

临床与基础
桥接研究Clinical and Basic
Bridging Research**miRNA - 633 调控 BMP/Smad 蛋白通路对
牙髓干细胞增殖和成牙本质向分化的影响****Effects of miRNA - 633 regulate BMP / Smad pathway on proliferation and
dentition differentiation of dental pulp stem cells**钱莉莉¹, 刘 啸²

(1. 滁州市第一人民医院 北区 口腔科, 安徽
滁州 239000; 2. 新疆医科大学 第二附属医院
口腔科, 新疆维吾尔自治区 乌鲁木齐 830000)

QIAN Li-li¹, LIU Xiao²

(1. Department of Stomatology, North
District, The First People's Hospital of
Chuzhou, Chuzhou 239000, Anhui
Province, China; 2. Department of
Stomatology, The Second Affiliated
Hospital of Xinjiang Medical University,
Urumqi 830000, Xinjiang Uygur
Autonomous Region, China)

基金项目: 新疆维吾尔自治区杰出青年科学基
金资助项目(2023D01E31)

作者简介: 钱莉莉(1982-), 女, 医师, 主要从事
口腔内科方向的相关研究

通信作者: 刘啸, 副主任医师, 硕士生导师
MP: 15955502396
E-mail: yanyanyx2018@163.com

摘要:目的 研究 miRNA - 633 靶向调控骨形态发生蛋白(BMP)和 Smad 蛋白通路促进牙髓干细胞增殖和成牙本质向分化的作用。**方法** 将人牙髓干细胞随机分为对照组、ov - miRNA - 633 组、NC 组、anti - miRNA - 633 组和共转染组。Ov - miRNA - 633 组和对照组分别转染 miRNA - 633 过表达载体和对应对照空白载体, anti - miRNA - 633 组和 NC 组分别转染 miRNA - 633 敲除载体和对应对照空白载体, 共转染组转染 miRNA - 633 敲除载体 + shRNA - N - Cadherin。用 CCK - 8 法检测细胞的增殖情况, 用实时荧光定量聚合酶链反应法检测 N - 黏蛋白(N - Cadherin)的相对表达水平, 用蛋白质印迹法检测磷酸化 Smad1/5/8(p - Smad 1/5/8)的相对表达水平。**结果** 对照组、ov - miRNA - 633 组、NC 组、anti - miRNA - 633 组和共转染组的第 7 天增殖活性(光密度值)分别为 1.65 ± 0.05 、 1.79 ± 0.08 、 1.55 ± 0.05 、 1.19 ± 0.08 和 1.76 ± 0.07 , N - Cadherin mRNA 相对表达水平分别为 1.09 ± 0.03 、 0.63 ± 0.03 、 1.06 ± 0.04 、 1.31 ± 0.09 和 0.46 ± 0.06 , p - Smad 1/5/8 蛋白相对表达水平分别为 0.79 ± 0.05 、 1.28 ± 0.08 、 0.80 ± 0.09 、 0.62 ± 0.06 和 1.09 ± 0.18 。Ov - miRNA - 633 组的上述指标和对照组比较, 共转染组的上述指标和 anti - miRNA - 633 组比较, 在统计学上差异均有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$)。**结论** miRNA - 633 可以通过抑制 N - Cadherin 表达, 激活 BMPs/Smad 通路, 从而促进牙髓干细胞增殖和成牙本质向分化。

关键词: miRNA - 633; 牙髓干细胞; N - 钙黏蛋白; 成牙本质向分化; 骨形态发生蛋白/Smad 蛋白通路

DOI: 10.13699/j.cnki.1001-6821.2025.03.007

中图分类号: R97 文献标志码: A

文章编号: 1001-6821(2025)03-0330-05

Abstract: Objective To investigate the role of miRNA - 633 in targeting the regulation of bone morphogenetic protein (BMP) and Smad protein pathways in promoting the proliferation and differentiation of dental pulp stem cells into dentin. **Methods** Human dental pulp stem cells were randomly divided into control, ov - miRNA - 633, NC, anti - miRNA - 633 and cotransfection groups. The ov - miRNA - 633 and control groups were transfected with miRNA - 633 overexpression vector and corresponding control blank vector, respectively. The anti - miRNA - 633 and NC groups were transfected with miRNA - 633 knockout vector and corresponding control blank vector, respectively. The cotransfection group was transfected with miRNA - 633 overexpression vector + shRNA - N - Cadherin. Cell proliferation was detected by CCK - 8 method. The expression levels of N - Cadherin were detected by real - time

