

• 综述 •

牙本质基质蛋白 1 及其对骨形成的调控作用

张永英, 崔亚洲, 周小艳, 韩金祥*

(山东省医药生物技术研究中心, 卫生部生物技术药物重点实验室,
山东省罕见病重点实验室, 山东省医学科学院, 济南 250062)

摘要 牙本质基质蛋白 1(dentin matrix protein 1, DMP1) 是一种高度磷酸化的偏酸性非胶原蛋白, 属于小整合素结合配体 N 端连接糖蛋白(small integrin-binding ligand, N-linked glycoprotein, SIBLINGs) 家族. 和 SIBLINGs 家族其它成员一样, DMP1 基因定位于人类染色体 4q21. 除存在于牙组织外, 该蛋白还普遍分布于骨组织中. 在骨组织与细胞中已发现 4 种 DMP1 的主要存在形式, 即全长 DMP1、57 kD C-DMP1、37 kD N-DMP1、DMP1-PG. 它们的分布与功能均不相同, 但对骨的正常形成均有重要意义. DMP1 的氨基酸序列拥有大量的酸性结构域, 携带负电荷, 与钙离子有较强的结合能力. 它在体外能够促进羟基磷灰石形成, 并调控细胞分化, 在体内参与硬组织的矿化过程. 另外, DMP1 的水解过程对其调控矿化的功能十分关键. 人体内 DMP1 基因的突变可导致常染色体隐性低血磷性佝偻病. 本文就近几年对 DMP1 基因结构与调控、蛋白结构与代谢、在骨组织与细胞中的分布及其对骨形成调控作用的研究进展作一综述.

关键词 牙本质基质蛋白 1(DMP1); 骨生成; 表达调控; 羟基磷灰石

中图分类号 R68; Q7

The Roles of Dentin Matrix Protein 1 in Osteogenesis

ZHANG Yong-Ying, CUI Ya-Zhou, ZHOU Xiao-Yan, HAN Jin-Xiang*

(Medical Biotechnological Center of Shandong, Key Laboratory for Biotech-Drug of
Health Ministry, Key Laboratory for Rare Diseases of Shandong Province, Shandong
Academy of Medical Sciences, Jinan 250062, China)

Abstract Dentin matrix protein 1 (DMP1) is an acidic phosphoprotein of the SIBLING family of noncollagenous proteins (NCPs). DMP1 is abundant in dentin, and is also distributed in bones as an essential control factor for osteogenesis. Fragmented DMP1 exists within the extracellular matrix of bone, including a 57 kD N-terminal, a 37 kD C-terminal fragment and DMP1-PG. The localization of these DMP1 forms are found in different the bone compartments and cell types suggesting their different roles in osteogenesis. DMP1 contains multiple acidic domains riched in Ser, Glu, and Asp, and many of the Ser reside in the consensus motif of hypothetical phosphorylation sites of casein kinases I and II. The acidic property of DMP1 may allow a high calcium ion-binding capacity that is necessary for mineralization. The proteolytic processing of DMP1, which releases N-DMP1 and C-DMP1, may be important for the formation and mineralization of bones. Experiments indicate a dual biological function for DMP1 both as a transcriptional signal during early differentiation of osteoblasts and as an initiator of mineralization during the terminal differentiation of osteoblasts. Human DMP1 mutations are linked to the condition known as autosomal recessive hypophosphatemic rickets. This review summarizes the late progress in understanding the role of DMP1 in osteogenesis.

