

综述

组蛋白去乙酰化酶及其抑制剂在牙源性干细胞成骨和成牙本质分化中的研究进展

李东雨^{1,2}, 朱小苗², 赵继荣^{1*}, 何文喜^{3*}

¹延安大学生命科学学院, 陕西延安 716000; ²军事口腔医学国家重点实验室/口腔疾病国家临床医学研究中心/陕西省口腔医学重点实验室/空军军医大学口腔医学院牙体牙髓病科, 陕西西安 710032; ³空军军医大学空军特色医学中心口腔科, 北京 100142

[中图分类号] R781 [文献标志码] A [DOI] 10.11855/j.issn.0577-7402.2366.2023.0919

[声明] 本文所有作者声明无利益冲突

[引用本文] 李东雨, 朱小苗, 赵继荣, 等. 组蛋白去乙酰化酶及其抑制剂在牙源性干细胞成骨和成牙本质分化中的研究进展[J]. 解放军医学杂志, 2024, 49(4): 468-474.

[收稿日期] 2022-11-23

[录用日期] 2023-03-09

[上线日期] 2023-09-19

[摘要] 组蛋白去乙酰化酶(HDACs)可使组蛋白去乙酰化, 与DNA结合更加紧密, 从而发挥抑制基因转录的作用。相反, 组蛋白去乙酰化酶抑制剂(HDACis)有利于染色质松弛, 使各种转录因子与DNA特异性结合, 发挥激活转录基因的作用。牙源性干细胞(DSCs)是人成体干细胞, 此类细胞具有取材时损伤小和免疫排斥反应低等特点, 在成骨、成牙本质等分化过程中是极其重要的种子细胞。大量研究表明, HDACs及HDACis两者在细胞分裂分化、信号转导、调控细胞炎症等多种生命过程中共同发挥作用。本文对组蛋白修饰中HDACs以及HDACis在DSCs成骨和成牙本质分化中的研究进展进行综述, 旨在为研究HDACs及HDACis之间的相互作用, 并有望对DSCs治疗牙齿及骨损伤的临床应用提供参考。

[关键词] 组蛋白去乙酰化酶; 组蛋白去乙酰化酶抑制剂; 牙源性干细胞; 分化

Research progress of histone deacetylase and its inhibitors in osteogenesis and odontogenic differentiation of odontogenic stem cellsLi Dong-Yu^{1,2}, Zhu Xiao-Miao², Zhao Ji-Rong^{1*}, He Wen-Xi^{3*}¹College of Life Sciences, Yan'an University, Yan'an, Shaanxi 716000, China²State Key Laboratory of Military Stomatology/National Clinical Research Center for Oral Diseases/Key Laboratory of Stomatology of Shaanxi Province/Department of Dentistry and Endodontics, School of Stomatology, Air Force Medical University, Xi'an, Shaanxi 710032, China³Department of Stomatology, Air Force Medical Center, Air Force Medical University, Beijing 100142, China

*Corresponding author. He Wen-Xi, E-mail: hewenxi@fmmu.edu.cn; Zhao Ji-Rong, E-mail: zjr520999@126.com

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (81970932), and the Shaanxi Natural Science Basic Research Program-Key Project (2022JZ-42)

[Abstract] Histone deacetylases (HDACs) can deacetylate histones, leading to tighter DNA binding, and thereby playing a role in inhibiting gene transcription. On the contrary, histone deacetylase inhibitors (HDACis) can promote chromatin relaxation, enabling various transcription factors to bind specifically to DNA and activate transcription genes. Dental stem cells (DSCs) are human adult stem cells. These cells have the characteristics of less damage and low immune rejection during sampling, and are especially important seed cells in the process of osteogenesis, odontogenesis and other differentiation. A large number of experimental studies have shown that HDACs and HDACis together play important roles in cell division and differentiation, signal transduction, regulation of cellular inflammation and other life processes. This review summarizes the research progress of HDACs and HDACis in

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81970932); 陕西自然科学基金基础研究计划-重点项目(2022JZ-42)

[作者简介] 李东雨, 硕士研究生, 主要从事生物化学与分子生物学方面的研究

[通信作者] 何文喜, E-mail: hewenxi@fmmu.edu.cn; 赵继荣, E-mail: zjr520999@126.com

regulating osteogenic and odontogenic differentiation of DSCs, aiming to provide insights into the study of the interaction between HDACs and HDACis, and potentially guide clinical application of DSCs in the treatment of tooth and bone injury.

[Key words] histone deacetylase; histone deacetylase inhibitors; odontogenic stem cells; differentiation

多数研究发现, 牙源性干细胞(dental stem cells, DSCs)是来源于牙齿组织的间充质干细胞, 可从因治疗需要而拔除的牙齿中获取^[1-2]。截至目前, 已经分离并鉴定出6种不同类型的DSCs, 包括牙髓干细胞(dental pulp stem cells, DPSCs)、脱落乳牙干细胞(stem cells from human exfoliated deciduous teeth, SHED)、牙周膜干细胞(periodontal ligament stem cells, PDLSCs)、根尖乳头干细胞(stem cells of apical papilla, SCAP)、牙囊干细胞(dental follicle stem cells, DFSCs)和牙龈间充质干细胞(gingival mesenchymal stem cells, GMSCs)等^[3]。DSCs经诱导后可分化为多种细胞类型^[4], 但具体的分化机制尚不清楚, DSCs的这种自我更新和多向分化能力为研究DSCs再生及分化的临床治疗打下了坚实的基础。表观遗传学是一种不改变细胞基因序列来调控基因表达的方式, 目前包括4种机制, 分别为染色质重塑、组蛋白修饰、非编码RNA表达和DNA甲基化^[5]。本文对组蛋白修饰中组蛋白去乙酰化酶(histone deacetylase, HDACs; 如HDAC1-11、SIRT1-7)及组蛋白去乙酰化酶抑制剂(histone deacetylase inhibitors, HDACis; 如链脂肪酸、羟基氨基酸、环肽和苯甲酰胺)在DSCs成骨和成牙

