

· 综 述 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2021.05.033

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20201010.0932.004.html\(2020-10-10\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20201010.0932.004.html(2020-10-10))

Mage-D1 的分子生物学特性及参与牙发育调控的研究进展*

余 侠¹综述,温秀杰^{1,2△}审校

(1.西南医科大学附属口腔医院正畸科,四川泸州 646000;2.重庆瑞泰口腔医院正畸科 401121)

[摘要] 黑色素瘤相关抗原 D1(Mage-D1),也称为 NRAGE 或 Dlxin-1,来自于黑色素瘤抗原(Mage)家族,隶属于 Mage II 类蛋白。目前已有大量研究表明,Mage-D1 能够与多种蛋白结合,例如神经生长因子受体(p75NTR)、骨形态发生蛋白(BMP)、X 连锁凋亡抑制剂(XIAP)、轴突导向受体(UNC5H1)、Necdin 等,从而在细胞分化、增殖、周期、凋亡等方面发挥作用,近年来研究发现,Mage-D1 与牙发育的关系密切。该文就 Mage-D1 的生物学功能及其与牙齿发育的关系作一综述,为揭示牙发育分子信号机制、促进牙齿组织工程进程提供参考依据。

[关键词] Mage-D1;Mage 家族 II 类;牙发育**[中图法分类号]** R781**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2021)05-0865-05

Mage-D1 molecular biological characteristics and research progress in the regulation of tooth development*

YU Xia¹,WEN Xiujie^{1,2△}

(1. Department of Orthodontics, Hospital of Stomatology, Southwest Medical University, Luzhou, Sichuan 646000, China; 2. Department of Orthodontics, Chongqing Ruitai Dental Hospital, Chongqing 401121, China)

[Abstract] Mage-D1, also known as NRAGE or Dlxin-1, comes from the melanoma antigen protein family, which belongs to the CLASS Mage II protein. At present, a large number of studies have shown that Mage-D1 can bind to a variety of proteins, such as nerve growth factor receptor (p75NTR), bone morphogenetic protein (BMP), X-linked apoptosis inhibitor (XIAP), and axon guiding receptor (UNC5H1), Necdin pro, etc., which plays a important role in cell differentiation, proliferation, cycle, and apoptosis. In recent years, studies have found that Mage-D1 is closely related to tooth development. This article reviewed the biological functions of Mage-D1 and its relationship with tooth development, and provided a reference for revealing the molecular signal mechanism of tooth development and promoting the process of tooth tissue engineering.

[Key words] Mage-D1; type II Mage; tooth development

近年来,黑色素瘤相关抗原(Mage)家族蛋白由于参与多种细胞生物学效应而成为学术界的研究热点。其中,Mage-D1 作为 Mage II 类蛋白,因其结构和功能的特殊性,引起了人们的关注,且随着研究的不断深入,发现其与牙发育存在一定的相关性。本文就 Mage-D1 的生物学功能及其与牙发育的联系作一综述,为 Mage-D1 在牙再生组织工程中的进一步研究提

供思路及方向。

1 Mage-D1 的发现与结构特点

Mage-D1 又称 NRAGE 或 Dlxin-1,由 POLD 等^[1]于 1999 年在骨髓基质细胞中被发现,属于 Mage II 类。Mage-D1 基因位于 X 染色体上的 p11.21~p11.23 片段,全长 6 601 bp,由 13 个外显子构成,第 2~12 个外显子之间是开放阅读框(ORF),编码含有

* 基金项目:国家自然科学基金面上项目(81970906);四川省科技计划项目(2019YJ0689)。 作者简介:余侠(1995—),在读硕士研究生,主要从事牙发育与组织再生研究。 △ 通信作者,E-mail,wenxiujie@tom.com。

778 个氨基酸,大小约为 86×10^3 的蛋白。在结构上, Mage-D1 的氨基端是 Mage-D 类成员共有的一段保守序列 MHD2,羧基端是由 220 个氨基酸组成的 Mage 家族的同源区域 MHD^[1],由 25 个重复的六肽结构域(IRD) WQXPXX 连接 MHD2 和 MHD 结构域。Mage-D1 在胚胎和成年个体各时期各种组织中都有表达,其中在脑组织的表达最多^[2],其表达水平在胚胎时期随着胚胎发育过程不断上升,出生后开始下降,尤其在成年之后显著降低,表明 Mage-D1 可能与胚胎发育存在相关性。

