

· 论 著 ·

载脂蛋白 D 激活 Wnt/ β -catenin 信号通路参与 牙髓细胞增殖分化过程

林健生, 孔令佳, 鄂佳, 王利娜, 姚志文*

(广东省深圳市宝安区中心医院口腔科, 广东 深圳 518100)

[摘要] **目的** 探究载脂蛋白 D (apolipoprotein D, APOD) 激活果蝇无翅基因蛋白/ β -连锁蛋白 (Wnt/ β -catenin) 信号通路参与牙髓细胞 (dental pulp cells, DPCs) 增殖分化过程。**方法** 体外培养人牙髓细胞 (human dental pulp cells, HDPCs), 设置空白组、APOD 低剂量组、APOD 高剂量组和 si-APOD 组。空白组于 DMEM 培养基培养, APOD 低剂量组向培养基中加入 2 nmol/L APOD, APOD 高剂量组向培养基中加入 32 nmol/L APOD, si-APOD 组采用 APOD si-RNA 转染 HDPCs 细胞。采用 RT-qPCR 检测 APOD mRNA 表达水平, CCK-8 检测细胞增殖能力, 碱性磷酸酶 (alkaline phosphatase, ALP) 活性检测成骨分化能力, Western Blot 检测 Wnt/ β -catenin 通路蛋白表达量。**结果** 与空白组比较, APOD 低剂量组、APOD 高剂量组 APOD mRNA 水平及细胞活力升高, 7、14 d 的 ALP 活性升高, Wnt5a、 β -catenin 蛋白上调 ($P < 0.05$), si-APOD 组 APOD mRNA 水平, 细胞活力降低, 7、14 d 的 ALP 活性降低, Wnt5a、 β -catenin 蛋白下调 ($P < 0.05$); 与 APOD 低剂量组比较, APOD 高剂量组 APOD mRNA 水平及细胞活力升高, 7、14 d 的 ALP 活性升高, Wnt5a、 β -catenin 蛋白上调 ($P < 0.05$), si-APOD 组 APOD mRNA 水平及细胞活力降低, 7、14 d 的 ALP 活性降低, Wnt5a、 β -catenin 蛋白下调 ($P < 0.05$); 与 APOD 高剂量组比较, si-APOD 组 APOD mRNA 水平及细胞活力降低, 7、14 d 的 ALP 活性降低, Wnt5a、 β -catenin 蛋白下调 ($P < 0.05$)。 **结论** APOD 能够促进 HDPCs 细胞的增殖分化, 其作用机制可能与激活 Wnt/ β -catenin 信号通路有关。

[关键词] 牙髓; 细胞增殖; 载脂蛋白 D 类 doi:10.3969/j.issn.1007-3205.2024.07.018

[中图分类号] R322.41 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1007-3205(2024)07-0850-05

Involvement of apolipoprotein D in the proliferation and differentiation of dental pulp cells by activating Wnt/ β -catenin signaling pathway

LIN Jian-sheng, KONG Ling-jia, E Jia, WANG Li-na, YAO Zhi-wen*

(Department of Stomatology, Shenzhen Bao'an District Central Hospital, Guangdong Province, Shenzhen 518100, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the involvement of apolipoprotein D (APOD) in the proliferation and differentiation of dental pulp cells (DPCs) by activating Wnt/ β -catenin signaling pathway in *Drosophila melanogaster*. **Methods** Human dental pulp cells (HDPCs) were cultured in vitro and divided into blank group, low-dose APOD group, high-dose APOD group and si-APOD group. Cells in the blank group were cultured in DMEM medium without any treatment. APOD 2 nmol/L and 32 nmol/L were added to the low-dose APOD group and high-dose APOD group, respectively. HDPCs cells in the si-APOD group were transfected with APOD si-RNA. RT-qPCR was used to detect the expression of APOD mRNA, and CCK-8 was used to detect cell

[收稿日期] 2023-02-14

[基金项目] 广东省自然科学基金一面上项目 (2020A1515011105); 深圳市宝安区科技计划一基础研究项目 (20210513212310001)