本质分化中的进展进行综述, 旨在为DSCs治疗牙齿及骨损伤的临床应用提供参考。

1 HDACs及其抑制剂HDACis

自1969年开始, Inoue等^[6-7]发现组蛋白的酶可以去除乙酰化, 并从小牛胸腺中提取出HDACs。乙酰化主要受组蛋白乙酰转移酶(HATs)和HDACs两类关键酶的动态调节, 其中, HATs通过将乙酰辅酶A的乙酰基转移至N末端内部赖氨酸残基的ε-氨基来催化组蛋白的赖氨酸乙酰化, 乙酰基的加入改变了染色质结构和基因表达^[8]; HDACs可促进组蛋白的去乙酰化修饰来调节染色质的转录凝集, 从而改变细胞生命过程, 包括干细胞分化、细胞周期、凋亡、基因表达、血管生成及神经源性分化等^[9-12]。在成牙过程中, 组蛋白乙酰化和去乙酰化在DSCs成牙分化中起着至关重要的作用^[13]。真核细胞HDACs目前已知有18种亚型, 基于序列同源性可将其分为4类: I类(HDAC1、2、3和8)、II类(HDAC4、5、6、7、9和10)、III类沉默信息调节因子(SITR)相关酶类、IV类(HDAC11), 其相关分布及作用见表1。

HDACis的发现早于其靶点的发现, 1977年

表1 HDACs及其抑制剂的分类、分布位置及作用

Tab.1 Classification, location, and role of histone deacetylases (HDACs) and their inhibitors

分类	具体成员	分布位置及作用
HDACs		
I a HDACs	HDAC1、2、3、8	分布在细胞核内, 主要作用是抑制基因的转录 ^[14-19]
II a HDACs	HDAC4、5、6、7、9、10	主要存在于细胞核和细胞质中, 该亚族成员的功能与细胞分化相关 ^[20-31]
III a HDACs	SITR1-7	其中SIRT1、6、7位于细胞核, SIRT2位于细胞质, SIRT3、4、5分布在线粒体中 ^[32-41]
IV a HDACs	HDAC11	存在于细胞核中, 因其与已知的HDAC家族仅有微小的同源性, 故单独一类, 具有去乙酰化酶活性 ^[42]
HDACis		
I 异羟肟酸类	TSA、SAHA等	作用于所有I类和II类HDACs, 参与NF-κB、Wnt/β-catenin、JNK/c-Jun等通路, 促进增殖再生, 成骨分化, 抑制炎症 ^[15,43-56]
II 短链脂肪酸类	VPA等	参与p53通路, 循环使用降低细胞增殖 ^[16,57-59]
III 苯甲酰胺类	MS-275等	I a HDACs的抑制活性较高, 促进DSCs成骨/成牙本质分化 ^[60-63]
IV 环肽类	FK228等	I a HDACs的抑制活性较高

HDACs. 组蛋白去乙酰化酶; HDACis. 组蛋白去乙酰化酶抑制剂; TSA. 曲古抑菌素A; SAHA. 伏立诺他; VPA. 丙戊酸; MS-275. 恩替诺特; FK228. 罗米地辛; SITR1-7. 沉默信息调节因子相关酶类; NF-κB. 核因子κB; Wnt/β-catenin. Wnt/β-连环蛋白; JNK. c-Jun氨基末端激酶; p53. p53转录因子

Riggs等^[64]发现, 丁酸钠可引起培养细胞中组蛋白的可逆性高度乙酰化, 随后越来越多的HDACis被发现, HDACis的化学成分包括短链脂肪酸、羟基氨基酸、环肽和苯甲酰胺, 不同HDACis作用的靶点和抑

制浓度大不相同^[59,65]。HDACis具有调节细胞功能的作用, 部分抑制化合物已进入临床试验阶段, 如曲古抑菌素A(TSA)、丁酸钠(NaB)、伏立诺他(vorinostat, SAHA)、苯丁酸酯及丙戊酸(VPA)^[66]等。

多项体外实验发现, HDACs除发挥抗癌作用外, 也广泛应用于其他类型的非恶性疾病^[67-69]。部分HDACs(如 SAHA、VPA)小剂量即可诱导 DSCs 成牙本质及成骨分化^[59]。综上, HDACs 和 HDACis 可相互调控来促进成牙本质及成骨基因的表达^[57], 潜在地奠定了牙与骨再生组织工程学的基础。