Key words dentin matrix protein 1(DMP1); osteogenesis; expression regulation; hydroxyapatite

收稿日期: 2011-05-13; 接受日期: 2011-07-05

* 联系人 Tel: 0531-82919888; E-mail: samshjx@sina.com

Received: May 13, 2011; Accepted: July 5, 2011

* Corresponding author Tel: 0531-82919888; E-mail: samshjx@sina.com

骨和牙是人体内形成过程与组成成分十分类似的矿化组织。在骨和牙的形成过程中,成骨细胞和成齿质细胞先通过分泌作用生成富含I型胶原蛋白的非矿化的基质成分,分别称为“类骨质”和“原牙质”,分别为骨和牙的前体。随着羟基磷灰石的沉积,类骨质和原牙质分别进入矿化时期。磷灰石沉积的位点与速率成为调节生物矿化的主要机制。

在骨和牙的胞外基质中,除了I型胶原蛋白还包括众多非胶原蛋白(NCPs),这些非胶原蛋白积极参与了生物矿化的促进与调节作用。牙本质基质蛋白1(dentin matrix protein 1,DMP1)是在鼠cDNA克隆过程中发现的一种NCP,属于小整合素结合配体N端连接糖蛋白(SIBLINGs)家族中的一员。该家族的其它成员包括骨涎蛋白(bone sialoprotein,BSP)、骨桥蛋白(osteopontin,OPN)、釉质素(enamelin)、胞外基质磷糖蛋白(MEPE)、牙本质涎磷蛋白(dentin sialophosphoprotein,DSPP)。DMP1主要表达于骨和牙本质中,此外在非矿化组织中也有表达,如脑、肾、胰等。DMP1的氨基酸序列中包括众多酸性区域,这些酸性区域经折叠后形成的结构很可能是其参与调节生物矿化的功能域。该假说已被MC3T3-E1细胞过表达DMP1实验及DMP1基因敲除鼠等实验证明。许多研究表明,人体内DMP1基因突变可导致常染色体隐性低血磷性佝偻病(autosomal recessive hypophosphatemic rickets,ARHR)。动物体内,如小鼠、狗,DMP1基因缺陷或缺失也会引起典型的佝偻病与骨软化症。它们均表现为相似的骨骼缺陷。DMP1在骨形成调控作用方面的研究逐渐得到重视。

1 DMP1 基因结构与调控

和SIBLINGs家族其它成员一样,DMP1基因在人染色体的定位为4q21,小鼠为5q21。鳄鱼、鸡、人类、小鼠、大鼠和猪的DNA序列数据表明,DMP1 cDNA由6个外显子编码,普遍具有以下特征:①前5个外显子相对较小,一般不超过100 bp,第6外显子最大,携带80%的编码信息;②第2外显子编码信号肽的氨基酸;③第5外显子(45 bp)只在某些物种中存在;④内含子1最大,是DMP1组织特异性表达所必需的,内含子4最小(162~189 bp)^[1]。

DMP1基因有2种转录产物:1种含全部外显子,即全长转录产物,是小鼠DMP1主要的形式;另1种缺失第5外显子,是人类常见的形式^[2]。DMP1主要在骨和牙中表达,有较强的组织特异性,提示该

基因表达在转录水平上应受到严格调控。DMP1主要有2个启动子调控区域,1个位于近端(-2.4 kb至+4 kb),主要调控DMP1的早期表达;另1个位于远端(-2.4 kb至-9.6 kb),主要调控DMP1的晚期表达^[3]。AP-1家族、c-Jun及c-Fos很可能是DMP1基因在早期成骨细胞分化过程中的调节因子。Runx2是DMP1基因的转录因子,启动子上存在Runx2的3个应答元件。缺乏Runx2的骨组织中完全没有DMP1 mRNA,但在成牙本质细胞层却有保留,表明Runx2对DMP1表达的调节在成骨细胞和成牙本质细胞是不同的。Qin等^[4]通过实时定量RT-PCR分析发现,在成牙骨质细胞中DMP1的表达还受到磷酸盐的调控。

2 DMP1 蛋白结构与代谢

DMP1是一种高度磷酸化偏酸性非胶原蛋白,属SIBLINGs家族。其中丝氨酸、谷氨酸和天冬氨酸为主要氨基酸,分别占21.4%、15.6%、12.1%。放射性磷酸钠分析得出全长DMP1包含53个磷酸盐基团,C-末端片段有41个,N-末端片段只含12个。DMP1蛋白具有强酸性特征,拥有大量酸性结构域,提示该蛋白很可能具有较强的钙离子结合能力,这与该蛋白参与生物矿化过程的功能密切相关。DMP1蛋白结构均含有高度保守的磷酸化N-糖基化位点和整合素结合三肽RGD(Arg-Gly-Asp)序列。RGD三肽定位于57 kD C-末端片段的中心区域,可与细胞表面的整合素受体 $\alpha V\beta 3$ 结合而发挥作用。