[作者简介] 林健生 (1987-), 男, 广东深圳人, 广东省深圳市宝安区中心医院主治医师, 医学学士, 从事口腔科疾病诊治研究。

* 通信作者。E-mail: 592291230@qq.com

proliferation. Alkaline phosphatase (ALP) activity was used to detect osteogenic differentiation, and Western Blot was used to detect Wnt/ β -catenin pathway protein expression. **Results** Compared with blank group, APOD mRNA level and cell viability were increased, ALP activity was increased at 7 d and 14 d, and Wnt5a and β -catenin proteins were up-regulated in low- and high-dose APOD groups ($P < 0.05$). In si-APOD group, APOD mRNA level and cell viability were decreased, ALP activity at 7 d and 14 d was decreased, and Wnt5a and β -catenin proteins were down-regulated ($P < 0.05$). Compared with the low-dose APOD group, the APOD mRNA level and cell viability were increased, the ALP activity was increased at 7 d and 14 d, and the Wnt5a and β -catenin proteins were up-regulated in the high-dose group ($P < 0.05$). In si-APOD group, APOD mRNA level and cell viability were decreased, ALP activity at 7 d and 14 d was decreased, and Wnt5a and β -catenin protein were down-regulated ($P < 0.05$). Compared with the high-dose APOD group, the mRNA level and cell viability of APOD were significantly decreased, the activity of ALP at 7 d and 14 d was decreased, and the proteins of Wnt5a and β -catenin were down-regulated in si-APOD group ($P < 0.05$). **Conclusion** APOD can promote the proliferation and differentiation of HDPCs cells, and its mechanism may be related to the activation of Wnt/ β -catenin signaling pathway.

[**Key words**] dental pulp; cell proliferation; apolipoproteins D

牙髓组织是位于牙髓腔内的结缔组织,由神经、血管及牙髓细胞(dental pulp cells, DPCs)等组成, DPCs 是来源于神经嵴和间充质的多潜能细胞,是牙本质形成的关键。成牙本质细胞的增殖分化是牙胚发育和牙髓组织自我修复的关键^[1-2]。DPCs 的增殖分化作用受到多种因子的影响。载脂蛋白 D (apolipoprotein D, APOD)是载脂蛋白的一种,主要位于血浆中,向身体各部位运输脂类,其他载脂蛋白一般分布于肠道或肝脏中,而 APOD 则分布广泛,在多种组织器官中均有不同程度的表达^[3-4]。有研究显示, APOD 在 DPCs 中低表达,参与 DPCs 的增殖迁移作用^[5]。目前关于 APOD 在 DPCs 增殖分化作用的研究较少,其作用机制尚不清楚,果蝇无翅基因蛋白/ β -连锁蛋白(Wnt/ β -catenin)通路在牙齿的生长发育、损伤修复中均发挥不同作用,因此推测 APOD 可能通过 Wnt/ β -catenin 通路参与 DPCs 的增殖分化作用,本文对此进行研究,以期为牙髓的损伤修复提供新的研究方向。

1 材料与方 法

1.1 材料及主要试剂 取本院因正畸治疗拔除的健康、完整的磨牙样本,从磨牙中取出牙髓组织,并分离牙齿无龋坏或明显神经缺损的人牙髓细胞(human dental pulp cells, HDPCs)。APOD(北京义翘神州科技股份有限公司,货号:HG16797-ACGLN,规格:1Unit);DMEM 培养基(含 10% 胎牛血清,上海传秋生物科技有限公司,货号:

A19010);PCR 试剂盒(深圳海思安生物技术有限公司,货号:SZ-HAS-338);CCK-8 试剂盒(上海广锐生物科技有限公司,货号:R-315)碱性磷酸酶(alkaline phosphatase,ALP)试剂盒(上海钰博生物科技有限公司,货号:IC-ALP-Rb)。CKX53 倒置显微镜(日本奥林巴斯公司);SMI2-2 恒温培养箱(美国 SHELLAB 公司);CMax Plus 光吸收型酶标仪(美国 Molecular Devices 公司);CPC-300 电泳仪(上海百赛生物技术股份有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 从牙齿样本中分离牙髓组织,冲洗后加入 I 型胶原酶,消化 0.5 h 后置于 DMEM 培养基(含 10% 胎牛血清)中,置于细胞培养箱中培养(37 °C,湿度饱和,5% CO₂),得到 HDPCs 细胞, HDPCs 细胞贴壁培养,每 3 天更换 1 次培养基,传代培养至第 3 代用于后续实验^[6]。