最早 Mage-D1 被证明能通过与 p75 神经营养受体(p75NTR)相互作用进而起到促进神经元凋亡的作用。神经系统中的 Mage-D1 可能还与生物节律、学习记忆,以及抑郁行为的发生有关。Mage-D1 还在肿瘤的发生和转移中起着至关重要的抑癌作用^[3-5]。此外,越来越多的研究表明 Mage-D1 可以和轴突导向受体(UNC5H)、X 连锁凋亡抑制剂(XIAP)、骨形态发生蛋白(BMP)、Necdin 等蛋白相互作用,参与调节细胞周期、增殖、凋亡等病理生理过程。最新研究发现, Mage-D1 与牙齿发育密切相关,可能参与了牙发育的调控。

2 Mage-D1 的生物学特性

2.1 Mage-D1 参与细胞分化调控

首先, Mage-D1 影响神经元细胞的分化。Necdin 是 Mage 家族蛋白,主要存在于神经元、骨骼肌、软骨及脂肪细胞中,并在有丝分裂后期表达,过量表达 Necdin 有利于细胞分化和凋亡。有研究指出,在发育小鼠的脑部前盘区和神经结突触处发现了高浓度的 Necdin、Mage-D1 和 Dlx 家族蛋白^[6],提示 Mage-D1 与 Necdin 可能通过共同调节 Dlx 家族蛋白来影响神经元细胞的分化。随后 KUWAJIMA 等^[7]研究证实了这一点,他们发现 Necdin 正是通过结合 Mage-D1 介导 Dlx 同源结构域蛋白的转录,从而促进小鼠胚胎前脑中 GABA 神经元分化。FENG 等^[8]发现在神经生长因子(NGF)介导的 PC12 细胞神经元分化的过程中, Mage-D1 作为负调节剂,抑制 PC12 细胞的神经元分化。而 REDDY 等^[9]提出,在 PC12 细胞中, Mage-D1 可以通过激活 MEK 和 Akt 信号通路,上调神经突形成。

其次, NGUYEN 等^[10]研究发现 Mage-D1 在正常成年人的肌肉组织中表达很低,而在损伤后成肌细胞分化时大大提高,说明 Mage-D1 与肌肉的损伤修复有关,也证明了 Mage-D1 参与成肌细胞的分化。

2.2 Mage-D1 参与细胞增殖与周期调控

Mage-D1 调控多种细胞的增殖。体外实验证明, Mage-D1 能抑制人肾脏上皮细胞 HEK293、肝细胞癌细胞 HepG2、骨肉瘤细胞 U2OS^[11] 和乳腺癌细胞的增殖^[12]。而 YANG 等^[13]的研究表明 Mage-D1 能促进食道癌细胞增殖。

Mage-D1 调控细胞周期主要是通过通过与 p53 的相互作用来实现。WEN 等^[11]发现, Mage-D1 抑制 HEK293、HepG2、U2OS 的生长是通过 p53 通路使细胞周期停滞在 G₁ 和 G₂/M 期。SALEHI 等^[13]则发现在交感神经前体细胞中 Mage-D1 通过结合 p75NTR 使细胞生长在 G₁ 期停滞。另外, YANG 等^[14]报道,缺乏 Mage-D1 的食道癌细胞生长停滞在 G₂/M 期,同时 S 期明显减少。而 KENDALL 等^[15]的实验发现 Mage-D1 调控细胞周期还可以依赖 p38 途径,这是由 XIAP 复合物介导的。