没有生物活性的全长DMP1在体内很快被水解,水解过程发生在细胞内^[5]。水解后的DMP1主要以57 kD C-DMP1与37 kD N-DMP1两种形式存在,前者容易被高度磷酸化,而后者可被糖基化,多以DMP1-PG的形式存在^[6]。另外,全长DMP1及其水解后的2个片段的稳定性较弱,其中全长DMP1稳定性最差,它与羟基磷灰石或 Ca^{2+} 相互作用时空间结构容易发生改变^[7]。

3 DMP1 在骨组织与细胞中的分布

DMP1 cDNA最初从大鼠牙本质中分离出,并认为是牙组织中的特异性蛋白。随后研究发现,该蛋白在骨组织中也有表达,且表达水平大大高于在牙本质中的表达。此外,一些非矿化组织(如脑组织、涎腺组织及某些上皮来源肿瘤)也能表达该蛋白^[8]。

胚胎发育过程中,DMP1 mRNA主要表达于骨组织中的初级肥大软骨细胞与成骨细胞,而在出生后

发育过程中,该蛋白则主要在骨细胞中表达。DMP1 很少以全长形式存在。2008 年 Huang 等^[5]才从牙与骨组织中鉴定出微量的全长 DMP1。目前认为,全长 DMP1 水解后产生的 57 kD C-DMP1 和 37 kD N-DMP1 两个肽段是其在骨组织中的主要存在形式。但 Sun 等^[9,10]在大鼠颞骨髁突软骨及大鼠股骨头软骨中检测到比 57 kD C-DMP1 及 37 kD N-DMP1 更多的全长 DMP1,这与之前的结论相矛盾。他们还通过一系列的实验发现,37 kD N-DMP1 主要分布在软骨基质中,而 57 kD C-DMP1 则主要定位于成软骨细胞核内。

由于 N-DMP1 易被糖基化,C-DMP1 易被磷酸化,这种不同的结构特点决定它们在组织与细胞中的分布也显著不同。Maciejewska 等^[11]通过对大鼠肱骨切片免疫印迹实验发现:N-DMP1 一般分布在骨的非矿化区域内,如生长板软骨;C-DMP1 则主要集中在钙化前沿及成骨区域等已矿化部分。在骨细胞中 N-DMP1 主要沿着细胞膜及细胞突起分布;C-DMP1 则主要集中在细胞核内。这种在细胞内的分布模式在 MC3T3-E1 与 HEK-293 细胞系中也被证实。不同的分布区域提示它们在矿化过程中发挥不同的功能。C-DMP1 集中在细胞核内,表明该片段可能具有调控基因表达的功能,但是序列分析发现该片段不具有典型的 DNA 结合域,推测该片段可能通过作用于其他组蛋白来调节矿化基因的表达。

4 DMP1 对骨形成调控作用的研究进展

DMP1 的氨基酸序列拥有大量的酸性结构域,携带负电荷,与钙离子有较强的结合能力。它在体外能够促进羟基磷灰石形成,并调控细胞分化;在体内参与硬组织的矿化过程^[12-14],对骨骼正常形成发挥重要调控作用^[7,15]。另外,DMP1 的水解过程对其调控矿化的功能十分关键。

4.1 DMP1 促进羟基磷灰石形成

体外研究表明:DMP1 具有促进羟基磷灰石(hydroxyapatite,HA)形成的功能。MC3T3-E1 细胞转染后过表达 DMP1 实验^[16]首次证实,DMP1 能参与体面生物矿化。随后 Feng 与他的同事^[17]发现,DMP1 与小鼠颅盖细胞培养物中出现的矿化结节密切相关。该功能与 DMP1 拥有大量的酸性结构域,有高度的钙离子结合能力,能为磷酸钙结晶核的形成提供合适模板的结构特点密切相关。

