

基础研究

DOI:10.13406/j.cnki.cyxh.002722

地塞米松和维生素 B₁₂ 干预下小鼠胚胎腭突 Shh 相关信号因子的研究

陈珏蓉¹, 陈菁菁², 刘觅³, 王世林¹, 宋庆高¹, 王芳¹, 何苇¹(1. 遵义医科大学附属口腔医院, 遵义 563000; 2. 重庆市南岸区人民医院口腔科, 重庆 400000;
3. 重庆市綦江区人民医院口腔科, 重庆 401420)

【摘要】目的:探讨地塞米松及其拮抗剂维生素 B₁₂干预妊娠关键期孕鼠后,小鼠胚胎腭突上 Shh 信号通路重要因子、细胞周期调控因子及初级纤毛解聚相关因子的调控及三者间的变化关系。**方法:**予特定孕期 C57BL/6J 孕鼠腹腔注射一定剂量的生理盐水(空白对照组)、地塞米松(地塞米松组)、维生素 B₁₂(维生素 B₁₂组)、地塞米松+维生素 B₁₂(地塞米松+维生素 B₁₂组), 观察妊娠 17.5 d 和 13.5 d 各组小鼠胚胎腭突融合情况; Western blot 检测妊娠 13.5 d 各组小鼠胚胎腭突中 Smo、Ptch1、Cyclin D1、Aurora A 的表达变化并进行统计学分析。**结果:**地塞米松延缓胚胎腭突发育而导致腭裂发生,而维生素 B₁₂干预后,可部分恢复胚胎腭突发育。Western blot 结果显示,与对照组相比, Ptch 1、Aurora A、Cyclin D1 的表达在地塞米松组中明显降低(均 $P=0.000$), Smo 无明显改变($P=0.695$); 地塞米松+维生素 B₁₂组中 Ptch 1、Aurora A、Cyclin D1 的表达与地塞米松组相比, 均不同程度上调(均 $P=0.000$), Smo 无明显改变($P=0.818$); 维生素 B₁₂组中各目的蛋白表达与对照组无统计学差异($P=0.879, 0.399, 0.645, 0.168$)。**结论:**地塞米松影响小鼠胚胎腭突 Shh 下游信号传递和初级纤毛解聚,从而抑制 Cyclin D1 表达使小鼠胚胎腭突细胞增殖降低,维生素 B₁₂可通过上调相关因子蛋白含量拮抗这一抑制效果。

【关键词】小鼠胚胎腭突; 地塞米松; 维生素 B₁₂; Shh 信号通路; 初级纤毛

【中图分类号】R782.2

【文献标志码】A

【收稿日期】2020-06-26

Study on the Shh related signal factors in mouse embryonic palatal process interfered by dexamethasone and vitamin B₁₂

Chen Juerong¹, Chen Jingjing², Liu Mi³, Wang Shilin¹, Song Qinggao¹, Wang Fang¹, He Wei¹

(1. Hospital of Stomatology, Zunyi Medical University; 2. Department of Stomatology, Nanan District People's Hospital; 3. Department of Stomatology, Qijiang People's Hospital)

【Abstract】Objective: To explore the regulation between the Shh related signal pathway cytokines, cell cycle regulator and primary cilia depolymerization factors as well as the changing relationship among them after the treatment of dexamethasone and its antagonist vitamin B₁₂ intervention in the key period of pregnancy. **Methods:** C57BL/6J pregnant mice at specific period of pregnancy were intraperitoneally injected with a certain dose of saline (control group), dexamethasone (dexamethasone group), vitamin B₁₂ (vitamin B₁₂ group), vitamin B₁₂+dexamethasone (dexamethasone + vitamin B₁₂ group), and they were observed for the fusion of embryo and palatal process in each group on 13.5 and 17.5 days of pregnancy. The expression changes of Smo, Ptch1, Cyclin D1 and Aurora A in the palatal process of mice on 13.5 days of pregnancy in each group were detected by Western blot, and analyzed statistically. **Results:** Dexamethasone retarded the development of the embryonic palatal process leading to cleft palate, while vitamin B₁₂ intervention partially restored the development of the embryonic palatal process. Western blot results showed that, compared with the control group, the expressions of Ptch 1, Aurora A and Cyclin D1 were significantly decreased in dexamethasone group (all $P=0.000$), but the expression