polymerase chain reaction. The expression levels of phosphorylated Smad 1/5/8 (p-Smad 1/5/8) were detected by Western blotting. **Results** The optical density values on the 7th day of the control, ov-miRNA-633, NC, anti-miRNA-633 and cotransfection groups were 1.65 ± 0.05 , 1.79 ± 0.08 , 1.55 ± 0.05 , 1.19 ± 0.08 and 1.76 ± 0.07 ; the relative expression levels of *N-Cadherin* mRNA were 1.09 ± 0.03 , 0.63 ± 0.03 , 1.06 ± 0.04 , 1.31 ± 0.09 and 0.46 ± 0.06 ; the relative expression levels of p-Smad 1/5/8 protein were 0.79 ± 0.05 , 1.28 ± 0.08 , 0.80 ± 0.09 , 0.62 ± 0.06 and 1.09 ± 0.18 , respectively. The differences of above indexes were statistically significant between the ov-miRNA-633 group and the control group ($P < 0.05$, $P < 0.01$). And the differences of above indexes were statistically significant between the cotransfection group and the anti-miRNA-633 group (all $P < 0.05$). **Conclusion** miRNA-633 could promote the proliferation and differentiation of dental pulp stem cells into dentin by inhibiting N-cadherin expression, activating the BMPs/Smad pathway.

Key words: miRNA-633; dental pulp stem cell; N-Cadherin; differentiation of dentin; bone morphogenetic protein/Smad protein pathway

牙髓干细胞(dental pulp stem cells, DPSCs)自首次分离以来,因其易于获取、增殖能力强、具备多向分化潜能而受到广泛关注。在牙髓损伤后,牙髓组织中 DPSCs 增殖并迁移到受伤区域,并分化为成牙本质细胞样细胞,随后分泌牙本质基质来支持牙髓愈合和牙本质再生,可见 DPSCs 的成牙本质向分化在牙髓组织损伤修复和再生中起到关键作用。研究发现,N-钙黏蛋白(N-Cadherin)参与成牙本质细胞的生物学功能^[1-2]。骨形态发生蛋白(bone morphogenetic protein, BMP)主要通过 BMPs/Smad 信号通路发挥作用^[3-4]。本研究旨在探究 miRNA-633 调控 BMP/Smad 蛋白通路对 DPSCs 增殖和成牙本质向分化的作用机制。

材料与方法

1 材料

组织 收集 2023 年 1 月至 2023 年 6 月滁州市第一人民医院收集的牙髓组织 6 例。本研究经滁州市第一人民医院伦理委员会批准(伦理批号: LL2022015)。所有患者均签署知情同意书。

试剂 DMEM 培养基、胎牛血清、胰蛋白酶、磷酸盐缓冲液(phosphate buffer solution, PBS),均由美国 Gibco 公司生产;Lipofectamine 3000,美国 Invitrogen 公司生产;N-Cadherin 抗体,美国 Santa Cruz 公司生产;碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)检测试剂盒,日本 Wako Pure Chemicals 公司生产;总 RNA 抽提试剂盒,德国 Qiagen GmbH 公司生产;实时荧光定量聚合酶链反应(real-time polymerase chain reaction, RT-PCR)试剂盒,日本 TaKaRa 公司生产。引物,美国 Invitrogen 公司合成。

仪器 C6 流式细胞仪,美国 BD 公司产品;IQ5 RT-PCR 仪,美国 Bio-Rad 公司产品;EVOS M5000 倒置显微镜、Multiskan SkyHigh 酶标仪,均为美国赛默飞世尔科技公司产品。