2.3 Mage-D1 参与细胞凋亡进程

研究表明, Mage-D1 是一种促凋亡因子,参与了多种癌细胞的凋亡,包括胃癌细胞 SGC7901、肾上腺嗜铬细胞瘤 PC12 细胞、P19 细胞、Hela 细胞^[16] 及肠上皮细胞^[17] 等。徐增琦^[18]还报道了 Mage-D1 在口腔鳞状细胞癌中也有促进细胞凋亡的作用,其作用可能是通过天冬氨酸蛋白水解酶-3(caspase-3)经典途径及促凋亡蛋白 Bax 实现的。

作为一个促凋亡蛋白, Mage-D1 诱导细胞凋亡有多种途径,具体如下:(1)与 p75NTR 相互作用,激活线粒体死亡途径,释放细胞色素 C,激活 caspase-3、caspase-9,促进凋亡信号转导,诱导依赖 JNK 途径的细胞凋亡。(2)在非经典骨形态发生蛋白(BMP)信号通路中, Mage-D1 通过结合 XIAP 的 RING 结构域与 XIAP-TAK1-TAB1 复合物相互作用,诱导下游 p38 依赖的神经祖细胞凋亡。(3) Mage-D1 与凋亡拮抗转录因子 Che-1 结合,影响其在细胞核内定位,同时利用其蛋白酶体依赖性降解下调 Che-1,从而加速细胞死亡^[19-20]。(4)与轴突导向受体 UNC5H1 的胞内近膜区域结合形成复合物^[21],在 caspase-3 的编辑下裂解,转移到细胞质中引起细胞凋亡。(5)与细胞质蛋白 PrP^[22] 结合并中断蛋白相互作用,从而导致细胞凋亡。(6)NF- κ B 通路也是调节细胞凋亡的重要组成部分,有学者发现, Mage-D1 通过 NF- κ B 促进口腔鳞癌细胞凋亡^[18],另外, Mage-D1 与 XIAP、Che-1、UNC5H 作用调控细胞凋亡也是通过 NF- κ B 实现的。

2.4 Mage-D1 参与核转录调控

Mage-D1 与 Dlx/Msx 同源结构域蛋白相互作用,在胚胎时期颅面、四肢、神经系统的发育中起重要

作用。其中, *Dlx* 控制细胞分化, 激活转录过程; *Msx* 控制细胞分裂和凋亡, 抑制转录, 两者均定位于细胞核。 *Mage-D1* 与 *Dlx*/*Msx* 结合主要是借助于自身的六肽重复序列 IRD, 从而促使 *Dlx* 发生转录, 引起 GABA 神经元分化^[12]; 同时弱化 *Msx* 抑制转录的作用, 激活骨骼肌细胞的分化。该过程需要与其家族另一成员 *Necdin* 的协同, 两者通过共有的 MHD 结构域结合在一起而发挥作用。MASUDA 等^[23] 研究发现, *Mage-D1* 与 *Dlx5* 结合, 控制其下游基因转录, 并且依赖于 *Mage-D1* 表达的多少而产生不同的效果, 低水平表达促进转录, 而过表达则会产生抑制作用。

3 Mage-D1 与牙发育

Mage-D1 的基因表达图谱显示, *Mage-D1* 在牙乳头及牙釉质上皮处高表达, 提示 *Mage-D1* 本身就与牙发育存在联系, 另外, *Mage-D1* 还可以通过影响牙发育始祖细胞的迁移来影响牙发育, 更参与了调控牙发育相关的多种信号通路, 进一步证实了 *Mage-D1* 与牙发育存在一定的联系。

3.1 Mage-D1 与牙发育始祖细胞

牙发育离不开上皮-间充质细胞的相互作用。颅神经嵴来源的外胚间充质干细胞(ecto-mesenchymal stem cell, EMSC), 是除牙釉质以外所有牙齿组织的形成细胞, 也可以认为是牙发育始祖细胞^[24]。在牙齿的发育过程中, 这些细胞迁移至上下颌突, 与牙源性上皮相互作用形成牙囊和牙乳头, 进而分化为多种牙齿组织发生细胞, 再分化形成牙槽骨、牙骨质和牙本质等组织^[25]。因此, 来源于颅神经嵴的 EMSC 对颌面部及牙齿的发育至关重要。研究显示, 下调 *Mage-D1* 可以促进 EMSC 的迁移, 从而影响牙齿发育。