1.2.2 细胞分组及处理 取第 3 代 HDPCs 细胞,将其分为 4 组:空白组,不作任何处理;APOD 低剂量组向培养基中加入 2 nmol/L APOD;APOD 高剂量组向培养基中加入 32 nmol/L APOD;si-APOD 组:使用转染试剂(Lipofactamine™ 2000)将 APOD si-RNA 转染至 HDPCs 细胞,各组均继续培养 24 h 后进行实验^[7]。

1.2.3 RT-qPCR 法检测 APOD mRNA 表达水平 取各组 HDPCs 细胞,加入 Trizol 裂解液,吹打至细胞裂解,高速离心 7 min 后(12 000 r/min 离心半径 12 cm),提取细胞总 RNA,根据试剂盒配制逆转

录反应液,反应获得 cDNA,紫外分光光度计定量后按荧光定量试剂盒说明书要求设置反应体系:上、下游引物(终浓度 0.2 μmol/L) 1.0 μL, 2 × Power qPCR PreMix 10 μL, DNA 模板 2.0 μL, 加双蒸水至 20 μL。反应条件:95 °C 预变性 10 min;95 °C 变性 10 s, 60 °C 退火 20 s, 72 °C 延伸 20 s, 40 个循环。以 β-actin 为内参, cDNA 为模板, 2^{-ΔΔCT} 法分析得到 APOD mRNA 水平^[8]。引物序列见表 1。

表 1 引物序列

Table 1 Primer sequence

基因	引物序列	引物长度
APOD	Forward; 5'-ACTCGTTAGCAGCTGAGACTGAC-3'	23bp
	Reverse; 5'-GCGTTGATGTCTCACAGATCTAT-3'	
β-actin	Forward; 5'-AGGAGATCGACGTAGGCTACTC-3'	22bp
	Reverse; 5'-GTAGACACTCAACAGTAACCAT-3'	

1.2.4 CCK-8 检测细胞增殖 取各组 HDPCs 细胞, 细胞密度调整为 1 × 10⁴ /孔, 接种于 96 孔板, 培养 48 h 后, 每孔加入 10 μL 0.5% CCK-8 溶液, 充分混匀后继续培养 4 h, 采用酶标仪检测 450 nm 处波长吸光度值。细胞增殖率 = (试验组吸光度值 - 对照组吸光度值) / 空白组吸光度值 × 100%。设置 3 个复孔, MTT 实验重复 3 次。

1.2.5 ALP 活性的测定检测成骨分化能力 取各组 HDPCs 细胞, 细胞密度调整为 1 × 10⁴ /孔, 接种于 96 孔板, 配置成骨诱导培养基(50 g/L 维生素 C 的 DMEM 培养基中加入 0.1 mol/L 地塞米松及 10 mol/L β-甘油磷酸钠), 与培养的第 7 天和第 14 天提取各组细胞, 采用 ALP 试剂盒检测各组 ALP 活性, 参照试剂盒进行操作, 并于酶标仪检测各孔 420 nm 吸光度值。

1.2.6 Western Blot 检测 Wnt/β-catenin 通路蛋白水平 取各组 HDPCs 细胞, PBS 冲洗后加入配置好的细胞裂解液, 待细胞充分裂解后, BCA 试剂检测蛋白浓度。沸水浴 5 min 使蛋白变性, 取 50 μg 样本混合上样缓冲液, 采用电泳仪进行免疫凝胶电泳, 分离 Wnt5a、β-catenin 蛋白条带, 转移至硝酸纤维素膜, 加入 5% 脱脂奶粉封闭 1 h, 封闭后对应加入稀释好的 Wnt、β-catenin 一抗(1:1 000), 孵育过夜(4 °C)后再加入对应稀释好的山羊抗兔 IgG 二抗(1:8 000), 室温孵育 2 h 后放入暗室显色、曝光, 用 Image J 软件分析灰度值, 目的基因条带灰度/内参 β-actin 条带灰度即为蛋白相对表达量。