2 实验方法

2.1 人 DPSCs 的体外分离和培养

参考文献[5]的方法,在无菌条件下取出牙髓,用胶原酶和分散酶联合消化组织,消化 1 h 后,将细胞悬液过筛,以 $1\,200\text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 6 min 后,收集细胞沉淀,加入培养基常规培养。培养 7 d 后,在倒置显微镜下观察,以确定为人 DPSCs。

2.2 细胞分组与处置方法^[6]

将人 DPSCs 随机分为对照组、ov-miRNA-633 组、NC 组、anti-miRNA-633 组和共转染组。按照脂质体 Lipofectamine 3000 转染方法进行操作,重组质粒分别瞬时转染至 DPSCs。Ov-miRNA-633 组和对照组分别转染 miRNA-633 过表达载体和对应对照空白载体,anti-miRNA-633 组和 NC 组分别转染 miRNA-633 敲除载体和对应对照空白载体,共转染组是在 anti-miRNA-633 组的基础上,转染 shRNA-N-Cadherin。转染后,5 组细胞继续培养 48 h。

2.3 CCK-8 法检测细胞的增殖情况^[7]

取体外培养的对数生长期人 DPSCs,用培养基配制成不同浓度的细胞悬液加入 96 孔板中,在培养第 1、3、5、7 天后,每孔加入 CCK-8 溶液 10 μL ,继续培养 3 h 后,用酶标仪于 450 nm 波长处测定光密度(optical density, OD)值。

2.4 RT-PCR 法检测相关 mRNA 的相对表达水平^[8]

收集人 DPSCs 悬液,用 TRIzol 试剂盒提取总 RNA。用反转录试剂盒合成 cDNA,按照 TaqMan Universal PCR Master Mix 说明书步骤进行 RT-PCR

检测。PCR体系为20 μL,反应条件为95℃预变性5 min,95℃变性15 s,60℃退火20 s,72℃延伸5 s,进行40个循环。以甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)为内参,用2^{-ΔΔCT}法分析*N-Cadherin*、*ALP*、牙本质基质蛋白1(dentin matrix protein 1, *DMP1*)、骨钙素(osteocalcin, *OCN*)、*BMP2*、*BMP7*和*BMP9* mRNA的相对表达水平。

2.5 蛋白质印迹法检测磷酸化 Smad 1/5/8 蛋白的相对表达水平

人DPSCs分别按照“2.2”中的分组和处理,每组设置3个复孔,培养各组细胞48 h,收集各组人DPSCs悬液,提取总蛋白,按文献[9]的方法进行电泳、转膜,并在封闭液中进行封闭处理,将PVDF膜与一抗溶液(Smad 1/5/8为1:1 000, p-Smad 1/5/8为1:800)孵育过夜,再加入二抗(比例为1:2 000)孵育2 h,加入ECL,显影,以GADPH为内参,用Quantity One 5.0软件分析目标条带的灰度值。

3 统计学处理

所有实验至少重复3次。用SPSS 23.0软件进行统计分析。符合正态分布的计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较用单因素方差分析,两两比较用LSD-*t*检验。

结 果

1 miRNA-633对DPSCs细胞增殖的影响

Ov-miRNA-633组和对照组分别转染miRNA-633过表达载体和对应对照空白载体,anti-miRNA-633组和NC组分别转染miRNA-633敲除载体和对应对照空白载体,共转染组转染miRNA-633敲除载体+*shRNA-N-Cadherin*。

Ov-miRNA-633组在第1、3、5、7天的增殖活性

(OD值)均显著高于对照组,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。Anti-miRNA-633组在第1、3、5、7天的增殖活性(OD值)均显著低于NC组,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。共转染组在第1、3、5、7天的增殖活性(OD值)均显著高于anti-miRNA-633组,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。结果见表1。