全长 DMP1 曾被认为是矿化抑制剂^[18]。但是最近又有研究表明,它在细胞内很快被水解^[19],所以

在组织中一般检测不到 DMP1 的全长片段。DMP1 在骨组织中主要以 3 种片段形式存在:即 57 kD C-DMP1、37 kD N-DMP1 和 DMP1-PG。由于它们的分布区域不同,其功能也必然存在区别。Gerickel 等^[7]最近进行了一项研究,他们从大鼠长骨中分别提取、纯化并鉴定 3 个片段 37 kD N-DMP1、57 kD C-DMP1 及 DMP1-PG,其中 37 kD N-DMP1 包括 12 个磷酸基团,57 kD C-DMP1 包括 41 个磷酸基团,DMP1-PG 含有 1 条硫酸软骨链。在凝胶系统中,分别在有无晶种的情况下,观察这 3 种片段对 HA 形成及生长的影响。结果发现,37 kD N-DMP1 与 57 kD C-DMP1 都可以促进 HA 的生长,且 57 kD C-DMP1 诱导 HA 成核的效果比 37 kD N-DMP1 更显著。57 kD C-DMP1 促进矿化作用的功能同样也曾被 Lu 等^[20]研究所证实。而 DMP1-PG 的作用则是抑制矿化作用,其中在有晶种存在的凝胶体系中,它抑制矿化积累的效果更强,抑制效果还与剂量有关,浓度为 21 $\mu\text{g/mL}$ 时抑制效果可达 60%。

4.2 DMP1 控制细胞分化

4.2.1 DMP1 间接控制细胞分化 Narayanan 与等^[12]发现,DMP1 不仅在胞外能促进羟基磷灰石的沉积,还具有控制细胞分化的功能。他们先前的研究曾发现,过表达 DMP1 的 MC3T3-E1 和 C3H10T1/2 细胞除了在形态学上有变化之外,还会使降钙素(osteocalcin,OCN)与碱性磷酸酶表达上调;抑制 DMP1 的表达又会引起 OCN 与碱性磷酸酶表达下调。这提示,DMP1 应该能够通过直接或间接的方式来调控矿化基因的表达。为了进一步验证该假说,他们在该实验中对 MC3T3-E1 细胞系过量转染 DMP1 质粒,但发现并没有使 OCN 启动子的活性提高。以上研究说明,在前成骨细胞中,DMP1 应该是通过与特定转录调控因子相互作用来发挥调控矿化基因表达的功能。这与前面提到的 C-DMP1 片段不具有典型的 DNA 结合域而推测的结论一致。值得注意的是 Mina 等^[21]研究表明,在前成骨细胞分化过程中 DMP1 基因与 Col1a1 基因相互作用,同样与成骨细胞终末期分化密切相关的 Osterix(Osx)也可以调控 Col1a1 基因的表达^[22],故 DMP1 是否也像 Osx 一样是调控成骨分化的主要转录因子?

4.2.2 DMP1 具有核定位功能 DMP1 在细胞中的分布模式提示该蛋白的结构中很可能含有某一段具有核定位功能的序列。Narayanan 等^[12]通过定点诱变的实验方法验证了该假说,并发现位于 C 端的 NLS3 功能域可通过与内输蛋白 α (α -importin) 的相