1.3 统计学方法 应用 SPSS 20.0 统计软件分析数据。计量资料比较采用单因素方差分析和 SNK-q 检验。P < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 HDPCs 细胞传代培养结果 经传代培养后, HDPCs 细胞呈梭状或长条锁状(图 1)。

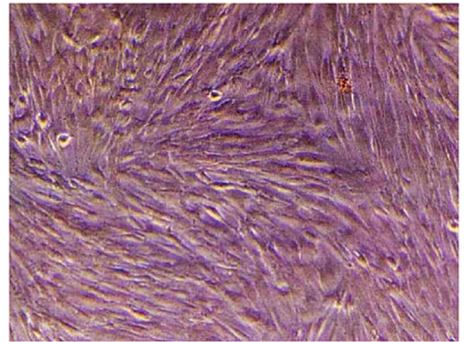


图 1 第 3 代 HDPCs 细胞(结晶紫染色 × 100)

Figure 1 The 3rd generation HDPCs cells (Crystal violet staining × 100)

2.2 各组 HDPCs 细胞 APOD mRNA 水平比较 与空白组比较, APOD 低剂量组、APOD 高剂量组 APOD mRNA 水平升高, si-APOD 组 APOD mRNA 水平降低; 与 APOD 低剂量组比较, APOD 高剂量组 APOD mRNA 水平升高, si-APOD 组 APOD mRNA 水平降低; 与 APOD 高剂量组比较, si-APOD 组 APOD mRNA 水平降低, 差异有统计学意义(P < 0.05), 见表 2。

表 2 各组 HDPCs 细胞 APOD mRNA 水平比较

Table 2 Comparison of APOD mRNA levels in HDPCs cells in each group

(n = 3, $\bar{x} \pm s$)

组别	APOD mRNA
空白组	1.00 ± 0.02
APOD 低剂量组	1.21 ± 0.15*
APOD 高剂量组	1.47 ± 0.17* #
si-APOD 组	0.23 ± 0.03* # Δ
F 值	64.962
P 值	< 0.001

* P 值 < 0.05 与空白组比较 # P 值 < 0.05 与 APOD 低剂量组比较 Δ P 值 < 0.05 与 APOD 高剂量组比较(SNK-q 检验)

2.3 各组 HDPCs 细胞活力比较 与空白组比较, APOD 低剂量组、APOD 高剂量组细胞活力均升高, si-APOD 组细胞活力降低(P < 0.05); 与 APOD 低剂量组比较, APOD 高剂量组细胞活力升高, si-APOD 组细胞活力降低(P < 0.05); 与 APOD 高剂量组比较, si-APOD 组细胞活力降低, 差异有统计学意义(P < 0.05), 见表 3。

2.4 各组 HDPCs 细胞分化能力比较 与空白组比较, APOD 低剂量组、APOD 高剂量组 7、14 d 的 ALP 活性均升高, si-APOD 组 7、14 d 的 ALP 活性降低; 与 APOD 低剂量组比较, APOD 高剂量组 7、

14 d 的 ALP 活性升高, si-APOD 组 7、14 d 的 ALP 活性降低; 与 APOD 高剂量组比较, si-APOD 组 7、14 d 的 ALP 活性降低; 与 7 d 比较, 各组 14 d ALP 活性均升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表 4。

表 3 各组 HDPCs 细胞活力比较

Table 3 Comparison of HDPCs cell activity in each group

($n=3, \bar{x} \pm s, \%$)

组别	细胞活力
空白组	99.52±0.24
APOD 低剂量组	227.35±0.48*
APOD 高剂量组	380.23±0.71*#
si-APOD 组	66.70±5.30*#△
F 值	8 437.668
P 值	<0.001

* P 值 < 0.05 与空白组比较 # P 值 < 0.05 与 APOD 低剂量组比较 △ P 值 < 0.05 与 APOD 高剂量组比较 (SNK- q 检验)

表 4 各组 HDPCs 细胞 ALP 活性比较

Table 4 Comparison of ALP activity of HDPCs cells

in each group

($n=3, \bar{x} \pm s$)