2 HDACs 与 DSCs 分化的关系

2.1 I 类 HDACs I 类 HDACs 一般具有与 HDAC1 类似的性质, 具有很强的去乙酰化酶活性, 在细胞内承担了最为主要的去乙酰化功能, 主要定位于细胞核。有研究发现, POSS-P6-U2 聚合物前体的双交联胶凝系统具有定向微结构和最佳力学性能, 可在体外和体内控制 PDLSCs 的成骨能力, 抑制 HDAC1 后, POSS-P6-U2 双交联胶凝系统明显降低了 PDLSCs 的成骨能力^[14]。HDAC2 可促进 DPSCs 的成骨分化。采用 shRNA 沉默 HDAC2 对成骨细胞相关标志物的表达可产生与丙戊酸处理相似的效果, 即增加骨桥蛋白(OPN)和骨涎蛋白(BSP)的表达, 降低骨钙素水平^[15]。另外, miR-193b-3p 抑制了 HDAC3 的表达, 并促进了组蛋白 H3 乙酰化, 增加软骨特异性基因表达并增强人类软骨细胞中的软骨形成^[16]。Man 等^[17]发现, 细胞表观遗传学的修饰在调节分化中起着重要作用, 用 HDAC2、3 选择性抑制剂 MI192 诱导表观遗传重编程, 可促进 hDPSC 的成骨能力, 促进骨再生。另有研究发现, 牙髓细胞被诱导为成牙本质细胞时, Krüppel 样因子 4(KLF4)可通过影响人成牙本质基质蛋白 1(DMP1)和 Sp7 启动子区域的组蛋白乙酰化, 以及与 HDAC3 的相互作用来调节 hDPSCs 向牙本质细胞的分化^[18-19]。HDAC8 对大鼠骨髓间充质干细胞成骨分化有抑制作用, 在 DSCs 暂无文献报道。

2.2 II 类 HDACs II 类 HDACs 可组装成多蛋白复合物, 参与转录重编程。与其他表观遗传修饰因子类似, II 类 HDACs 不识别 DNA, 而是通过与特殊转录因子相互作用, 以序列依赖的方式在特定基因组区域招募 DNA^[20]。

HDAC4 和 HDAC5 可调控骨的形成。有研究建立了动物软骨缺损模型, miR-365 过表达可直接抑制 HDAC4, 从而促进骨髓间充质干细胞(BMSCs)的软骨再生^[21]。此外, HDAC5 在调节细胞类型特异性基因表达方面发挥着重要作用^[22]。HDAC5 基因敲除小鼠的硬化素(SOST)水平明显升高, 而 SOST 可抑制成骨细胞的骨形成, 使骨小梁骨密度降低, 提示 HDAC5 可通过直接调控骨细胞中 SOST 的基因表达而影响成骨形成^[23]。Huang 等^[24]发现, miR-22 可抑制其靶标 HDAC6 蛋白表达水平, 后者在脂肪间充质

干细胞的成脂分化和成骨分化中发挥了关键的调节作用。Ma 等^[25]通过抑制 HDAC6 的表达、激活成骨相关蛋白 Runt 相关转录因子 2(Runx2)的表达, 可促进老年小鼠的成骨分化潜力, 并改善老年性骨质疏松状况。目前, 已经开发了一系列 HDAC6 选择性抑制剂如 ACY-241、ACY-1215 和 KA2507 等^[26-28]。HDAC7 通过 microRNA(miRNA)调控部分 DSCs 基因的表达, 增加成骨标志物的表达。在 hDPSCs 中, 成骨特性被 Smad 家族成员 7(Smad7)、人源重组蛋白(Smurfl)和 HDAC7 介导, 并增强了 Runx2 的表达^[29]。HDAC9 沉默或表达升高改变了 miRNA 的表达, 从而影响 DSCs 的增殖和分化。沉默 HDAC9 可使 PDLSCs 的增殖能力增强, 使人牙周膜干细胞(hPDLSCs)在成骨分化过程中的 iR-383-5p 表达逐渐增高, 从而使 HDAC9 mRNA 水平降低^[30]。HDAC9 与 miR-17 可形成一个抑制环, 抑制 miR-17 会加重处于炎症状态的 PDLSC 中钙化结节的丢失, 并中断 HDAC 抑制剂在挽救成骨中的作用^[31], 提示 HDAC9 或许可对 PDLSC 的增殖和成骨分化发挥负向调控作用。

随着国内外学者对 II 类 HDAC 的深入研究, HDAC 通过调控多种干细胞在成骨分化中的作用机制逐渐清晰, 为 DSCs 的成骨、成牙本质分化研究提供了基础。

2.3 III 类和 IV 类 HDACs 近年来, 大多数 III 类和 IV 类 HDACs 的主要研究方向集中于 SIRT, 其中, 哺乳动物 SIRT2 同源基因被鉴定为 SIRT1-7, 存在于多个亚细胞区段。

SIRT 可通过 miRNA 改变部分 DSCs 的基因表达, 从而调控成骨分化。PDLSCs 中的 miR-22-3p 可通过沉默 SIRT1 的表达来调节 PDLSCs 的增殖和分化^[32]。此外, miR-152 SIRT7 轴在 hDPSCs 的衰老调控中起关键作用, 为提高 hDPSCs 的功能和治疗潜能提供了候选靶点。SIRT7 为 miR-152 的靶点, 在衰老的 hDPSCs 中其表达下调, 而 SIRT7 过表达则可抑制 miR-152 诱导的衰老^[33]。