3.2 Mage-D1 与 p75NTR

研究显示, *Mage-D1* 可以通过同源域 MHD 与 p75NTR 的胞内近膜区域结合, 在 p75NTR 与成牙关键转录因子 *Dlx*/*Msx* 中充当桥梁作用。p75NTR 是最早发现与 *Mage-D1* 作用的细胞膜受体。ZHAO 等^[26] 在钟状期牙胚的上皮-间充质处检测到了高表达的 p75NTR, 表明在牙发育初期的调控分子中很可能有 p75NTR, 或者可以称为是启动牙发育的关键基因。与此同时, 在成牙初期的上皮-间充质区域检测到大量的 p75NTR 及 *Msx*、*Dlx* 同源域结构蛋白, 后者被公认为是牙发育过程中的关键因子。杨琨等^[27] 研究发现, p75NTR 参与胚胎颌面部及牙发育过程, 且可能和 *Mage-D1* 共同诱导了颌突 EMSC 的矿化, 从而影响成牙本质发生及矿化。

3.3 Mage-D1 与 Wnt 信号通路

Wnt 信号通路是器官和组织生长、发育中重要的信号机制, 调控细胞的增殖、分化、迁移。近年来研究发现经典的 Wnt/ β -catenin 信号通路在牙齿发育过程中发挥着重要作用, 通过影响成牙本质细胞、成牙骨质细胞、牙源性间充质细胞增殖、分化和极化, 调控牙齿形态发生, 包括牙齿数量、大小、位置、形状和组织形成^[28-29]。过表达 *Mage-D1* 可以导致 β -catenin 发生 O-乙酰氨基糖基化, 促进其核内转移并结合 DNA, 且 β -catenin 的糖基化影响其与下游的 Wnt 信号通路核心蛋白 Pygopus 的结合^[30], 从而阻碍 Wnt/ β -catenin 信号通路, 影响成牙本质细胞分化, 进而影响牙根发育。

3.4 Mage-D1 与骨形态发生蛋白(BMP)信号通路

BMP 是调控多种牙发育相关的转录因子, 对于牙的生长发育起着至关重要的作用。SAADI 等^[31] 在牙发育的钟状晚期成釉细胞和牙乳头细胞间检测到了多种 BMP 转导, 并证明这种转导通过调控不同的下游信号分子影响牙本质及牙根形成^[31]。研究显示, *Mage-D1* 参与激活非经典和经典的 BMP 信号通路^[32-33], 而 BMP 信号通路在牙齿发育^[34-35] 及调节髓细胞的增殖和分化^[36-37] 中发挥重要作用。因此, 推测 *Mage-D1* 可能参与牙齿发育及修复牙本质。

综上所述, 作为 *Mage II* 类家族的一员, *Mage-D1* 在细胞分化、增殖、周期、凋亡中均发挥重要调节功能, 尤其是近年来发现其与牙齿发育息息相关, 更为牙再生与牙发育的研究提供了新的方向。但相对于其庞大的功能系统, 目前针对 *Mage-D1* 的研究和认识仍需要不断深入, 尤其是在口腔医学领域的研究尚处起步阶段。本文综合了近年最新的研究报道与实验数据, 梳理和整合了 *Mage-D1* 在分子结构、参与细胞分化/增殖/凋亡/核转录调控及与牙发育联系的研究进展。随着未来研究的不断深入, 将进一步明确 *Mage-D1* 的生物学特性和在牙发育中的确切调控与分子信号机制, 为攻克牙齿组织工程发展的制约瓶颈提供新的思路。

参考文献

- [1] PÖLD M, ZHOU J, CHEN G L, et al. Identification of a new, unorthodox member of the MAGE gene family[J]. *Genomics*, 1999, 59(2): 161-167.
- [2] SHIMIZU D, KANDA M, SUGIMOTO H, et al. NRAGE promotes the malignant phenotype