作者介绍: 陈珏蓉, Email: 1009273746@qq.com,

研究方向: 口腔颌面部畸形发生机制与矫治。

通信作者: 何苇, Email: heweichenhui@163.com。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(编号: 81360165); 遵义市科技计划资助项目(编号: 遵市科合 HZ 字[2019]234 号)。

优先出版: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20210105.1400.002.html>

(2021-01-16)

of Smo had no significant change ($P=0.695$). Compared with dexamethasone group, the expressions of Ptch 1, Aurora A and Cyclin D1 in dexamethasone + vitamin B₁₂ group were up-regulated in different degrees (all $P=0.000$), but the expression of Smo had no significant change ($P=0.818$). There was no significant difference in the expressions of each target protein between the vitamin B₁₂ group and the control group ($P=0.879$,

0.399, 0.645, 0.168). **Conclusion:** Dexamethasone influences Shh downstream signal transmission and primary cilia depolymerization in the embryonic palatal process of mice, thereby inhibiting the expression of Cyclin D1 and reducing the proliferation of mouse embryonic palatal process cells. Vitamin B₁₂ can antagonize the inhibitory effect by up-regulating the content of related factor proteins.

[Key words] mouse embryonic palatal process; dexamethasone; vitamin B₁₂; Shh signaling pathway; primary cilia

唇腭裂是一种常见的人类缺陷之一,是一种环境因素和遗传背景相互作用下发生的颅颌面缺陷类疾病^[1]。唇腭裂在世界范围内的发生率约为 1‰^[2]。我国是唇腭裂高发国家,发病率约为 1.143‰^[3]。

迄今为止,地塞米松(dexamethasone, DEX)致腭裂已有大量报道,维生素 B₁₂可以拮抗 DEX 对腭裂的诱导作用,同时使 Shh 信号通路的表达发生变化^[4-5]。研究表明,Shh 信号系统可通过 Cyclin D1 调节细胞增殖和细胞周期^[6];在大部分细胞中 Shh 信号依赖初级纤毛传递下游信号,引发基因转录^[7-8],而 Aurora A 可通过调节纤毛的形成和内吞影响细胞周期^[9]。本实验拟采用组织胚胎学和细胞生物学方法,研究 DEX 和(或)维生素 B₁₂ 干预下 Shh 信号通路相关因子 Smo、Ptch1、Cyclin D1 及初级纤毛活动相关因子 Aurora A 的含量变化,探讨 DEX 诱导腭裂及维生素 B₁₂ 拮抗这一效应的机制,更好地阐明腭裂发生机制和为预防先天性腭裂的发生提供一定研究基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验试剂 Aurora A 兔单克隆抗体、Cyclin D1 兔单克隆抗体、GAPDH 兔单克隆抗体、Smo 兔单克隆抗体和 Ptch1 兔单克隆抗体均(碧云天公司)(分别 1:500、1:500、1:4 000、1:1 000、1:200 稀释);辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)标记抗一兔 IgG 抗体(赛默飞公司)(1:5 000 稀释);DEX 和维生素 B₁₂(碧云天公司);ECL 发光液(Millipore 公司)。

1.1.2 实验仪器 Centrifuge 5804R 离心机(Eppendorf 公司);M205C 体式显微镜(Leica 公司);电泳仪、半干式蛋白质印迹转膜槽和发光显影仪(Bio-Rad 公司);ChemiDoc Touch 一体式化学发光成像仪(Bio-Rad 公司)。

1.1.3 实验动物及分组 9 周龄 C57BL/6J 近交系实验小鼠雌雄分笼饲养,光照和黑暗交替(各 12 h),自由摄食和饮水。交配当晚以雌雄比例 2:1 合笼,次日检查雌鼠阴道,将阴栓阳性雌鼠标记、称重后单独饲养,记为妊娠第 0 天(embryo day 0, ED0)。将 ED10 孕鼠取出再次称重,体质量增长大于

2 g 者定为妊娠阳性,用于实验;反之则定位为妊娠阴性,将其与雄鼠重新合笼。

孕鼠随机为空白对照组(5 只)、DEX 组(5 只)、维生素 B₁₂ 组(5 只)、维生素 B₁₂+DEX 组(5 只),共 20 只孕鼠。于 ED10~ED12,每天分别给予腹腔注射生理盐水(normal sodium, NS)1 mL, DEX 6 mg/kg, 维生素 B₁₂ 20 mg/kg, DEX 6 mg/kg+ 维生素 B₁₂ 20 mg/kg^[10-11]。