SIRT 通过影响细胞周期和细胞增殖等来调控部分 DSCs 的基因表达。Zhang 等^[34]发现, SIRT1 的激活和抑制在调节细胞增殖方面具有高效功能, 且 SIRT1 是 PDLSCs 和 SCAP 成骨分化的强大调节剂。有研究发现, SIRT1 是神经元控制骨量的转录调节剂^[35]。Kim 等^[36]发现, 酪蛋白激酶 2 通过泛素特异蛋白酶 4(ubiquitin-specific protease, USP4)介导 SIRT1 的稳定来控制骨细胞中硬化蛋白的表达; 骨细胞中酪蛋白激酶 2 调控亚基 Csnk2b 的缺失可导致骨量减少。此外, 小鼠体内研究发现, SIRT 通过影响膜内和软骨质骨化及骨吸收来影响骨骼发育, 维持骨密度和骨强度^[37]。IGFBP7 通过糖酵解线粒体电子传递链激

活 SIRT1 脱乙酰酶的生物活性, 减少 p21 的转录, 最终阻止 DPSCs 的衰老, 并促进组织再生^[38]。SIRT7 通过细胞周期、细胞增殖和凋亡途径影响 SCAPs 的功能^[39]。

SIRT 可通过 NF- κ B 等通路影响部分 DSCs 基因的表达。KLF5 可转录激活 SIRT6, 下调 KLF5 基因可通过介导 NF- κ B 通路逆转 SIRT6 对脂多糖(LPS)诱导的 PDLSCs 增殖、炎症和成骨分化的影响^[40]。此外, Lin 等^[41]证实, 通过 AMPK/ERK/SIRT1 轴可增强 hDPSCs 的自我更新能力和增殖潜能。

作为第 IV 类 HDACs 中唯一的一种, 有研究表明, HDAC11 与转录机制有关, 可调节中性粒细胞中炎症和迁移相关基因的表达^[42], 但目前尚未见在 DSCs 中的研究报道。以上研究结果提示, HDACs 在成骨分化、组织再生中扮演重要的角色, 而选择性调控 HDACs 对于干细胞组织工程学的意义仍需更深入地研究。

3 HDACis 与 DSCs 分化的关系

3.1 羟脲酸盐类

3.1.1 TSA TSA 是一种特异的 HDAC class I / II 抑制剂。TSA 可通过控制炎症细胞因子的分泌来抑制炎症的产生。此外, 一定浓度的 TSA 可促进 DSCs 的基质矿化能力和成骨相关蛋白的表达; 还可加速体外矿物结节的形成, 并增加牙本质涎磷蛋白、牙本质基质蛋白 1、骨唾液蛋白和骨钙素基因的表达, 而激活 JNK/c-Jun 通路是 TSA 依赖的 hDPSCs 增殖分化的必要条件, Smad3 的特异性抑制剂则可抑制 TSA 从而对 hDPSCs 的矿化^[43]。Luo 等^[44]发现, 用 0.2、2、20、100、500 nmol/L 的 TSA 处理后, hDPSCs 细胞数目增多, 其中 20 nmol/L TSA 对 hDPSCs 的影响最大, 大于 100 nmol/L TSA 则可使 hDPSCs 的生长活性明显降低。TSA 还可通过抑制 HDACs 明显促进 hPDLSCs 的成骨分化潜能^[45]。hPDLSCs 同时高表达 I 类 HDACs (HDAC1、2、3) 和 II 类 HDACs (HDAC4、6); TSA 除影响组蛋白外, 还能诱导 Runx2 的过乙酰化, 这可能是 hPDLSCs 促进成骨的重要机制^[46]。

体内实验也表明 TSA 对骨再生有很大的潜力, Sukpaita 等^[47]通过小鼠颅骨缺损模型证实, 荷载 TSA 的壳聚糖支架应用于受损骨质的修复时, 可增强其成骨能力。Cong-Nhat 等^[48]同样利用小鼠颅骨模型阐述了 TSA 与干细胞联合使用的可行性, 将预处理的 hPDLSCs 与 TSA 共同孵育, 通过共聚物支架植入体内后可促进体内的骨再生, 提示 HDACis 复合材料将有望为成牙本质及成骨再生分化的临床应用提供新的方法。

3.1.2 SAHA SAHA 是一种 HDACis, 安全且可耐

受, 目前已大量应用于临床^[49]。SAHA 在纳摩尔级浓度即可抑制 HDAC1、HDAC2 和 HDAC3 (I 型) 及 HDAC6 (II 型) 的酶活性, 通过诱导细胞分化、阻断细胞周期、诱导细胞调控而发挥作用。SAHA 本身不能诱导碱性磷酸酶(ALP)活性, 但可增强骨形态发生蛋白-2(BMP-2)诱导的 ALP 活性^[50]。在成骨诱导过程中, 短期、低剂量的 SAHA 可通过调节基质金属蛋白酶通路及组织蛋白酶来促进 DPSCs 的骨向分化^[15]。此外, 有研究发现, SAHA 可协同 N-(4-羟苯基) 视黄酰胺的治疗功效, 可明显降低大鼠 C6 和人 T98G 胶质母细胞瘤细胞的生存能力, 被认为是体内治疗胶质母细胞瘤有前景的治疗策略^[51]。2006 年, FDA 批准了第一个用于癌症治疗的 HDACis, 即 SAHA^[52], 随后 FDA 又批准了另外 3 种 HDACis (帕比司他^[53]、罗米地辛^[54]和贝利司他^[55])。