互作用实现其核定位功能。这样,DMP1在细胞质中发生水解后,产生的具有核定位功能的C端片段可以进入到核内,再通过直接或间接的方式调控前成骨细胞分化。

4.2.3 Ga^{2+} 介导 DMP1 由胞核转至胞外基质 在已矿化的组织中,DMP1一般定位于胞外基质,而在尚未具有矿化能力的前成骨细胞的分化期,DMP1一般定位于胞核。那么在前成骨细胞分化成熟以后,很可能存在一种机制使得DMP1的主要功能片段C-DMP1可以从细胞核转运至胞外基质,继续行使其促进羟基磷灰石形成的功能。因此存在一种假说,认为在矿化发生后DMP1需要从核内转移到胞外。Narayanan等^[12]通过 Ga^{2+} 诱导MC3T3-E1的研究发现,细胞质中的 Ga^{2+} 流入细胞核内,通过激活酪蛋白激酶II的核内异构体使得DMP1磷酸化。磷酸化了的DMP1(尤其C端片段)会转移至胞外基质中,进而行使促进HA晶核形成与生长的功能(Fig.1)。

4.3 DMP1在体内调节骨形成

骨由胚胎时期的间充质分化而来,其发生方式主要分为膜内成骨和软骨内成骨两种。不同的生长发育阶段,在不同的骨器官内骨形成的方式各不相同。许多研究表明,DMP1在这两种成骨发生过程中均具有重要调节作用。

软骨内成骨主要发生于四肢骨等长骨器官中等。Sugars等^[23]从15d与19d胚胎小鼠的长骨组织中分别提取总RNA,并作了微阵列基因表达谱。采用生物信息学软件分析,发现后者与前者相比DMP1在骨组织中的表达量上调64.6倍。该表达差异明显大于OCN(7.8倍),仅次于BSP(312.1倍)、OCN(190.2倍),提示DMP1在胚胎发育期软骨内成骨的某一阶段发挥重要的调节作用。Dittmer等^[24]对患有遗传性佝偻病的Corriedale绵羊进行全基因组分析,发现DMP1基因253T/C的无义突变使得翻译提前终止,导致蛋白缺失C-端片段。进一步的基因型分析发现,所有受累绵羊的基因型均为“TT”,而表型正常的绵羊基因型则为“CT”或“CC”。该研究结果表明,DMP1基因突变能够引起绵羊长骨器官中的软骨内成骨异常,是绵羊遗传性佝偻症的主要致病基因。

在膜内成骨过程中,DMP1调节骨形成的机制比较复杂,可以分成胚胎发育期与产后发育期两个阶段。在胚胎发育期DMP1主要集中在成骨细胞中。Feng等^[25]发现,敲除DMP1基因的新生鼠并没有像体外实验所预期的那样出现骨骼发育异常或矿化程

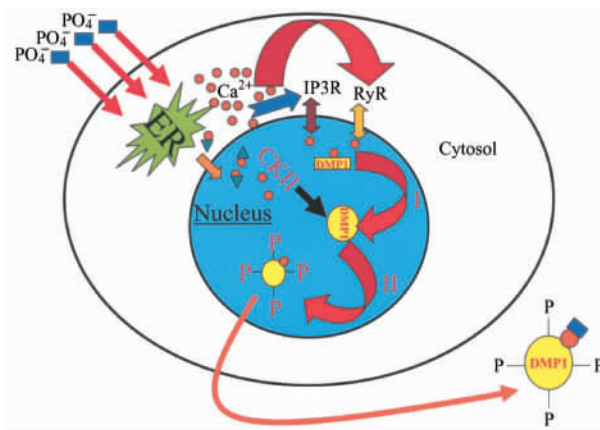


Fig.1 A hypothetical model of the export of DMP1 from the nucleus to the extracellular matrix

The export of DMP1 from the nucleus to the extracellular matrix in a differentiating osteoblast is illustrated. In polarized osteoblasts, the nucleocytoplasmic transport of DMP1 is mediated by calcium ions. The phosphates present at the time of calcified tissue formation can trigger the intracellular calcium stores to release calcium. The released calcium gets transported to the nucleus either by an unknown carrier protein or through the IP3/ryanodine receptors on the nuclear membrane. In the nucleus, calcium binds to DMP1, which undergoes structural modification (I). Casein kinase II then phosphorylates DMP1, leading to a conformational change that exposes the NES sequence (II). This triggers the export of the DMP1- Ga^{2+} complex to the extracellular matrix where the phosphorylated, highly anionic DMP1 initiates the nucleation of hydroxyapatite formation^[12]