1.2 方法

1.2.1 腭部形态学观察 空白对照组、DEX 组和 DEX+ 维生素 B₁₂ 组各取一只孕鼠于 ED17.5 处死,并获取胚胎,取头部后剪去下颌及舌,直接置于体式显微镜下观察腭部大体形态。空白对照组、DEX 组和 DEX+ 维生素 B₁₂ 组各取一只孕鼠于 ED13.5 处死,并获取胚胎,将胚胎头部放在新鲜配置的 4% 中性多聚甲醛中固定 5 h(4℃),流水冲洗 12 h,序列乙醇脱水,常规石蜡包埋(将头部喙部朝下)。包埋好后准备用于切片,作冠状位连续切片,切片厚度 4 μm,置于 75℃ 恒温烘箱中烤片 30 min 后晾干,放入 ST5020 全自动 HE 染色,显微镜观察。

1.2.2 Western blot ED13.5, 每组 3 只孕鼠处死后在无菌条件下完整取出胎鼠,取下头部,体式显微镜分离获取小鼠腭突。将获取的胚胎腭突加入 RIPA 裂解液,低温匀浆;离心,取上清液分装。采用 BCA 方法测定各组样品蛋白浓度并调整至一致。样品蛋白加入适量 5 × SDS 上样缓冲液,沸水浴 5 min, 离心。配制 SDS-聚丙烯酰胺电泳凝胶,加入各组样品及 marker 后电泳、转膜,加入适宜浓度的一抗、二抗孵育。加入适量 ECL 发光液后显影,检测目的蛋白表达。

1.3 统计学处理

使用 SPSS19.0 软件进行统计学分析。数据以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较使用方差分析,组间两两比较采用 LSD 检验。本研究所有检验均为双侧检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结 果

2.1 小鼠胚胎腭部体式显微镜观察

ED17.5, 体式显微镜下观察对照组与 DEX 组小鼠腭突大体解剖发现,对照组腭突已接触融合,且可以看到腭皱襞形成;而 DEX 组双侧腭突未接触,形成腭裂,加用维生素 B₁₂ 后,可部分恢复胎鼠的腭裂表型(图 1)。

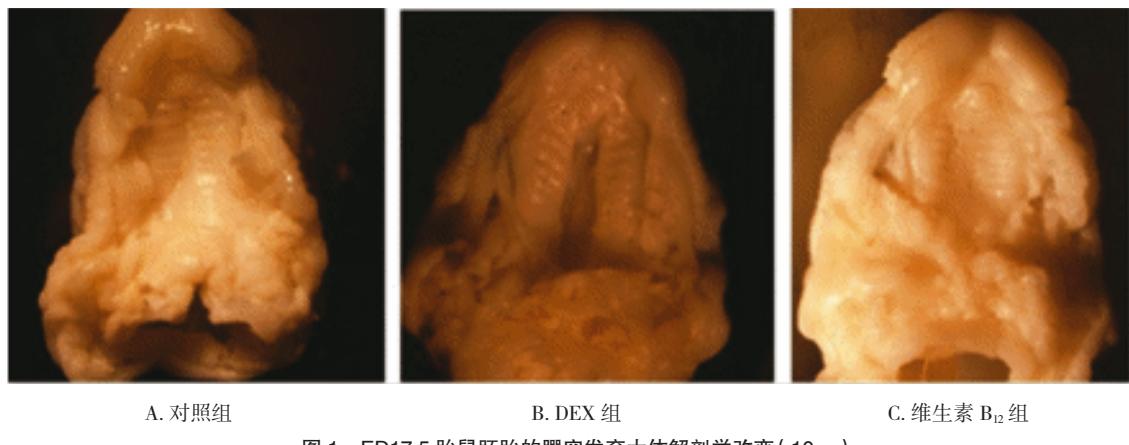


图 1 ED17.5 胎鼠胚胎的腭突发育大体解剖学改变 (10×)

2.2 孕鼠腹腔注射 DEX 后其子代在腭突发育期的形态学观察

光学显微镜下观察孕鼠腹腔注射 DEX 后其子代胚胎在腭突发育上与对照组的形态学差异。ED13.5, HE 染色下胎鼠腭前份及腭后份的冠状面连续切片结果如下: 对照组、DEX 组和 DEX+ 维生素 B₁₂ 组腭突均垂直生长, 但同对照组相比, DEX 组双侧腭突明显短小(图 2B), 维生素 B₁₂ 干预后腭突大小可恢复至与对照组腭突相似(图 2C)。