小鼠骨缺损体内模型发现, SAHA 可通过骨形态发生蛋白 2(BMP-2) 诱导破骨细胞生成^[50]。此外, SAHA 作为免疫抑制剂, 还可减轻外周血单个核细胞的炎症反应, 以降低急性移植抗宿主病(GVHD) 的发病率^[56]。虽然 SAHA 已应用于临床癌症、抗移植免疫等治疗并取得一定效果, 但对于其在干细胞疗法方面的研究较少, 仍需大样本量的临床研究进行验证。

3.2 短链脂肪酸类

3.2.1 VPA VPA 是有效的 HDACs 抑制剂, 可抑制 HDAC1 的活性, 同时可诱导 HDAC2 的降解。VPA 可促进部分 DSCs 的迁移、黏附及相关成骨蛋白的表达。有研究发现, 当 hDPSCs 暴露于 1 mmol/L VPA 后, 趋化因子和黏附分子水平即明显升高^[57]。VPA 还通过抑制 HDAC2 增加骨桥蛋白和骨涎蛋白的表达, 促进 hDPSCs 成骨矿化结节的形成^[15]。

此外, VPA 在体外和体内对 PDLSCs 的增殖和分化具有不同的作用^[15]。VPA 在细胞中的给药剂量和频率尤为重要。适宜浓度的 VPA 可促进 DPSCs 中的牙本质基质蛋白-1 的表达而促进矿化, 但当 VPA 浓度较高时, 细胞中的凋亡标记蛋白 caspase-3 活性明显增强, 并抑制细胞增殖^[58]。此外, 由于 VPA 细胞毒性高, 在体内移植的治疗过程中可使 PDLSCs 发生坏死, 但以合适的频率给药则可提高成骨能力。Um 等^[57]使用经 VPA 间断给药处理后的 PDLSCs 移植入裸鼠体内, 可诱导 PDLSCs 产生更多的骨样组织。无论是体外研究还是体内应用, 探究更精准的 VPA 药物应用策略极其重要, 可为临床疾病的治疗提供理论依据。

3.2.2 丁酸盐 NaB 同时可诱导多种细胞的凋亡情况。有研究发现, 100 μ mol/L NaB 可促进成骨蛋白 Runx2、osterix、OC 和 BSP 的表达, 并明显抑制 LPS

诱导的活性氧的产生和促炎细胞因子(IL-1 β 和TNF- α)的表达^[59]。进一步研究证实, NaB抑制PDLSCs中的HDACs后可改善炎症损伤部位牙槽骨的骨吸收^[59], 提示NaB可作为DSCs再生的一种潜在的治疗药物。

3.3 苯甲酰胺类 恩替诺特(entinostat, MS-275)是苯甲酰胺类中的一种, 且为可口服HDAC 1-3的抑制剂, 具有逆转主要调节蛋白的协同活性的能力^[60]。有研究发现, MS-275在DPSCs分化过程中可促进牙本质基质蛋白1、ALP、牙本质涎磷蛋白和Runx2的表达, 诱导其分化为成牙本质细胞样细胞, 且MS-275细胞毒性较小^[61]。Sultana等^[62]发现, HDACis可上调牙源性或成骨相关基因的mRNA表达水平, 进而促进牙髓细胞的矿化, 1.0 $\mu\text{mol/L}$ MS-275诱导MDPC-23细胞成牙本质分化和矿化的作用最强, 提示HDACis可能用于牙髓的非手术治疗。目前, MS-275被用于多个临床疾病的治疗, 被证实是牙本质-牙髓复合体内再生生物材料的新的治疗候选药物^[60-63]。

4 总结与展望

HDACs及HDACis可参与细胞分裂分化、信号转导, 细胞炎症的调控, 以及成骨蛋白的表达等多种生命过程, 是驱动干细胞分化成骨、成牙本质的重要表观因素, 极大丰富了人们对干细胞分化进程的认识。作为一种不改变基因的表观遗传学方法, HDACs及HDACis在DSCs及骨组织中的作用很活跃, 深入了解DSCs生命过程中的表观遗传调控, 有助于研究DSCs分裂过程中的多向分化。

HDACs及HDACis目前已被广泛研究, 但干细胞分化成牙本质及成骨分化形成过程中的影响因素众多, 如炎症因子、支架材料应用、外泌体及miRNA均与其再生密切相关, 任何促进牙本质生成及骨再生的因素都可能成为治疗DSCs再生的切入点, 因此, HDACs及HDACis之间的相互作用是治疗牙齿及骨损伤再生的靶点。但是, 目前只能在剂量上调控HDACs, 而关于联合应用及精准给药方式的研究较少, 且多局限于体外实验和动物模型^[8,13]。关于HDACis的作用仍存在争议, 虽然体外研究表明HDACis可促进成骨分化^[47-48], 但McGee-Lawrence等^[70]的一项临床研究发现, 在癌症治疗期间使用HDACis的患者骨密度明显降低, 且HDACs抑制存在全身效应。因此, 研发选择性的乙酰化抑制剂和靶向给药方法, 将有望为成牙本质及骨再生分化的临床应用提供新的方法和研究思路。未来应对HDACs及HDACis进行大量配伍研究, 联合多种药物治疗进行针对性实验, 以期找到DSCs再生分化的