- of hepatocellular carcinoma [J]. *Oncol Lett*, 2016, 11(3):1847-1854.
- [3] YANG Q, PAN Q, LI C, et al. NRAGE is involved in homologous recombination repair to resist the DNA-damaging chemotherapy and composes a ternary complex with RNF8-BARD1 to promote cell survival in squamous esophageal tumorigenesis[J]. *Cell Death Differ*, 2016, 23(8):1406-1416.
- [4] KANDA M, SHIMIZU D, FUJII T, et al. Neurotrophin Receptor-Interacting melanoma Antigen-Encoding gene homolog is associated with malignant phenotype of gastric cancer[J]. *Ann Surg Oncol*, 2016, 23(Suppl 4):532-539.
- [5] JIANG X, JIANG X, YANG Z, et al. NRAGE confers poor prognosis and promotes proliferation, invasion, and chemoresistance in gastric cancer[J]. *Gene*, 2018, 668:114-120.
- [6] STÜHMER T, ANDERSON S A, EKKER M, et al. Ectopic expression of the Dlx genes induces glutamic acid decarboxylase and Dlx expression[J]. *Development*, 2002, 129(1):245-252.
- [7] KUWAJIMA T, NISHIMURA I, YOSHIKAWA K. Neddin promotes GABAergic neuron differentiation in cooperation with Dlx homeodomain proteins[J]. *J Neurosci*, 2006, 26(20):5383-5392.
- [8] FENG Z, LI K, LIU M, et al. NRAGE is a negative regulator of nerve growth factor-stimulated neurite outgrowth in PC12 cells mediated through TrkA-ERK signaling [J]. *J Neurosci Res*, 2010, 88(8):1822-1828.
- [9] REDDY E M, CHETTIAR S T, KAUR N, et al. Dlxin-1, a member of MAGE family, inhibits cell proliferation, invasion and tumorigenicity of glioma stem cells [J]. *Cancer Gene Ther*, 2011, 18(3):206-218.
- [10] NGUYEN T H, BERTRAND M J, CHRISTIANE S, et al. Maged1, a new regulator of skeletal myogenic differentiation and muscle regeneration[J]. *BMC Cell Biol*, 2010, 11(1):57.
- [11] WEN C J, XUE B, QIN W X, et al. hNRAGE, a human neurotrophin receptor interacting MAGE homologue, regulates p53 transcriptional activity and inhibits cell proliferation [J]. *FEBS Lett*, 2004, 564(1/2):171-176.
- [12] DU Q, ZHANG Y, TIAN X X, et al. MAGE-D1 inhibits proliferation, migration and invasion of human breast cancer cells[J]. *Oncol Rep*, 2009, 22(3):659-665.
- [13] SALEHI A H, ROUX P P, KUBU C J, et al. NRAGE, a novel MAGE protein, interacts with the p75 neurotrophin receptor and facilitates nerve growth factor-dependent apoptosis [J]. *Neuron*, 2000, 27(2):279-288.
- [14] YANG Q, OU C, LIU M, et al. NRAGE promotes cell proliferation by stabilizing PCNA in a ubiquitin-proteasome pathway in esophageal carcinomas [J]. *Carcinogenesis*, 2014, 35(7):1643-1651.
- [15] KENDALL S E, BATTELLI C, IRWIN S, et al. NRAGE mediates p38 activation and neural progenitor apoptosis via the bone morphogenetic protein signaling cascade [J]. *Mol Cell Biol*, 2005, 25(17):7711-7724.
- [16] ZHANG G, ZHOU H D, XUE X. Complex roles of NRAGE on tumor [J]. *Tumour Biol*, 2016, 37(9):11535-11540.
- [17] 冯奇, 胡远亮, 邹贵军, 等. NRAGE 对肠上皮细胞凋亡的影响 [J]. *四川大学学报 (医学版)*, 2017, 48(4):556-560.
- [18] 徐增琦. 黑色素瘤抗原蛋白 D1 促进口腔鳞癌细胞凋亡的机制研究 [D]. 南京: 南京医科大学, 2016.
- [19] DI C M, CORBI N, BRUNO T, et al. NRAGE associates with the anti-apoptotic factor Che-1 and regulates its degradation to induce cell death [J]. *J Cell Sci*, 2007, 120(Pt 11):1852-1858.
- [20] PASSANANTI C, FANCIULLI M. The anti-apoptotic factor Che-1/AATF links transcriptional regulation, cell cycle control, and DNA damage response [J]. *Cell Div*, 2007, 2(1):21.
- [21] WILLIAMS M E, STRICKLAND P, WATANABE K, et al. UNC5H1 induces apoptosis via its juxtamembrane region through an interaction with NRAGE [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278