组别	7 d	14 d
空白组	0.78±0.10	0.96±0.16 ^a
APOD 低剂量组	1.56±0.31*	3.61±0.63* ^a
APOD 高剂量组	2.23±0.47*#	5.14±1.02*# ^a
si-APOD 组	0.41±0.07*#△	0.70±0.11*#△ ^a
F 值	23.898	37.346
P 值	<0.001	<0.001

* P 值 < 0.05 与空白组比较 # P 值 < 0.05 与 APOD 低剂量组比较 △ P 值 < 0.05 与 APOD 高剂量组比较 (SNK- q 检验) ^a P 值 < 0.05 与 7 d 比较 (配对 t 检验)

2.5 各组 HDPCs 细胞 Wnt5a、 β -catenin 蛋白表达情况比较 与空白组比较, APOD 低剂量组、APOD 高剂量组 Wnt5a、 β -catenin 蛋白上调, si-APOD 组 Wnt5a、 β -catenin 蛋白下调; 与 APOD 低剂量组比较, APOD 高剂量组 Wnt5a、 β -catenin 蛋白上调, si-APOD 组 Wnt5a、 β -catenin 蛋白下调; 与 APOD 高剂量组比较, si-APOD 组 Wnt5a、 β -catenin 蛋白下调, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表 5, 图 2。

表 5 各组 HDPCs 细胞 Wnt5a、 β -catenin 蛋白表达情况比较

Table 5 Comparison of Wnt5a and β -catenin protein expression in HDPCs cells in each group

($n=3, \bar{x} \pm s$)

组别	Wnt5a	β -catenin
空白组	0.42±0.05	0.79±0.08
APOD 低剂量组	0.83±0.09*	0.92±0.11*
APOD 高剂量组	1.33±0.17*#	1.35±0.19*#
si-APOD 组	0.32±0.04*#△	0.48±0.06*#△
F 值	61.713	26.838
P 值	<0.001	<0.001

* P 值 < 0.05 与空白组比较 # P 值 < 0.05 与 APOD 低剂量组比

较 △ P 值 < 0.05 与 APOD 高剂量组比较 (SNK- q 检验)

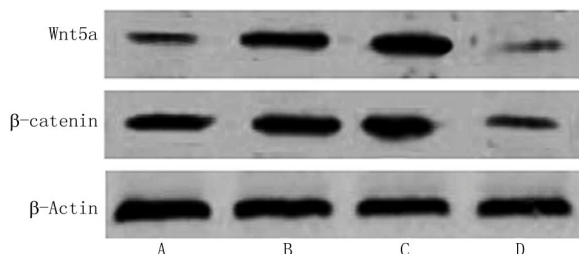


图 2 各组 HDPCs 细胞 Wnt5a、 β -catenin 蛋白表达图

A. 空白组; B. APOD 低剂量组; C. APOD 高剂量组; D. si-APOD 组

Figure 2 Protein expression of Wnt5a and β -catenin in HDPCs cells in each group

3 讨论

骨髓中存在未分化间充质细胞, 在受到外伤、磨损及深龋等刺激时被激活, 并被诱导分化为成牙本质细胞, 生成修复性牙本质, 维持骨髓活力从而阻滞疾病进展, 该种修复潜能是骨髓牙本质复合体再生的重要生物学基础。骨髓组织中 DPCs 具有自我增殖及分化潜能, 当骨髓组织受到病理或外界刺激时, DPCs 加速增殖, 向牙本质分化, 并准确迁移至损伤区域, 从而完成修复过程^[9-10]。DPCs 较强的增殖能力在骨髓组织损伤修复中发挥至关重要的作用^[11-13]。因此, 探究促进 DPCs 增殖的有效方式在改善骨髓损伤修复效果中具有积极意义。

