling pathway in dental development and potential clinical application[J]. *Organogenesis*, 2019, 15(4):101-110.
- [3] KORSNUTHISOPON C, PHOTICHAILERT S, NOWWAROTE N, et al. Wnt signaling in dental pulp homeostasis and dentin regeneration[J]. *Arch Oral Biol*, 2022, 134:105322.
- [4] WANG C, LI Y, YU K, et al. HOXA10 inhibit the osteogenic differentiation of periodontal ligament stem cells by regulating β -catenin localization and DKK1 expression[J]. *Connect Tissue Res*, 2021, 62(4):393-401.
- [5] MAEDA K, KOBAYASHI Y, KOIDE M, et al. The regulation of bone metabolism and disorders by Wnt signaling[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(22):5525.
- [6] ZHENG X, WANG S, XIAO L, et al. LiCl-induced immunomodulatory periodontal regeneration via the activation of the Wnt/ β -catenin signaling pathway[J]. *J Periodontal Res*, 2022, 57(4):835-848.
- [7] CAI P, NI R, LV M, et al. VEGF signaling governs the initiation of biliary-mediated liver regeneration through the PI3K-mTORC1 axis[J]. *Cell Rep*, 2023, 42(9):113028.
- [8] NOOROLYAI S, SHAJARI N, BAGHBANI E, et al. The relation between PI3K/AKT signalling pathway and cancer[J]. *Gene*, 2019, 698:120-128.
- [9] DONG J, XU X, ZHANG Q, et al. The PI3K/AKT pathway promotes fracture healing through its crosstalk with wnt/ β -catenin[J]. *Exp Cell Res*, 2020, 394(1):112137.
- [10] HE W, WANG Z, LUO Z, et al. LPS promote the odontoblastic differentiation of human dental pulp stem cells via MAPK signaling pathway[J]. *J Cell Physiol*, 2015, 230(3):554-561.
- [11] LI J, WANG Z, WANG J, et al. Amphiregulin regulates odontogenic differentiation of dental pulp stem cells by activation of mitogen-activated protein kinase and the phosphatidylinositol 3-kinase signaling pathways[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2022, 13(1):304.
- [12] XIA M Y, ZHAO X Y, HUANG Q L, et al. Activation of Wnt/ β -catenin signaling by lithium chloride attenuates d-galactose-induced neurodegeneration in the auditory cortex of a rat model of aging[J]. *FEBS Open Biol*, 2017, 7(6):759-776.
- [13] AKHTAR M, WOO K M, TAHIR M, et al. Enhancing osteoblast differentiation through small molecule-incorporated engineered nanofibrous scaffold[J]. *Clin Oral Invest*, 2022, 26(3):2607-2618.
- [14] JIN Y, XU L, HU X, et al. Lithium chloride enhances bone regeneration and implant osseointegration in osteoporotic conditions[J]. *J Bone Miner Metab*, 2017, 35(5):497-503.
- [15] INO-KONDO A, HOTOKEZAKA H, KONDO T, et al. Lithium chloride reduces orthodontically-induced root resorption and affects tooth root movement in rats[J]. *Angle Orthod*, 2018, 88(4):474-482.
- [16] LIU J, XIAO Q, XIAO J, et al. Wnt/ β -catenin signalling: function, biological mechanisms, and therapeutic opportunities[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2022, 7(1):3.
- [17] CHEN L, ZHANG M, DING Y, et al. Fluoride induces hypomethylation of BMP2 and activates osteoblasts through the Wnt/ β -catenin signaling pathway[J]. *Chem Biol Interact*, 2022, 356:109870.
- [18] SAIDAK Z, LE HENAFF C, AZZI S, et al. Wnt/ β -catenin signaling mediates osteoblast differentiation triggered by peptide-induced $\alpha 5 \beta 1$ integrin priming in mesenchymal skeletal cells[J]. *J Biol Chem*, 2015, 290(11):6903-6912.
- [19] LI Y, WANG X, LU J. Interleukin-35 promote osteogenesis and inhibit adipogenesis: role of Wnt/ β -catenin and PPAR γ signaling pathways[J]. *Inflammation*, 2023, 46(2):522-533.
- [19] WANG Y, ZHANG X, SHAO J, et al. Adiponectin regulates BMSC osteogenic differentiation and osteogenesis through the Wnt/ β -catenin pathway[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1):3652.
- [20] LIU F, WU M, WU X, et al. TGM2 accelerates migration and differentiation of BMSCs by activating Wnt/ β -catenin signaling[J]. *J Orthop Surg Res*, 2023, 18(1):168.
- [21] HONG G, HE X, SHEN Y, et al. Chrysosplenetin promotes osteoblastogenesis of bone marrow stromal cells via Wnt/ β -catenin pathway and enhances osteogenesis in estrogen deficiency-induced bone loss[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2019, 10(1):277.