具体方向及方法。

【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] Das M, Sloan AJ. Stem cell sources from human biological waste material: a role for the umbilical cord and dental pulp stem cells for regenerative medicine[J]. *Hum Cell*, 2023, 36(4): 1312-1325.
- [3] Safa A, Şahin F. Stem cells derived from dental tissues[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2019, 1144: 123-132.
- [4] Gan L, Liu Y, Pan Y, *et al.* Dental tissue-derived human mesenchymal stem cells and their potential in therapeutic application[J]. *Stem Cells Int*, 2020, 2020: 8864572.
- [5] Zhang L, Lu Q, Chang C. Epigenetics in health and disease[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2020, 1253: 3-55.
- [6] Inoue A, Fujimoto D. Enzymatic deacetylation of histone[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1969, 36(1): 146-150.
- [7] Inoue A, Fujimoto D. Histone deacetylase from calf thymus[J]. *Biochim Biophys Acta*, 1970, 220(2): 307-316.
- [8] Ding P, Ma Z, Liu D, *et al.* Lysine acetylation/deacetylation modification of immune-related molecules in cancer immunotherapy[J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 865975.
- [9] Ramaiah MJ, Tangutur AD, Manyam RR. Epigenetic modulation and understanding of HDAC inhibitors in cancer therapy[J]. *Life Sci*, 2021, 277: 119504.
- [10] Sun Y, Hong JH, Ning Z, *et al.* Therapeutic potential of tucidinostat, a subtype-selective HDAC inhibitor, in cancer treatment[J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 932914.
- [11] Ma ZQ, Feng YT, Guo K, *et al.* Melatonin inhibits ESCC tumor growth by mitigating the HDAC7/ β -catenin/c-Myc positive feedback loop and suppressing the USP10-maintained HDAC7 protein stability[J]. *Mil Med Res*, 2023, 10(2): 207-226.
- [12] 王丹, 李芳伟, 万毅新. 组蛋白去乙酰化酶在肺动脉高压中的作用研究进展[J]. *解放军医学杂志*, 2022, 47(2): 192-196.
- [13] Chen H, Huang Z, Chen C, *et al.* The role of histone acetylation modification in dental tissue-derived mesenchymal stem cells and odontogenesis[J]. *Cell Reprogram*, 2023, 25(1): 11-19.
- [14] Yu T, Zhang L, Dou X, *et al.* Mechanically robust hydrogels facilitating bone regeneration through epigenetic modulation[J]. *Adv Sci (Weinh)*, 2022, 9(32): e2203734.
- [15] Paino F, La Noce M, Tirino V, *et al.* Histone deacetylase inhibition with valproic acid downregulates osteocalcin gene expression in human dental pulp stem cells and osteoblasts: evidence for HDAC2 involvement[J]. *Stem Cells*, 2014, 32(1): 279-289.
- [16] Meng F, Li Z, Zhang Z, *et al.* MicroRNA-193b-3p regulates chondrogenesis and chondrocyte metabolism by targeting HDAC3[J]. *Theranostics*, 2018, 8(10): 2862-2883.
- [17] Man K, Lawlor L, Jiang LH, *et al.* The selective histone deacetylase inhibitor MI192 enhances the osteogenic differentiation efficacy of human dental pulp stromal cells[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(10): 5224.
- [18] Tao H, Lin H, Sun Z, *et al.* KLF4 promotes dentinogenesis and odontoblastic differentiation via modulation of TGF- β signaling pathway and interaction with histone acetylation[J]. *J Bone Miner Res*, 2019, 34(8): 1502-1516.
- [19] Tao H, Li Q, Lin Y, *et al.* Coordinated expression of p300 and