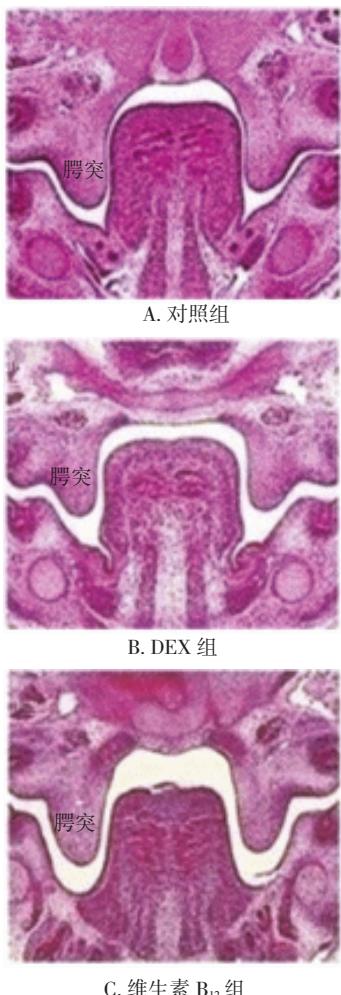


图 2 ED13.5 小鼠胚胎腭突 HE 染色结果

2.3 Western blot 结果

Western blot 检测显示, 对照组、维生素 B₁₂ 组、DEX 组和 DEX+ 维生素 B₁₂ 组的 Smo 的表达分别为 0.9045 ± 0.0102 、 0.9027 ± 0.0159 、 0.8998 ± 0.0170 、 0.9026 ± 0.0131 ; Ptch1 的表达分别为 1.3492 ± 0.0432 、 1.2956 ± 0.0361 、 1.07665 ± 0.1144 、 1.1214 ± 0.0743 ; Aurora A 的表达分别为 1.28000 ± 0.03606 、 1.26000 ± 0.05292 、 0.62330 ± 0.02517 、 1.10670 ± 0.07572 ; Cyclin D1 的表达分别为 1.1457 ± 0.0739 、 1.2102 ± 0.0425 、 0.8358 ± 0.0591 、 1.0792 ± 0.0100 。方差分析 4 组 Ptch1、Aurora A、Cyclin D1 蛋白表达水平, 差异具有统计学意义 ($F=38.155$ 、 107.400 、 29.555 , 均 $P=0.000$)。DEX 组 Ptch1、Aurora A、Cyclin D1 蛋白表达量均较正常组、维生素 B₁₂ 组明显减少(均 $P=0.000$), Smo 无明显改变($P=0.695$ 、 0.810); 维生素 B₁₂ 拮抗 DEX 后, Ptch1、Aurora A、Cyclin D1 的蛋白表达量与 DEX 组相比, 均不同程度上调(均 $P=0.000$), 但 Ptch1、Aurora A 并未完全回复至对照组中的正常水平($P=0.005$ 、 0.003), 4 组中 Smo 无明显改变($P=0.981$)。维生素 B₁₂ 组中各目的蛋白表达与对照组相比无统计学差异($P=0.879$ 、 0.399 、 0.645 、 0.168)(图 3、图 4 和表 1)。