度减弱等相关症状,他们推测在小鼠发育早期成骨细胞中有其他基因补偿了DMP1基因的功能;产后发育过程中,DMP1主要分布于骨细胞中,调控作用也更加显著。DMP1基因敲除狗在出生后1周左右骨骼发育开始出现异常,有典型的佝偻病与骨软化症,症状随年龄增加而变的明显^[13,14,26]。这些功能缺陷与DMP1在骨细胞中的功能密切相关。原位杂交与免疫印记实验也显示,DMP1在骨细胞中的表达量比其它细胞要多。由此看来,DMP1主要通过骨细胞来参与骨形成的调控作用,但该观点似乎与人们普遍认为成骨细胞是主要矿化细胞相矛盾。

在小鼠和人中,DMP1基因缺陷或基因突变会导致常染色体隐性低磷血症并表现出相似的骨骼缺陷。这表明DMP1在体内对骨生成具有关键的调节作用。

4.4 DMP1 的水解过程

全长 DMP1 几乎无生物活性且组织内含量极少,水解后产生的 57 kD C-DMP1 和 37 kD N-DMP1 是 DMP1 的主要功能片段。因此,DMP1 的水解过程相当于蛋白激活过程,对该蛋白的功能起着关键性的作用。大鼠 DMP1 基因突变导致全长 DMP1 水解失败,进而导致 DMP1 在骨形成中功能丧失的研究^[27,28]也证实了这一点。

由于 hypophosphatemia (PHEX) 对 SIBLINGs 家族的其它蛋白如 MEPE (matrix extracellular phosphoglycoprotein) 的 C 端多肽有水解作用^[29],故 DMP1 的活性可能也受它的调控作用。Martin 与他的同事证明了 PHEX 可以结合到 57 kD 的 C-DMP1 上,并阻断它诱导矿化成核的活性。但是最近的研究显示,PHEX 不能水解该片段^[20]。Chaussain 等^[30]已发现,matrix metalloproteinase-2 (MMP2) 可以水解 DMP1 蛋白,且产生的多肽链具有生物活性,能促进牙髓干细胞向成牙本质细胞的分化。研究 DMP1 的水解酶及水解位点已成为目前研究 DMP1 在骨发生过程中调控机制的方向之一。

5 结论与展望

基于 DMP1 拥有大量的酸性结构域,携带负电荷,与钙离子有较强的结合能力这一结构特性,不仅使得它在体外能够促进羟基磷灰石形成,并调控细胞分化;在体内更是参与了软骨内成骨与膜内成骨这两种主要的硬组织的矿化过程^[12,13,14],对骨骼正常形成发挥重要调控作用^[7,15]。

另外,DMP1 的水解过程对其调控矿化的功能十分关键。全长 DMP1 几乎无生物活性,且组织内含量极少,水解后产生的 57 kD C-DMP1 和 37 kD N-DMP1 是 DMP1 的主要功能片段。57 kD C-DMP1 和 37 kD N-DMP1 都有促进矿化的作用。其中,高度磷酸化的 57 kD C-DMP1 主要分布于矿化基质中,比 37 kD N-DMP1 具有更强的促进 HA 形成与增长的功能,被认为是 DMP1 促进矿化的主要功能片段。而糖基化后含有一条硫酸软骨素链的 N-DMP1 (DMP1-PG) 主要分布于骨组织中未矿化区域的细胞中,如生长板软骨细胞中。它的功能是抑制 HA 形成与增长,保护这些组织免遭矿化。

DMP1 基因缺陷小鼠及基因突变的人会患有常染色体隐性低血磷性佝偻症,并表现出相似的骨骼缺陷。DMP1 在骨形成中发挥的作用也逐渐得到重视。DMP1 水解过程对骨形成影响方面的研究也初

步展开。目前对 DMP1 在骨发生过程中的作用这方面的研究主要集中在以下几个方面:

(a) 在软骨内成骨及膜内成骨的不同阶段 DMP1 的主要功能,及主要功能片段。

(b) DMP1 影响成骨细胞分化的机制。

(c) DMP1 的水解过程,包括影响 DMP1 水解的位点突变及作用于 DMP1 的水解酶。

(d) 在不同生长阶段,DMP1 的各个水解片段包括 57 kD C-DMP1、37 kD N-DMP1 及 DMP1-PG 对骨生成的调节作用。

参考文献(References)

- [1] Kim JW, Yamakoshi Y, Iwata T, *et al.* Porcine dentin matrix protein 1: gene structure, cDNA sequence, and expression in teeth[J]. *Eur J Oral Sci*, 2006, **11**(4): 33-41
- [2] MacDougall M, Gu TT, Luan X, *et al.* Identification of a novel isoform of mouse dentin matrix protein 1: spatial expression in mineralized tissues[J]. *J Bone Miner Res*, 1998, **13**(3): 422-431
- [3] Lu Y, Zhang S, Xie Y, *et al.* Differential regulation of dentin matrix protein1 expression during odontogenesis[J]. *Cell Tissues Organs* 2005, **181**[3-4]: 241-247
- [4] Qin C, D'Souza R, Feng JQ, *et al.* Dentin matrix protein 1 (DMP1): new and important roles for biomineralization and phosphate homeostasis[J]. *J Dent Res*, 2007, **86**(12): 1134-1141
- [5] Huang B, Maciejewska I, Sun Y, *et al.* Identification of full-length dentin matrix protein 1 in dentin and bone[J]. *Calcif Tissue Int* 2008, **82**(5): 401-410
- [6] Zhang B, Sun Y, Chen L, *et al.* Expression and distribution of SIBLING proteins in the predentin/dentin and mandible of hyp mice[J]. *Oral Dis* 2010, **16**(5): 453 - 464
- [7] Gericke A, Qin C, Sun Y, *et al.* Different forms of DMP1 play distinct roles in mineralization[J]. *J Dent Res*, 2010, **89**(4): 355-359
- [8] 刘欣宇. 牙本质基质蛋白 1 在组织中的表达及其对牙本质形成调控作用的研究进展[J]. 牙体牙髓牙周病学杂志 (Liu X Y. Expression and effect of dentin matrix protein 1 (DMP1) in tissues 2009, **19**(4): 235
- [9] Sun Y, Gandhi V, Prasad M, *et al.* Distribution of Small integrin-binding ligand, N-linked glycoproteins (SIBLING) in the condylar cartilage of rat mandible[J]. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2010, **39**(3): 272-281
- [10] Sun Y, Ma S, Zhou J, *et al.* Distribution of Small integrin-binding ligand, N-linked glycoproteins (SIBLING) in the articular cartilage of the rat femoral head[J]. *J Histochem Cytochem*, 2010, **58**(11): 1033-1043
- [11] Maciejewska L, Qin D, Huang B, *et al.* Distinct compartmentalization of dentin matrix protein 1 fragments in mineralized tissues and cells[J]. *Cell Tissues Organs* 2009, **189**