- HDAC3 upregulates histone acetylation during dentinogenesis[J]. *J Cell Biochem*, 2020, 121(3): 2478-2488.
- [20] Di Giorgio E, Brancolini C. Regulation of class II a HDAC activities: it is not only matter of subcellular localization[J]. *Epigenomics*, 2016, 8(2): 251-269.
- [21] Chen J, Wu X. Cyclic tensile strain promotes chondrogenesis of bone marrow-derived mesenchymal stem cells by increasing miR-365 expression[J]. *Life Sci*, 2019, 232: 116625.
- [22] Sato T, Verma S, Andrade CDC, *et al.* A FAK/HDAC5 signaling axis controls osteocyte mechanotransduction[J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 3282.
- [23] Wein MN, Spatz J, Nishimori S, *et al.* HDAC5 controls MEF2C-driven sclerostin expression in osteocytes[J]. *J Bone Miner Res*, 2015, 30(3): 400-411.
- [24] Huang S, Wang S, Bian C, *et al.* Upregulation of miR-22 promotes osteogenic differentiation and inhibits adipogenic differentiation of human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells by repressing HDAC6 protein expression[J]. *Stem Cells Dev*, 2012, 21(13): 2531-2540.
- [25] Ma C, Gao J, Liang J, *et al.* HDAC6 inactivates Runx2 promoter to block osteogenesis of bone marrow stromal cells in age-related bone loss of mice[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2021, 12(1): 484.
- [26] Ferrarelli LK. HDAC inhibitors in solid tumors and blood cancers [J]. *Sci Signal*, 2016, 9(446): eaaj2316.
- [27] Loo Yau H, Ettayebi I, de Carvalho DD. The cancer epigenome: exploiting its vulnerabilities for immunotherapy[J]. *Trends Cell Biol*, 2019, 29(1): 31-43.
- [28] Laino AS, Betts BC, Veerapathran A, *et al.* HDAC6 selective inhibition of melanoma patient T-cells augments anti-tumor characteristics[J]. *J Immunother Cancer*, 2019, 7(1): 33.
- [29] Vimalraj S, Saravanan S, Subramanian R. Rutin-Zn (II) complex promotes bone formation - A concise assessment in human dental pulp stem cells and zebrafish[J]. *Chem Biol Interact*, 2021, 349: 109674.
- [30] Ma L, Wu D. microRNA-383-5p regulates osteogenic differentiation of human periodontal ligament stem cells by targeting histone deacetylase 9[J]. *Arch Oral Biol*, 2021, 129: 105166.
- [31] Li LY, Liu WJ, Wang H, *et al.* Mutual inhibition between HDAC9 and miR-17 regulates osteogenesis of human periodontal ligament stem cells in inflammatory conditions[J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(5): 480.
- [32] Zheng M, Guo J. Nicotinamide-induced silencing of SIRT1 by miR-22-3p increases periodontal ligament stem cell proliferation and differentiation[J]. *Cell Biol Int*, 2020, 44(3): 764-772.
- [33] Gu S, Ran S, Liu B, *et al.* miR-152 induces human dental pulp stem cell senescence by inhibiting SIRT7 expression[J]. *FEBS Lett*, 2016, 590(8): 1123-1131.
- [34] Zhang QB, Cao W, Liu YR, *et al.* Effects of Sirtuin 1 on the proliferation and osteoblastic differentiation of periodontal ligament stem cells and stem cells from apical papilla[J]. *Genet Mol Res*, 2016, 15(1). doi: 10.4238/gmr.15015234.
- [35] Luo N, Mosialou I, Capulli M, *et al.* A neuronal action of sirtuin 1 suppresses bone mass in young and aging mice[J]. *J Clin Invest*, 2022, 132(23): e152868.
- [36] Kim JM, Yang YS, Xie J, *et al.* Regulation of sclerostin by the SIRT1 stabilization pathway in osteocytes[J]. *Cell Death Differ*, 2022, 29(8): 1625-1638.
- [37] Bradley EW, Carpio LR, van Wijnen AJ, *et al.* Histone deacetylases in bone development and skeletal disorders[J]. *Physiol Rev*, 2015, 95(4): 1359-1381.
- [38] Li X, Feng L, Zhang C, *et al.* Insulin-like growth factor binding proteins 7 prevents dental pulp-derived mesenchymal stem cell senescence *via* metabolic downregulation of p21[J]. *Sci China Life Sci*, 2022, 65(11): 2218-2232.
- [39] Jin LY, Hu L, Liu HN, *et al.* Analysis of coding RNA and lncRNA expression profile of stem cells from the apical papilla after depletion of sirtuin 7[J]. *Chin J Dent Res*, 2020, 23(3): 169-176.
- [40] Li C, Xiao F, Wen Y, *et al.* Krüppel-like factor 5-mediated Sirtuin6 promotes osteogenic differentiation and inhibits inflammatory injury of lipopolysaccharide-induced periodontal membrane stem cells by inhibiting nuclear factor kappa-B pathway[J]. *Bioengineered*, 2022, 13(3): 6966-6977.
- [41] Lin CY, Chin YT, Kuo PJ, *et al.* 2, 3, 5, 4'-Tetrahydroxystilbene-2-O- β -glucoside potentiates self-renewal of human dental pulp stem cells *via* the AMPK/ERK/SIRT1 axis[J]. *Int Endod J*, 2018, 51(10): 1159-1170.
- [42] Sahakian E, Chen J, Powers JJ, *et al.* Essential role for histone deacetylase 11 (HDAC11) in neutrophil biology[J]. *J Leukoc Biol*, 2017, 102(2): 475-486.
- [43] Jin H, Park JY, Choi H, *et al.* HDAC inhibitor trichostatin A promotes proliferation and odontoblast differentiation of human dental pulp stem cells[J]. *Tissue Eng Part A*, 2013, 19(5-6): 613-624.
- [44] Luo Z, Wang Z, He X, *et al.* Effects of histone deacetylase inhibitors on regenerative cell responses in human dental pulp cells[J]. *Int Endod J*, 2018, 51(7): 767-778.
- [45] Wang H, Chen Q, Liu WJ, *et al.* Effect of trichostatin A on the osteogenic differentiation potential of periodontal ligament stem cells in inflammatory microenvironment induced by tumor necrosis factor- α stimulation[J]. *Chin J Stomatol*, 2016, 51(4): 235-241.
- [46] Huynh NC, Everts V, Pavasant P, *et al.* Inhibition of histone deacetylases enhances the osteogenic differentiation of human periodontal ligament cells[J]. *J Cell Biochem*, 2016, 117(6): 1384-1395.
- [47] Sukpaitha T, Chirachanchai S, Chanamuangkon T, *et al.* Novel epigenetic modulation chitosan-based scaffold as a promising bone regenerative material[J]. *Cells*, 2022, 11(20): 3217.
- [48] Cong-Nhat N, Everts E, Nifuji A, *et al.* Histone deacetylase inhibition enhances *in-vivo* bone regeneration induced by human periodontal ligament cells[J]. *Bone*, 2017, 95: 76-84.
- [49] Pun MD, Wu HH, Olatunji FP, *et al.* Phosphorus containing analogues of SAHA as inhibitors of HDACs[J]. *J Enzyme Inhib Med Chem*, 2022, 37(1): 1315-1319.
- [50] Lee ZH, Kim HJ, Ryoo HM. A novel osteogenic activity of suberoylanilide hydroxamic acid is synergized by BMP-2[J]. *J Bone Metab*, 2015, 22(2): 51-56.
- [51] Khathayer F, Taylor MA, Ray SK. Synergism of 4HPR and SAHA increases anti-tumor actions in glioblastoma cells[J]. *Apoptosis*, 2020, 25(3-4): 217-232.
- [52] Mann BS, Johnson JR, Cohen MH, *et al.* FDA approval summary: vorinostat for treatment of advanced primary cutaneous T-cell lymphoma[J]. *Oncologist*, 2007, 12(10): 1247-1252.
- [53] Savelieva M, Woo MM, Schran H, *et al.* Population