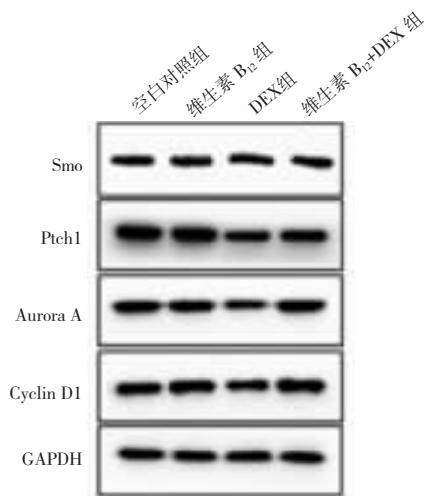
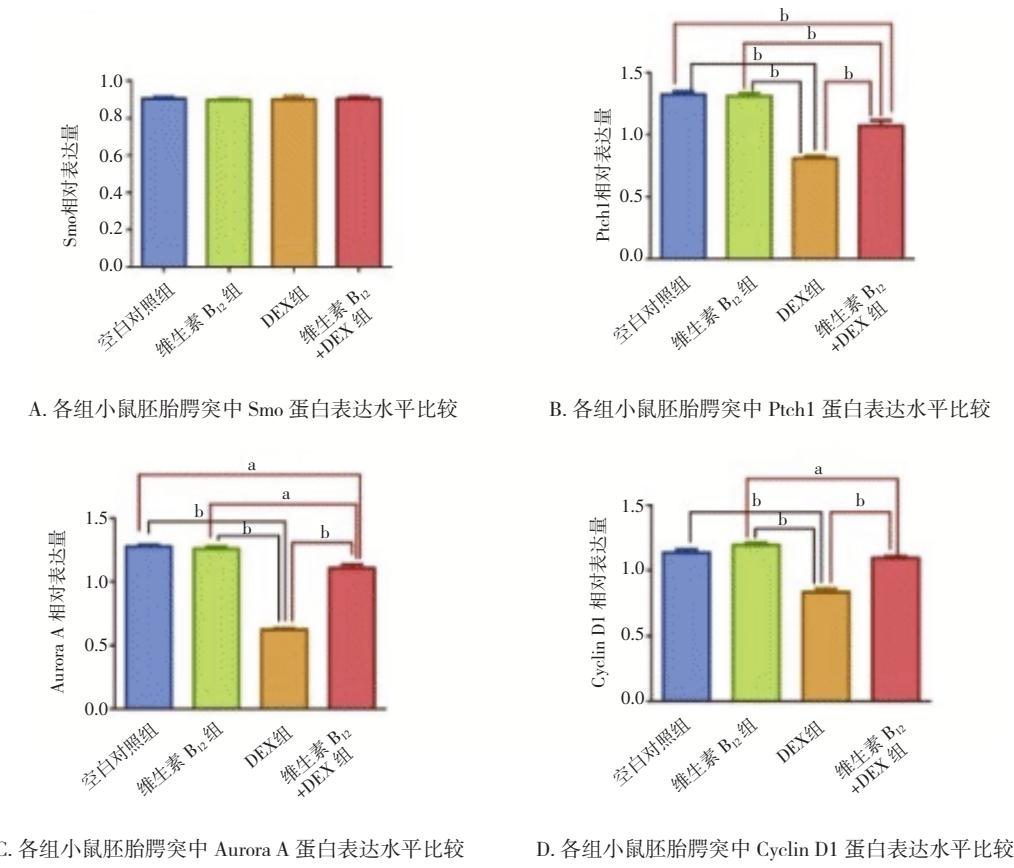


图 3 各组小鼠胚胎腭突中 Smo、Ptch1、Aurora A、Cyclin D1 蛋白表达水平



注:a:二者比较, $P < 0.05$; b:二者比较, $P < 0.01$

图 4 各组小鼠胚胎腭突中 Smo、Ptch1、Aurora A、Cyclin D1 蛋白表达水平比较

表 1 DEX 或(和)维生素 B₁₂对小鼠腭胚突中 Smo、Ptch1、Aurora A、Cyclin D1 的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	Smo	Ptch1	Aurora A	Cyclin D1
对照组	0.9045 ± 0.0102	1.3492 ± 0.0432^{cd}	1.2800 ± 0.0360^{ab}	1.1457 ± 0.0739^{kl}
维生素 B ₁₂ 组	0.9027 ± 0.0159	1.2956 ± 0.0361^{acd}	1.2600 ± 0.0529^{gh}	1.2102 ± 0.0425^{ikl}
DEX 组	0.8998 ± 0.0170	0.7665 ± 0.1144^{abkl}	0.6233 ± 0.0251^{7gh}	0.8358 ± 0.0591^{ijl}
维生素 B ₁₂ +DEX 组	0.9026 ± 0.0131	1.1214 ± 0.0743^{abc}	1.1067 ± 0.0757^{2efg}	1.0792 ± 0.0100^{ijk}
F 值	0.056	38.155	107.400	29.555
P 值	0.981	0.000	0.000	0.000

注:a:与对照组比较, $P=0.399$ 、 0.000 、 0.005 ; b:与维生素 B₁₂组比较, $P=0.000$ 、 0.020 、 0.006 、 0.015 ; c:与 DEX 组比较, 均 $P=0.000$; d:与维生素 B₁₂+DEX 组比较, $P=0.005$ 、 0.020 、 0.000 ; e:与对照组比较, $P=0.645$ 、 0.000 、 0.003 ; f:与维生素 B₁₂组比较, $P=0.000$ 、 0.006 ; g:与 DEX 组比较, 均 $P=0.000$; h:与维生素 B₁₂+DEX 组比较, $P=0.003$ 、 0.006 、 0.000 ; i:与对照组比较, $P=0.168$ 、 0.000 、 0.157 ; j:与维生素 B₁₂组比较, $P=0.000$ 、 0.015 ; k:与 DEX 组比较, 均 $P=0.000$; l:与维生素 B₁₂+DEX 组比较, $P=0.157$ 、 0.015 、 0.000