2 miRNA-633对DPSCs ALP、OCN、DMP1、BMP和N-Cadherin mRNA相对表达水平的影响

Ov-miRNA-633组中*ALP*、*DMP1*、*OCN*、*BMP2*和*BMP9* mRNA相对表达水平均显著高于对照组,*BMP7*和*N-Cadherin* mRNA相对表达水平均显著低于对照组,在统计学上差异均有统计学意义($P < 0.01$, $P < 0.05$)。Anti-miRNA-633组中*ALP*、*DMP1*、*OCN*、*BMP2*和*BMP9* mRNA相对表达水平均显著低于NC组,*N-Cadherin* mRNA相对表达水平显著高于NC组,在统计学上差异均有统计学意义($P < 0.01$, $P < 0.05$)。共转染组的*N-Cadherin* mRNA相对表达水平显著低于anti-miRNA-633组,在统计学上差异有统计学意义($P < 0.05$)。结果见表2。

3 干扰N-Cadherin mRNA对Smad磷酸化水平的影响

对照组、ov-miRNA-633组、NC组、anti-miRNA-633组和共转染组的Smad 1/5/8蛋白相对表达水平分别为 0.90 ± 0.09 、 0.78 ± 0.08 、 0.86 ± 0.06 、 0.91 ± 0.10 和 0.83 ± 0.07 , p-Smad 1/5/8蛋白相对表达水平分别为 0.79 ± 0.05 、 1.28 ± 0.08 、 0.80 ± 0.09 、 0.62 ± 0.06 和 1.09 ± 0.18 。共转染组的p-Smad 1/5/8蛋白相对表达水平与anti-miRNA-633组比较,ov-miRNA-633组的p-Smad 1/5/8蛋白相对表达水平与对照组比较,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。结果见图1。

表1 各组人牙髓干细胞(DPSCs)增殖情况的比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of proliferation of human dental pulp stem cells (DPSCs) in each group($\bar{x} \pm s$)

Group	n	Optical density value			
		1 st day	3 rd day	5 th day	7 th day
Control	9	0.42 ± 0.03	0.69 ± 0.09	1.20 ± 0.009	1.65 ± 0.05
Ov-miRNA-633	9	0.58 ± 0.02 [*]	0.79 ± 0.07 [*]	1.39 ± 0.03 [*]	1.79 ± 0.08 [*]
NC	9	0.39 ± 0.01	1.19 ± 0.07	1.12 ± 0.02	1.55 ± 0.05
Anti-miRNA-633	9	0.28 ± 0.02 [#]	0.61 ± 0.04 [#]	0.9 ± 0.01 [#]	1.19 ± 0.08 [#]
Cotransfection	9	0.46 ± 0.03 ^Δ	0.75 ± 0.08 ^Δ	1.24 ± 0.04 ^Δ	1.76 ± 0.07 ^Δ

Control group: Transfected with corresponding control blank vector; Ov-miRNA-633 group: Transfected with miRNA-633 overexpression vector; NC group: Transfected with corresponding control blank vector; Anti-miRNA-633 group: Transfected with miRNA-633 knockout vector; Cotransfection group: Transfected with miRNA-633 knockout vector + *shRNA-N-Cadherin*; Compared with control group, ^{*} $P < 0.05$; Compared with NC group, [#] $P < 0.05$; Compared with anti-miRNA-633 group, ^Δ $P < 0.05$.

表 2 各组 DPSCs 中碱性磷酸酶 (ALP)、骨钙素 (OCN)、牙本质基质蛋白 1 (DMP1)、骨形态发生蛋白 (BMP) 和 N - 钙黏蛋白 (N - Cadherin) mRNA 表达水平的比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of mRNA expression levels of alkaline phosphatase (ALP), osteocalcin (OCN), dentin matrix protein 1 (DMP1), bone morphogenetic protein (BMP) and N - Cadherin of DPSCs in each group ($\bar{x} \pm s$)