- pharmacokinetics of intravenous and oral panobinostat in patients with hematologic and solid tumors[J]. *Eur J Clin Pharmacol*, 2015, 71(6): 663-672.
- [54] Reiman T, Savage KJ, Crump M, *et al.* A phase I study of romidepsin, gemcitabine, dexamethasone and cisplatin combination therapy in the treatment of peripheral T-cell and diffuse large B-cell lymphoma; the Canadian cancer trials group LY.15 study[J]. *Leuk Lymphoma*, 2019, 60(4): 912-919.
- [55] Foss F, Advani R, Duvic M, *et al.* A Phase II trial of Belinostat (PXD101) in patients with relapsed or refractory peripheral or cutaneous T-cell lymphoma[J]. *Br J Haematol*, 2015, 168(6): 811-819.
- [56] Choi SW, Braun T, Henig I, *et al.* Vorinostat plus tacrolimus/methotrexate to prevent GVHD after myeloablative conditioning, unrelated donor HCT[J]. *Blood*, 2017, 130(15): 1760-1767.
- [57] Um S, Lee H, Zhang Q, *et al.* Valproic acid modulates the multipotency in periodontal ligament stem cells *via* p53-mediated cell cycle[J]. *Tissue Eng Regen Med*, 2017, 14(2): 153-162.
- [58] Duncan HF, Smith AJ, Fleming GJ, *et al.* Histone deacetylase inhibitors induced differentiation and accelerated mineralization of pulp-derived cells[J]. *J Endod*, 2012, 38(3): 339-345.
- [59] Kim TI, Han JE, Jung HM, *et al.* Analysis of histone deacetylase inhibitor-induced responses in human periodontal ligament fibroblasts[J]. *Biotechnol Lett*, 2013, 35(1): 129-133.
- [60] Sidiropoulos DN, Rafe CI, Jang JK, *et al.* Entinostat decreases immune suppression to promote antitumor responses in a HER2⁺ breast tumor microenvironment[J]. *Cancer Immunol Res*, 2022, 10(5): 656-669.
- [61] Lee EC, Kim YM, Lim HM, *et al.* The histone deacetylase inhibitor (MS-275) promotes differentiation of human dental pulp stem cells into odontoblast-like cells independent of the MAPK signaling system[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(16): 5771.
- [62] Sultana S, Uehara O, Yoshida K, *et al.* The histone deacetylase inhibitor, entinostat (MS-275), induces the odontogenic differentiation of an odontoblast-like cell line in the absence of an osteoblast mineralization medium[J]. *Odontology*, 2021, 109(3): 661-671.
- [63] Iwata H, Nakamura R, Masuda N, *et al.* Efficacy and exploratory biomarker analysis of entinostat plus exemestane in advanced or recurrent breast cancer: phase II randomized controlled trial[J]. *Jpn J Clin Oncol*, 2023, 53(1): 4-15.
- [64] Riggs MG, Whittaker RG, Neumann JR, *et al.* N-Butyrate causes histone modification in HeLa and Friend erythroleukemia cells[J]. *Nature*, 1977, 268(5619): 462-464.
- [65] Luan YP, Li J, Bernatchez JA, *et al.* Kinase and histone deacetylase hybrid inhibitors for cancer therapy[J]. *J Med Chem*, 2019, 62(7): 3171-3183.
- [66] Bouyahya A, El Omari N, Bakha M, *et al.* Pharmacological properties of trichostatin A, focusing on the anticancer potential: a comprehensive review[J]. *Pharmaceuticals*, 2022, 15(10): 1235.
- [67] Squarzone A, Scuteri A, Cavaletti G. HDACi: the Columbus' egg in improving cancer treatment and reducing neurotoxicity?[J]. *Cancers (Basel)*, 2022, 14(21): 5251.
- [68] Uddin MS, Mamun AA, Alghamdi BS, *et al.* Epigenetics of glioblastoma multiforme: from molecular mechanisms to therapeutic approaches[J]. *Semin Cancer Biol*, 2022, 83: 100-120.
- [69] Dai Y, Wei T, Shen Z, *et al.* Classical HDACs in the regulation of neuroinflammation[J]. *Neurochem Int*, 2021, 150: 105182.
- [70] McGee-Lawrence ME, Westendorf JJ. Histone deacetylases in skeletal development and bone mass maintenance[J]. *Gene*, 2011, 474(1-2): 1-11.

(责任编辑: 张小利)