3 讨 论

非综合性唇腭裂是在遗传和环境因素二者交互作用下造成的^[10]。研究发现,糖皮质激素(glucocorticoid, GC)对胚胎的颅颌面发育具有重要作用,但过量 GC 可导致人类胚胎腭裂^[11]。动物实验中已发现,GC 中的 DEX 与其他种类 GC 相比,是一种诱

导腭裂发生的良好环境刺激因素^[12-13]。同时,有研究发现 6.0 mg/kg 地塞米松是建立 C57BL/6J 胎鼠腭裂模型的适宜剂量^[14],10 mg/kg 维生素 B₁₂是拮抗 DEX 对 C57BL/6J 胎鼠的常用剂量^[15]。为了突出维生素 B₁₂的拮抗作用,将维生素 B₁₂的剂量提升到 20 mg/kg,因此,本实验采用 DEX 6.0 mg/kg 和维生素 B₁₂ 20 mg/kg 的剂量。DEX 作用于小鼠胚胎腭突发育关键时期后,其继发腭突前部间充质细胞增殖

能力下降,而维生素 B₁₂可以拮抗这一效应,并调控 Shh 信号通路的表达也发生变化^[4,16],但具体机制尚不明确。其他细胞中 Shh 信号通路下游信号的传递依赖初级纤毛,因此小鼠胚胎腭突发育期间发挥作用的 Shh 通路信号的传递极有可能依赖初级纤毛^[17]。故本研究在研究 Shh 信号传递的同时尚对初级纤毛解聚因子进行监测。

本研究于 ED10~ED12 给予母鼠腹腔注射 DEX 后,在 ED17.5 通过体式显微镜观察其子代腭部,可看到部分胚胎发生腭裂,而给予 DEX+ 维生素 B₁₂ 后其子代腭裂表型可降低。ED13.5 的腭部 HE 染色发现与对照组相比,DEX 组中双侧腭突短小,且口鼻腔宽度变窄,可能会导致双侧腭突在后续的上抬、融合过程中空间不足,导致腭裂,而使用维生素 B₁₂ 拮抗后,小鼠腭突大小可恢复至与对照组相似,再次证明 DEX 可致腭裂,而维生素 B₁₂ 可在一定程度上拮抗 DEX 致腭裂风险。

小鼠胚胎腭突细胞增殖主要在 ED13.5~ED14.5,而且 Shh 信号最早表达于 ED12 小鼠胚胎腭突且随着胚胎天数增大表达逐渐降低,ED15.5 后不再表达于胚胎腭突^[18],故本研究取 ED13.5 小鼠胚胎进行相关因子检测。哺乳动物细胞中,在没有 Hh 时,Ptch 集中在初级纤毛,防止 Smo 在纤毛上聚集;当 Hh 信号出现时,Hh 与纤毛上的受体 Ptch 结合,移出初级纤毛,此时细胞内的 Smo 转运至纤毛并积聚,信号级联传递,促进目的基因激活表达^[8],细胞增殖;Shh 信号系统可促进 Cyclin D1 调节细胞增殖和细胞周期^[19]。Cyclin 是调控细胞周期的核心因子^[20],Cyclin D 主要参与调控 G₁ 期^[21]。其中 Cyclin D1 最为敏感^[22],可推动细胞周期由 G₁ 期进入 S 期,从而促进细胞分裂^[23]。初级纤毛除介导多种信号通路外,与细胞有丝分裂密切相关。在有丝分裂前,细胞需要纤毛生理性的正常解聚,释放基体转化为中心粒,使纺锤体完成正常的组装^[24]。研究发现衣藻蛋白激酶(chlamydomonas aurora like kinase, CALK)可抑制衣藻纤毛的解聚^[25]。Aurora A 作为 CALK 在人类细胞中的同源蛋白,也能促进 Ac α -tubulin 去乙酰化,轴丝失去稳定性,使纤毛解聚^[26],这是有丝分裂的前提。Aurora A 不仅调控纤毛解聚,还参与多种形式的细胞周期调控途径:在细胞经历 G₂/M 期转化时,Aurora A 和 Cyclin B1-CDK1 形成正反馈作用,促