Group	ALP	DMP1	OCN	BMP2	BMP7	BMP9	N - Cadherin
Control	1.12 ± 0.01	1.19 ± 0.02	0.89 ± 0.02	1.19 ± 0.02	1.29 ± 0.01	1.19 ± 0.02	1.09 ± 0.03
Ov - miRNA - 633	2.08 ± 0.03 * *	1.23 ± 0.03 ##	1.80 ± 0.01 *	1.68 ± 0.06 * *	1.09 ± 0.05 #	1.58 ± 0.09 * *	0.63 ± 0.03 * *
NC	1.13 ± 0.08	1.30 ± 0.09	0.90 ± 0.01	1.16 ± 0.06	1.05 ± 0.05	1.08 ± 0.09	1.06 ± 0.04
Anti - miRNA - 633	0.70 ± 0.10 #	1.18 ± 0.02 ##	0.68 ± 0.08 #	0.80 ± 0.01 #	1.02 ± 0.07	0.58 ± 0.04 #	1.31 ± 0.09 ##
Cotransfection	0.73 ± 0.06	1.16 ± 0.08	0.74 ± 0.06	0.83 ± 0.03	1.04 ± 0.10	0.56 ± 0.06	0.46 ± 0.06 Δ

Dose and n refer to table 1; Compared with control group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; Compared with NC group, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$; Compared with anti - miRNA - 633 group, Δ $P < 0.05$.

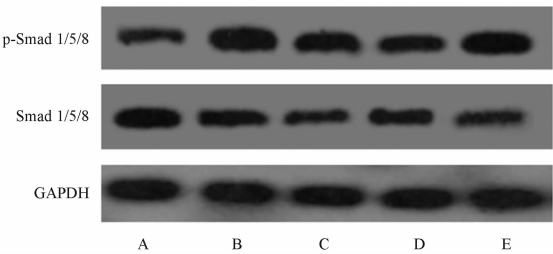


图 1 用蛋白质印迹法检测各组 DPSCs 中 Smad 蛋白的表达情况

Figure 1 Expression of Smad protein of DPSCs in each group were detected by Western blotting

A: Control group; B: Ov - miRNA - 633 group; C: NC group; D: Anti - miRNA - 633 group; E: Cotransfection group.

讨 论

牙髓位于牙本质所包绕的髓腔中,具有分化为成牙本质细胞的潜能^[10-11]。DPSCs 在一定条件诱导下能够分化为成牙本质细胞^[12]。有研究报道,在 DPSCs 增殖和牙本质向分化过程中 miRNA - 633 的表达水平会发生明显改变^[13]。有研究证实,miRNA - 633 参与黑色素瘤细胞增殖和迁移^[14],并通过与转化生长因子 - β1 的相互作用参与心肌纤维化^[15],但其对牙髓干细胞增殖和成牙本质向分化的影响尚未明确。本研究结果表明,miRNA - 633 过表达能够显著促进 DPSCs 增殖,提高牙本质分化相关基因 mRNA 的表达,且进一步研究发现,在 miRNA - 633 高表达的 DPSCs 中 Smad 1/5/8 表达水平不受影响,而 p - Smad 1/5/8 表达水平显著升高,这提示 miRNA - 633 具有促进 Smad 磷酸化的功能,进而激活 BMPs/Smad 通路,从而实现促进 DPSCs 增殖分化的功能^[16]。