ALP 广泛存在于细胞内及胞外基质中, 其活性升高可增加细胞间质钙钙化, 高表达于成骨细胞内, 是判定细胞成骨分化的重要指标之一^[14-15]。本研究结果显示, 与空白组比较, APOD 低剂量组、APOD 高剂量组细胞活力及 7、14 d 的 ALP 活性均升高, 且 si-APOD 组细胞活力及 7、14 d 的 ALP 活性均降低, 表明 APOD 可增强 ALP 活性, 诱导 DPCs 细胞成骨分化。研究显示, APOD 不仅可作为载脂蛋白运输脂类, 同时还具有脂肪促成素基因的结构特征, 能够与花生四烯酸、胆固醇等疏水小分子结合, 发挥增殖分化的调控作用^[16]。Yu 等^[17] 研究认为, APOD 可减轻骨髓间充质干细胞中糖皮质激素诱导的成骨抑制, 从而影响骨质疏松症进展。

Wnt/ β -catenin 通路是参与调节细胞、增殖、分化、凋亡的重要通路, 在维持机体稳态、器官形成、组织修复及骨生成代谢等过程中发挥重要作用^[18-20]。当 Wnt 信号消失时, β -catenin 与其抑制蛋白结合为复合物, 随着被泛素化降解, Wnt 信号激活时, Wnt5 通过与对应受体结合形成复合体, 降低其对游离 β -catenin 的促磷酸化作用, 游离 β -catenin 进入胞核后, 促进下游成骨细胞转录因子转录, 从而促进成骨

分化^[21]。关孟莹等^[22]研究证实,红芪多糖能够诱导 DPCs 凋亡,其作用与激活 Wnt 通路有关。王静等^[23]研究显示,SFRP1 能够通过调控 Wnt/ β -catenin 通路抑制 hDPSCs 增殖、迁移及分化能力。Wnt5a 是非经典 Wnt 通路中重要的蛋白,研究认为缺乏 Wnt5a 蛋白会导致牙胚发育及成牙本质分化迟缓^[24-26]。本研究结果显示,与空白组比较,APOD 低剂量组、APOD 高剂量组 Wnt5a、 β -catenin 蛋白上调,表明 APOD 能够激活 Wnt/ β -catenin 通路。通过 si-APOD 转染后的 HDPCs 细胞 Wnt5a、 β -catenin 蛋白下调,提示 APOD 可能通过激活 Wnt/ β -catenin 通路诱导 HDPCs 细胞的增殖分化。

综上所述,APOD 能够促进 HDPCs 细胞的增殖分化,其作用机制可能与激活 Wnt/ β -catenin 信号通路有关。目前关于 APOD 在促进 HDPCs 细胞增殖分化的最佳浓度尚无确切定论,未来可增加多浓度的 APOD 进行研究,了解促进 HDPCs 细胞增殖分化的 APOD 最佳浓度,以期为牙髓相关疾病的治疗提供新的研究方向。此外,本研究为纯细胞实验,无法完全模拟体内环境,今后需构建动物模型,进一步观察 APOD 对牙髓细胞增殖分化的影响及机制。

[参考文献]

[1] Sui B, Wu D, Xiang L, et al. Dental pulp stem cells: from discovery to clinical application[J]. *J Endod*, 2020, 46(9S): S46-S55.

[2] 何飞,谭颖徽,杨峥嵘.体外人牙髓细胞的连续培养[J].第三军医大学学报,2002,24(7):836-839.

[3] Peng Z, Xing Q, Kurgan L. APOD: accurate sequence-based predictor of disordered flexible linkers[J]. *Bioinformatics*, 2020, 36(Suppl2): i754-i761.

[4] 赵琦琦,李奕昕,焦倩,等.载脂蛋白 D 对神经干细胞增殖的作用[J].青岛大学学报(医学版),2021,57(5):653-656.

[5] 徐帅妹,曾雄群,元佩燕,等.载脂蛋白 D 在人牙髓细胞增殖及迁移中的作用[J].口腔疾病防治,2019,27(6):355-359.

[6] 庞真贞,李硕,刘钦赞,等.人牙髓干细胞,牙周膜干细胞表型及生长特性分析[J].河北医药,2020,42(1):99-101,105.

[7] 付洪海,孙乐刚,丁昌成,等.miR-31-5p 对牙髓干细胞 HIF-1 α /BNIP3 信号通路及成骨相关因子表达的影响[J].上海口腔医学,2022,31(3):237-242.