进细胞有丝分裂^[27]。

本研究结果显示,DEX 组造成小鼠胚胎腭突 Ptch1 和 Aurora A 的表达下调,可能导致与 Shh 信号结合的 Ptch1 受体减少,使总体腭部组织细胞中 Shh 信号通路的表达作用变弱,抑制 Hh 通路下游靶基因 Cyclin D1 的表达,这可能导致细胞无法正常由 G₁ 期进入 S 期,细胞进入分裂期受到干扰。而细胞进入增殖期初级纤毛必须先解聚,Aurora A 的表达下调使小鼠胚胎腭突上的初级纤毛解聚延迟,并可直接影响细胞中心体的成熟分离、细胞在 G₂ 期和 M 期之间的转化、纺锤体的组装、染色体的排列等细胞有丝分裂中的重要步骤,Ptch1 和 Aurora A 的表达下调共同对胎鼠腭部细胞增殖造成负面影响。拮抗 DEX 后能使 Ptch1、Cyclin D1 和 Aurora A 表达明显上调,但并不能使 Ptch1 和 Aurora A 回复至正常水准,而 Cyclin D1 表达可上调回复至正常水平。其作用原理可能是维生素 B₁₂ 部分上调被 DEX 抑制的 Ptch1,从而使 Cyclin D1 表达上升,细胞从 G₁ 期进入 S 期,维生素 B₁₂ 拮抗后 Aurora A 表达也部分恢复,进入 S 期的细胞则可顺利进入 G₂ 期和 M 期,细胞增殖。虽然维生素 B₁₂ 拮抗后 Ptch1 和 Aurora A 表达并不能回复到正常水平,但维生素 B₁₂ 作用后 Cyclin D1 表达可上调回复至正常水平,说明维生素 B₁₂ 除可作用于 Shh 信号通路外,尚可激活其他 Cyclin D1 转录因子。几个方面的叠加作用可使小鼠胚胎腭突发育恢复正常。

本研究结果中各组 Smo 表达量无明显变化,推测 DEX 不影响小鼠胚胎腭突间充质细胞中 Smo 的表达量。正常情况下,Ptch1 抑制 Smo 在纤毛上的聚集。当 Ptch1 表达减少后,可能对 Smo 的抑制作用减少,Smo 在初级纤毛上聚集,初级纤毛上 Smo 含量增加,但本研究所用蛋白为细胞总蛋白,不能反映 Smo 在细胞内位置的变化,DEX 是否通过影响其位置变化而影响下游基因的表达尚需进一步研究。

本次实验证明,DEX 抑制小鼠胚突腭突细胞增殖可能是通过抑制小鼠胚胎腭突中 Shh 信号通路和 Aurora A 表达完成,维生素 B₁₂ 可通过上调相关因子蛋白含量拮抗这一抑制效果。但 DEX 和维生素 B₁₂ 作用后,小鼠胚胎腭突细胞中 Ptch1 如何调控 Cyclin D1,以及 Aurora A 如何调节细胞增殖尚需进一步研究。