研究发现,BMP 通过经典 Smad 和非经典 Smad 信号通路调节成牙本质细胞分化和下游基因表

达^[17]。BMP 与其受体的相互作用并将信号转导至经典 Smad 信号通路和非经典 Smad 信息通路(如丝裂原活化蛋白激酶、p38、细胞外信号调节激酶、c - Jun 氨基末端激酶和磷脂酰肌醇 3 - 激酶/蛋白激酶),以在牙本质发育和稳态过程中调节牙间充质干细胞/祖细胞的增殖和分化^[18]。BMP 信号传导紊乱会导致许多牙齿疾病^[19]。有研究发现,小鼠中 BMP 信号相关基因的突变或敲除会导致牙本质缺陷^[20],Smad 通路激活活化促进 BMP2 介导人牙髓干细胞的细胞增殖和分化^[4],同时,有研究发现,慢病毒介导沉默 Smad2 基因会抑制人牙髓干细胞成骨分化^[21],上述证据均证实 BMPs/Smad 通路对牙本质细胞分化和牙本质形成的重要性。研究发现,N - Cadherin 在调节成骨细胞分化和骨形成中发挥重要作用。为了进一步探讨 N - Cadherin 是否在 miRNA - 633 调节 BMPs/Smad 通路中起作用,本研究进一步检测了 miRNA - 633 对 N - Cadherin 表达的影响,结果表明,在 DPSCs 中 miRNA - 633 的高表达能够显著抑制 N - Cadherin mRNA 的表达。为了进一步验证 N - Cadherin 对 BMPs/Smad 通路的影响,本研究用 RNAi 技术沉默 DPSCs 中 N - Cadherin 蛋白,结果发现,Smad 1/5/8 的磷酸化水平显著提高。这提示 N - Cadherin 可能是 miRNA - 633 调控 BMPs/Smad 通路的关键因子,miRNA - 633 可能通过抑制 N - Cadherin 的表达来激活 BMPs/Smad 通路,进而促进 DPSCs 增殖和牙本质分化的作用。

本研究提示:N - Cadherin 可能作为 miRNA - 633 的下游信号分子,对其激活 BMPs/Smad 通路起到关键作用,这为临床治疗口腔相关疾病提供了一个新的研究思路,具有巨大的应用前景。

参考文献:

[1] OGUT S. Comparative analysis of mesenchymal stem cells from bone

- marrow, adipose tissue, and dental pulp as sources of cell therapy for zone of stasis burns [J]. *J Invest Surg*, 2018, 21(2): 1—14.
- [2] 邓子龙, 吴补领, 闫文娟, 等. 钙黏蛋白在地塞米松诱导的人牙髓细胞成牙本质向分化中的表达研究[J]. 牙体牙髓牙周病学杂志, 2016, 26(7): 396—400.
- [3] ARIANO A, POSA F, STORLINO G, *et al*. Molecules inducing dental stem cells differentiation and bone regeneration: State of the art [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(12): 9897—9903.
- [4] 沈玉芹, 崔娟娟, 鲁晓娟. ERK/Smad 通路在 BMP2 介导的牙髓干细胞增殖、分化中的作用[J]. 中国老年学杂志, 2023, 43(3): 688—693.
- [5] 韩群超, 张明珠, 余睿, 等. 人牙髓干细胞的体外分离、培养及鉴定[J]. 昆明医科大学学报, 2015, 36(5): 21—24.
- [6] 郭许情, 王黎霞, 张裕珍, 等. 真核重组荧光质粒 pEGFP-N1-EiHP 的构建及高效转染细胞的筛选[J]. 中国兽医杂志, 2022, 58(4): 45—48, 55.
- [7] 刘飞祥, 谭峰, 樊巧玲, 等. CCK-8 与 MTT 法检测左归丸含药血清干预 BMSCs 增殖条件的比较[J]. 中国骨质疏松杂志, 2022, 28(1): 6—10.
- [8] 闫安, 谢云亮. 当归多糖对脑缺血再灌注损伤大鼠脑组织氧化应激水平及炎症因子表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(2): 123—127.
- [9] 张志鑫, 李彦杰, 秦合伟, 等. 基于 PI3K/Akt/mTOR 信号通路调控巨噬细胞吞噬探讨黄芪甲苷抗动脉粥样硬化的作用机制[J]. 中草药, 2017, 48(17): 3575—3581.
- [10] LUO X, FENG W, HUANG S, *et al*. Odontoblasts release exosomes to regulate the odontoblastic differentiation of dental pulp stem cells [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2023, 14(1): 176—182.
- [11] 王军强, 曹伟靖. CCN2 对人牙髓干细胞增殖及分化的影响[J]. 中国医药导报, 2014(16): 24—27, 169.
- [12] BUTLER W T, BRUNN J C, QIN C. Dentin extracellular matrix (ECM) proteins: Comparison to bone ECM and contribution to dynamics of dentinogenesis [J]. *Connect Tissue Res*, 2003, 44(1): 171—178.
- [13] 张萍, 朱聪惠, 张纲, 等. 人牙髓干细胞向成牙本质细胞定向分化过程中 miRNAs 表达谱筛选及鉴定[J]. 实用口腔医学杂志, 2011, 27(2): 212—216.
- [14] WANG Z, LIU Y. MicroRNA - 633 enhances melanoma cell proliferation and migration by suppressing KAI1 [J]. *Oncol Lett*, 2021, 21(2): 88—96.
- [15] WU X, ZHU J, WEI Y, *et al*. MicroRNA - 663 participates in myocardial fibrosis through interaction with TGF - β 1 [J]. *Exp Ther Med*, 2019, 18(4): 3172—3176.
- [16] 高建清, 张辉, 田发明, 等. 辛伐他汀对大鼠骨量及骨髓基质干细胞增殖、分化过程中 Smad1, 2, 7 表达的影响[J]. 中国骨质疏松杂志, 2008, 14(10): 713—717, 732.
- [17] CHAN T, PAN C T, HSIEH H Y, *et al*. The autocrine glycosylated - GREM1 interacts with TGF β 1 to suppress TGF β /BMP/SMAD - mediated EMT partially by inhibiting MYL9 transactivation in urinary carcinoma [J]. *Cell Oncol*, 2023, 46(2): 933—951.
- [18] ZIAUDDIN S M, NAKASHIMA M, WATANABE H, *et al*. Biological characteristics and pulp regeneration potential of stem cells from canine deciduous teeth compared with those of permanent teeth [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2022, 13(1): 439—447.
- [19] XU H, ZHAO J, CHEN G, *et al*. Effects of BMAL1 on dentinogenic differentiation of dental pulp stem cells via PI3K/Akt/mTOR pathway [J]. *Int Endod J*, 2022, 55(5): 505—516.
- [20] LIU M, GOLDMAN G, MACDOUGALL M, *et al*. BMP signaling pathway in dentin development and diseases [J]. *Cells*, 2022, 11(14): 2216—2223.
- [21] 汪畅, 孙帅, 陈晓涛, 等. 慢病毒介导沉默 Smad2 基因对人牙髓干细胞成骨向分化的作用[J]. 中国组织工程研究, 2023, 27(19): 2999—3004.