- (1-4): 186-191
- [12] Narayanan K , Ramachandran A , Hao J , *et al.* . Dual Functional Roles of Dentin Matrix Protein 1 [J]. J Biol Chem ,2003 , **278** (19) : 4516-4521
- [13] Ye L , Mishina Y , Chen D , *et al.* Dmp1-deficient mice display severe defects in cartilage formation responsible for a chondrodysplasia-like phenotype [J]. J Biol Chem ,2005 , **280** (7) : 6197-6203
- [14] Ling Y , Rios HF , Myers ER , *et al.* DMP1 depletion decreases bone mineralization in vivo: an FTIR imaging analysis [J]. J Bone Miner Res ,2005 , **20** (12) : 2169-2177
- [15] Yamakoshi Y , Hu JC , Fucae M , *et al.* Porcine dentin sialoprotein is a proteoglycan with glycosaminoglycan chains containing chondroitin 6-sulfate. J Biol Chem ,2005 , **280** (2) : 1552-1560
- [16] Narayanan K , Srinivas R , Ramachandran A , *et al.* Differentiation of embryonic mesenchymal cells to odontoblast-like cells by overexpression of dentin matrix protein 1 [J]. Proc Natl Acad Sci USA ,2001 , **98** (8) : 4516-4521
- [17] Feng JQ , Zhang J , Dallas SL , *et al.* Dentin matrix protein 1 , a target molecule for Cbfa1 in bone , is a unique bone marker gene [J]. J Bone Miner Res ,2002 , **17** (10) : 1822-1831
- [18] Tsuji T , Onuma K , Yamamoto A , *et al.* Direct transformation from amorphous to crystalline calcium phosphate facilitated by motif-programmed artificial proteins [J]. Proc Natl Acad Sci USA ,2008 , **105** (44) : 16866-16870
- [19] Maciejewska I , Cowan C , Svoboda K , *et al.* The NH₂-terminal and COOH-terminal fragments of dentin matrix protein 1 (DMP1) localize differently in the compartments of dentin and growth plate of bone [J]. J Histochem Cytochem ,2009 , **57** (2) : 155-166
- [20] Lu Y , Qin C , Xie Y , *et al.* Studies of the DMP1 57-kDa functional domain both in vivo and in vitro [J]. Cell Tissues Organs ,2009 , **189** (1-4) : 175-185
- [21] Mina M , Braut A . New insight into progenitor/stem cells in dental pulp using Colla1-GFP transgenes [J]. Cell Tissues Organs ,2004 , **176** (1-3) : 120-133
- [22] 潘秋辉 , 马纪 , 于永春 , 等. 转录因子 Osterix 对成骨细胞 Colla1 基因的反式激活作用 [J]. 中国生物化学与分子生物学报 (Pan Qiu-Hui , Ma Ji , Yu Yong-Chun , *et al.* Trans-activation of Colla1 promoter by osterix during osteocyte differentiation [J]. Chin J Biochem Mol Biol) ,2007 , **23** (11) : 921-925
- [23] Sugars R V , Kärner E , Petersson U , *et al.* Transcriptome analysis of fetal metatarsal long bones by microarray , as a model for endochondral bone formation [J]. Biochim Biophys Acta , 2006 , **1763** (10) : 1031 - 1039
- [24] Dittmer K , Thompson K , Zhao X , *et al.* Finding the mutation responsible for inherited rickets in Corriedale sheep [J]. New Zealand Vet J ,2011 , **59** (3) : 153 - 154
- [25] Feng JQ , Huang H , Lu Y , *et al.* The dentin matrix protein 1 (Dmp1) is specifically expressed in mineralized , but not soft , tissues during development [J]. J Dent Res , 2003 , **82** (10) : 776-780
- [26] Feng JQ , Ward LM , Liu S , *et al.* Loss of DMP1 causes rickets and osteomalacia and identifies a role for osteocytes in mineral metabolism [J]. Nat Genet ,2006 , **38** (11) : 1310-1315
- [27] Sun Y , Prasad M , Gao T , *et al.* Failure to process dentin matrix protein 1 (DMP1) into fragments leads to its loss of function in osteogenesis [J]. J Biol Chem ,2010 , **285** (41) : 31713 - 31722
- [28] Sun Y , Lu Y , Chen L , *et al.* DMP1 processing is essential to dentin and jaw formation [J]. J Dent Res ,2011 , **90** (5) : 619-624
- [29] Addison WN , Nakano Y , Loisel T , *et al.* MEPE-ASARM peptides control extracellular matrix mineralization by binding to hydroxyapatite: an inhibition regulated by PHEX cleavage of ASARM [J]. J Bone Miner Res ,2008 , **23** (10) : 1638-1649
- [30] Chaussain C , Eapen AS , Huet E , *et al.* MMP2-cleavage of DMP1 generates a bioactive peptide promoting differentiation of dental pulp stem/progenitor cell [J]. Eur Cell Mater ,2009 , **18** : 84-95