参 考 文 献

- [1] Deshpande AS, Goudy SL. Cellular and molecular mechanisms of cleft palate development[J]. *Laryngoscope Investig Otolaryngol*, 2019, 4(1): 160–164.
- [2] Watkins SE, Meyer RE, Strauss RP, et al. Classification, epidemiology, and genetics of orofacial clefts[J]. *Clin Plast Surg*, 2014, 41(2): 149–163.
- [3] 中华人民共和国卫生部. 中国出生缺陷防治报告(2012)[R]. 北京, 2012.
- [4] He W, Meng T, Wu M, et al. Perturbation of Fgf10 signal pathway in mouse embryonic palate by dexamethasone and vitamin B₁₂ *in vivo* [J]. *J Pediatr Surg*, 2010, 45(10): 2030–2035.
- [5] Zhao SF, Chai MZ, Wu M, et al. Effect of vitamin B₁₂ on cleft palate induced by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin and dexamethasone in mice[J]. *J Zhejiang Univ Sci B*, 2014, 15(3): 289–294.
- [6] Lin ZX, Sheng HS, You CG, et al. Inhibition of the Cyclin D1 promoter in response to sonic hedgehog signaling pathway transduction is mediated by Gli1[J]. *Exp Ther Med*, 2017, 13(1): 307–314.
- [7] Pedersen LB, Mogensen JB, Christensen ST. Endocytic control of cellular signaling at the primary *Cilium*[J]. *Trends Biochem Sci*, 2016, 41(9): 784–797.
- [8] Anvarian Z, Mykytyn K, Mukhopadhyay S, et al. Cellular signalling by primary cilia in development, organ function and disease[J]. *Nat Rev Nephrol*, 2019, 15(4): 199–219.
- [9] Inaba H, Goto H, Kasahara K, et al. Ndel1 suppresses ciliogenesis in proliferating cells by regulating the trichoplein–Aurora A pathway[J]. *J Cell Biol*, 2016, 212(4): 409–423.
- [10] Mangold E, Böhmer A, Ishorst N, et al. Sequencing the GRHL3 coding region reveals rare truncating mutations and a common susceptibility variant for nonsyndromic cleft palate[J]. *Am J Hum Genet*, 2016, 98(4): 755–762.
- [11] Lan SJ, Yang XG, Chen Z, et al. Role of GATA-6 and bone morphogenetic protein-2 in dexamethasone-induced cleft palate formation in institute of cancer research mice[J]. *J Craniofac Surg*, 2016, 27(6): 1600–1605.
- [12] Li M, Bing S, Qian Z. Influence of dexamethasone on the cell polarity and PAR complex of the embryonic epithelial cells in the palate [J]. *West China J Stomatol*, 2018, 36(1): 9–16.
- [13] Ma L, Shi B, Zheng Q. Cell polarity and PAR complex likely to be involved in dexamethasone-induced cleft palate[J]. *J Craniofac Surg*, 2018, 29(2): 260–263.
- [14] 何 菁, 卢胜军, 李承浩, 等. 不同剂量地塞米松对小鼠胚胎腭裂发生的影响[J]. 国际口腔医学杂志, 2009, 36(3): 270–272.
- [15] 何 菁, 李承浩, 卢胜军, 等. 地塞米松和维生素 B₁₂ 交互作用对小鼠腭胚突超微结构影响的观察[J]. 口腔医学研究, 2009, 25(1): 8–11.
- [16] 胡 晓, 李叶扬, 黄 峻, 等. 地塞米松通过 Wnt/β-catenin 信号通路诱导腭裂的实验研究[J]. 中华口腔医学研究杂志(电子版), 2016, 10(2): 86–91.
- [17] Bangs F, Anderson KV. Primary *Cilia* and mammalian hedgehog signaling[J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2017, 9(5): a028175.
- [18] Welsh IC, O'Brien TP. Signaling integration in the rugae growth zone directs sequential SHH signaling center formation during the rostral outgrowth of the palate[J]. *Dev Biol*, 2009, 336(1): 53–67.
- [19] 王世林. 小鼠 EPM 纤毛 IFT88 与 Shh 信号表达及纤毛解体关系的研究[D]. 遵义: 遵义医科大学, 2019.
- [20] Evans T, Rosenthal ET, Youngblom J, et al. Cyclin; a protein specified by maternal mRNA in sea urchin eggs that is destroyed at each cleavage division[J]. *Cell*, 1983, 33(2): 389–396.
- [21] Qie S, Diehl JA. Cyclin D1, cancer progression, and opportunities in cancer treatment[J]. *J Mol Med (Berl)*, 2016, 94(12): 1313–1326.
- [22] Wu Y, Tang WW, Cao YH, et al. A cyclin D1-specific single-chain variable fragment antibody that inhibits HepG2 cell growth and proliferation[J]. *Biotechnol J*, 2020, 15(8): e1900430.
- [23] Fink DM, Sun MR, Heyne GW, et al. Coordinated d-cyclin/Foxd1 activation drives mitogenic activity of the Sonic Hedgehog signaling pathway[J]. *Cell Signal*, 2018, 44: 1–9.
- [24] Malicki JJ, Johnson CA. The *Cilium*; cellular antenna and central processing unit[J]. *Trends Cell Biol*, 2017, 27(2): 126–140.
- [25] 曹木青. 衣藻纤毛长度调控机制的研究[D]. 北京: 清华大学, 2013.
- [26] DeVaul N, Koloustroubis K, Wang R, et al. A novel interaction between kinase activities in regulation of *Cilia* formation[J]. *BMC Cell Biol*, 2017, 18(1): 33.
- [27] Magnaghi-Jaulin L, Eot-Houllier G, Gallaud E, et al. Aurora A protein kinase: to the centrosome and beyond[J]. *Biomolecules*, 2019, 9(1): 28.

(责任编辑:唐秋姗)