(收稿日期 2024 - 07 - 30)

· 科学文摘 ·

帕博利珠单抗治疗早期三阴性乳腺癌患者的临床研究

引自: SCHMID P, *et al*. Overall survival with pembrolizumab in early - stage triple - negative breast cancer [J]. *N Engl J Med*, 2024, 391(21): 1981—1991.

伦敦玛丽女王大学的 SCHMID 团队以 2:1 的比例随机分配既往未治疗的 II 期或 III 期三阴性乳腺癌患者接受新辅助治疗, 接受 4 个周期的帕博利珠单抗 (剂量为 200 mg) 或安慰剂加紫杉醇和卡铂, 然后是 4 个周期的帕博利珠单抗或安慰剂加阿霉素 - 环磷酰胺或表柔比星 - 环磷酰胺。在接受根治性手术后, 患者每 3 周接受 1 次帕博利珠单抗 (试验组) 或安慰剂 (对照组), 最多 9 个周期。主要终点是病理完全缓解和无事件生存期。次要终点是总生存期。

本研究共入组 1 174 例患者, 其中, 试验组 784 例、对照组 390 例。截至 2024 - 03 - 22, 中位随访时间为 75.1 个月 (范围为 65.9 ~ 84.0 个月)。试验组和对照组的估计 60 个月总生存期分别为 86.6% (95% 置信区间为 84.0 ~ 88.8) 和 81.7% (95% 置信区间为 77.5 ~ 85.2), 在统计学上差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。不良事件与帕博利珠单抗和化疗的既定安全性一致。

该研究提示: 帕博利珠单抗可以显著改善早期三阴性乳腺癌患者的总生存期。

(戴荣源 摘录)