[8] Zucha D, Kubista M, Valihrach L. Tutorial: guidelines for single-cell RT-qPCR[J]. *Cells*, 2021, 10(10):2607.

[9] 熊梦琳,吴龙,马丽,等.转化生长因子- β 2 促进牙髓干细胞增殖和分化的作用研究[J].国际口腔医学杂志,2021,48(6):635-639.

[10] Son JW, Choi SH, Jang JH, et al. Irisin promotes odontogenic differentiation and angiogenic potential in human dental pulp

cells[J]. *Int Endod J*, 2021, 54(3):399-412.

[11] Zhao J, Du W, Guo D, et al. Mechanical signaling in dental pulp stem cells[J]. *Front Biosci (Landmark Ed)*, 2023, 28(10):274.

[12] Giabicani E, Pham A, Sélénou C, et al. Dental pulp stem cells as a promising model to study imprinting diseases[J]. *Int J Oral Sci*, 2022, 14(1):19.

[13] Liu P, Zhang Y, Ma Y, et al. Application of dental pulp stem cells in oral maxillofacial tissue engineering[J]. *Int J Med Sci*, 2022, 19(2):310-320.

[14] Guo J, Chen Z, Xiao Y, et al. SATB1 promotes osteogenic differentiation of diabetic rat BMSCs through MAPK signalling activation[J]. *Oral Dis*, 2023, 29(8):3610-3619.

[15] Hosseini V, Paryan M, Koochaki A, et al. Mir-4699 promotes the osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells[J]. *J Bone Miner Metab*, 2023, 41(4):481-491.

[16] 戴莹莹,阎春玲,毕明霞,等.载脂蛋白 D 对多巴胺能神经元的保护作用[J].青岛大学学报(医学版),2020,56(2):140-142.

[17] Yu RH, Zhang XY, Xu W, et al. Apolipoprotein D alleviates glucocorticoid-induced osteogenesis suppression in bone marrow mesenchymal stem cells via the PI3K/Akt pathway[J]. *J Orthop Surg Res*, 2020, 15(1):307.

[18] Anthony CC, Robbins DJ, Ahmed Y, et al. Nuclear regulation of Wnt/ β -catenin signaling: it's a complex situation[J]. *Genes (Basel)*, 2020, 11(8):886.

[19] Li D, Sun J, Zhong TP. Wnt signaling in heart development and regeneration[J]. *Curr Cardiol Rep*, 2022, 24(10):1425-1438.

[20] Li Y, Liu C, Zhang X, et al. CCT5 induces epithelial-mesenchymal transition to promote gastric cancer lymph node metastasis by activating the Wnt/ β -catenin signalling pathway[J]. *Br J Cancer*, 2022, 126(12):1684-1694.

[21] Deng L, Yi S, Yin X, et al. MFN2 knockdown promotes osteogenic differentiation of iPSC-MSCs through aerobic glycolysis mediated by the Wnt/ β -catenin signaling pathway[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2022, 13(1):162.

[22] 关孟莹,何丽娜,潘爽,等.经典 Wnt 信号通路对 hDPSCs 增殖、迁移和成牙本质向分化的影响[J].口腔医学研究,2020,36(9):861-865.

[23] 王静,殷金萍,孙亚丽,等.SFRP1 对人牙髓干细胞增殖迁移和分化的影响[J].实用口腔医学杂志,2022,38(4):439-444.

[24] 戴银花,戴群,彭凯辉,等.红芪多糖通过 Wnt 通路减轻脂多糖诱导牙髓细胞凋亡的作用及机制[J].临床口腔医学杂志,2022,38(5):264-268.

[25] Kornsthisopon C, Chansaenroj A, Manokawinchoke J, et al. Non-canonical Wnt signaling participates in Jagged1-induced osteo/odontogenic differentiation in human dental pulp stem cells[J]. *Sci Rep*, 2022, 12(1):7583.

[26] 王梦琪,夏依达·阿哈提,王智享,等.Wnt5a 对牙囊细胞在破骨细胞生成中表达 OPG 和 RANKL 的影响[J].临床口腔医学杂志,2020,36(2):71-74.