- (19):17483-17490.
- [22] BRAGASON B T, PALSDOTTIR A. Interaction of PrP with NRAGE, a protein involved in neuronal apoptosis [J]. *Mol Cell Neurosci*, 2005, 29(2):232-244.
- [23] MATSUDA T, SUZUKI H, OISHI I, et al. The receptor tyrosine kinase Ror2 associates with the melanoma-associated antigen (MAGE) family protein Dlxin-1 and regulates its intracellular distribution[J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(31):29057-29064.
- [24] ZHANG J, DUAN X, ZHANG H, et al. Isolation of neural crest-derived stem cells from rat embryonic mandibular processes[J]. *Biol Cell*, 2006, 98(10):567-575.
- [25] MANTESSO A, SHARPE P. Dental stem cells for tooth regeneration and repair [J]. *Expert Opin Biol Ther*, 2009, 9(9):1143-1154.
- [26] ZHAO M, WANG Y, LI G, et al. The role and potential mechanism of p75NTR in mineralization via in vivo p75NTR knockout mice and in vitro ectomesenchymal stem cells[J]. *Cell Prolif*, 2020, 53(2):e12758.
- [27] 杨琨, 李骏, 丰奇昊, 等. MAGE-D1 对大鼠牙胚来源外胚间充质干细胞增殖迁移能力的影响 [J]. *遵义医学院学报*, 2018, 41(5):569-575.
- [28] YANG Z, LIU F. Wnt/ β -catenin signaling for dental regeneration [J]. *Regen Dent Implant Therapy*, 2012, 1:3-8.
- [29] WANG B, LI H, LIU Y, et al. Expression patterns of WNT/ β -CATENIN signaling molecules during human tooth development [J]. *J Mol Histol*, 2014, 45(5):487-496.
- [30] 薛斌. NRAGE 抑制细胞生长、黏附和迁移分子机理的研究 [D]. 南京: 南京师范大学, 2006.
- [31] SAADI I, DAS P, ZHAO M, et al. Msx1 and Tbx2 antagonistically regulate Bmp4 expression during the bud-to-cap stage transition in tooth development [J]. *Development*, 2013, 140(13):2697-2702.
- [32] MATLUK N, ROCHIRA J A, KARACZYNA A, et al. A role for NRAGE in NF-kappaB activation through the non-canonical BMP pathway [J]. *BMC Biol*, 2010, 8(1):7.
- [33] KANG J, CHUNG K C. The F-box protein FBXO7 positively regulates bone morphogenetic protein-mediated signaling through Lys-63-specific ubiquitination of neurotrophin receptor-interacting MAGE (NRAGE) [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2015, 72(1):181-195.
- [34] DONG X, SHEN B, RUAN N, et al. Expression patterns of genes critical for BMP signaling pathway in developing human primary tooth germs [J]. *Histochem Cell Biol*, 2014, 142(6):657-665.
- [35] CAO H J, JHEON A, LI X, et al. The Pitx2:miR-200c/141:noggin pathway regulates Bmp signaling and ameloblast differentiation [J]. *Development*, 2013, 140(16):3348-3359.
- [36] QIN W Z, DENG R. p38a MAPK is involved in BMP-2-induced odontoblastic differentiation of human dental pulp cells [J]. *Int Endod J*, 2012, 45(3):224-233.
- [37] KIM D S, JUE S S, LEE S Y, et al. Effects of glutamine on proliferation, migration, and differentiation of human dental pulp cells [J]. *J Endod*, 2014, 40(8):1087-1094.

(收稿日期:2020-10-18 修回日期:2020-12-22)