- [22] LEUCHT P, LEE S, YIM N. Wnt signaling and bone regeneration: can't have one without the other[J]. *Biomaterials*, 2019, 196:46-50.
- [23] HOUSCHYAR K S, TAPKING C, BORRELLI M R, et al. Wnt pathway in bone repair and regeneration: what do we know so far[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2019, 6:170. (下转第 818 页)

- 2330-2336.
- [11] 杨佳,于君. 高脂饮食、肠道菌群代谢与结直肠癌[J/CD]. 肿瘤代谢与营养电子杂志,2021,8(2):134-138.
- [12] 王一冲,尹腾飞,彭红叶,等. 生活方式对结直肠癌发生发展的影响[J]. 医学综述,2021,27(13):2577-2582.
- [13] FARINETTI A,ZURLO V,MANENTI A,et al. Mediterranean diet and colorectal cancer:a systematic review[J]. Nutrition,2017,43:83-88.
- [14] BRADBURY K E,MURPHY N,KEY T J. Diet and colorectal cancer in UK Biobank:a prospective study[J]. Int J Epidemiol,2020,49(1):246-258.
- [15] 姜春晓,沈永洲,张志浩. 结直肠癌和癌前病变检出率与其危险因素关系[J]. 中国肿瘤,2017,26(11):868-873.
- [16] CROCKETT S D,NAGTEGAAL I D. Terminology, molecular features, epidemiology, and management of serrated colorectal neoplasia[J]. Gastroenterology,2019,157(4):949-966.
- [17] 陈金东. 中国各类癌症的发病率和死亡率现状及发展趋势[J]. 遵义医学院学报,2018,41(6):653-662.
- [18] 陈星宇,孔令斌. 结直肠腺瘤性息肉癌变相关因素及机制研究进展[J]. 中华肿瘤防治杂志,2019,26(5):354-358.
- [19] HALFTER K,BAUERFEIND L,SCHLESINGER-RAAB A,et al. Colonoscopy and polypectomy: beside age,size of polyps main factor for long-term risk of colorectal cancer in a screening population[J]. J Cancer Res Clin Oncol,2021,147(9):2645-2658.
- [20] 郝其源,董宁宁,李鹏,等. 结直肠息肉的治疗:内镜进展[J]. 中国医刊,2021,56(12):1277-1281.
- [21] KEUM N,AUNE D,GREENWOOD D C,et al. Calcium intake and colorectal cancer risk:dose-response meta-analysis of prospective observational studies[J]. Int J Cancer,2014,135(8):1940-1948.
- [22] KEUM N,LEE D H,GREENWOOD D C,et al. Calcium intake and colorectal adenoma risk:dose-response meta-analysis of prospective observational studies[J]. Int J Cancer,2015,136(7):1680-1687.
- [23] LIU S,BARRY E L,BARON J A,et al. Effects of supplemental calcium and vitamin D on the APC/ β -catenin pathway in the normal colorectal mucosa of colorectal adenoma patients[J]. Mol Carcinog,2017,56(2):412-424.
- [24] UM C Y,PRIZMENT A,HONG C P,et al. Associations of calcium,vitamin D, and dairy product intakes with colorectal cancer risk among older women;the Iowa women's health study[J]. Nutr Cancer,2019,71(5):739-748.
- [25] HOSSEINZADEH P,JAVANBAKHT M,AL-EMRAJABI M,et al. The association of dietary intake of calcium and vitamin D to colorectal cancer risk among Iranian population[J]. Asian Pac J Cancer Prev,2019,20(9):2825-2830.
- [26] MAHMOOD S,MACINNIS R J,ENGLISH D R,et al. Domain-specific physical activity and sedentary behaviour in relation to colon and rectal cancer risk:a systematic review and meta-analysis[J]. Int J Epidemiol,2017,46(6):1797-1813.
- (收稿日期:2023-09-18 修回日期:2023-12-29)
(编辑:袁皓伟)
-
- (上接第 810 页)
- [24] APARICIO I M,GARCIA-HERREROS M,FAIR T,et al. Identification and regulation of glycogen synthase kinase-3 during bovine embryo development[J]. Reproduction,2010,140(1):83-92.
- [25] KIM J Y,OH H M,KWAK S C,et al. Purslane suppresses osteoclast differentiation and bone resorbing activity via inhibition of Akt/GSK3 β -c-Fos-NFATc1 signaling in vitro and prevents lipopolysaccharide-induced bone loss in vivo [J]. Biol Pharm Bull,2015,38(1):66-74.
- [26] ALMEIDA M,HAN L,BELLIDO T,et al. Wnt proteins prevent apoptosis of both uncommitted osteoblast progenitors and differentiated osteoblasts by β -catenin-dependent and -independent signaling cascades involving Src/ERK and phosphatidylinositol 3-kinase/AKT[J]. J Biol Chem,2005,280(50):41342-41351.
- (收稿日期:2023-09-21 修回日期:2023-12-31)
(编辑:冯 甜)