

文章编号 :1001- 4721(2009)01- 0074- 05

Cbfa 1 基因结构与功能分析

孙红梅 李春义 杨福合 赵海平 鲁小平 褚文辉

(中国农业科学院特产研究所,吉林 吉林 132109)

摘要 核结合因子 $\alpha 1$ (cbfa1)是 runt 结构域基因家族的重要成员之一,编码一个成骨细胞特异性转录因子,调控成骨细胞发育、分化和骨的形成。cbfa1 基因含 8 个外显子,但它的多个外显子存在选择性剪接,产生多样 cbfa1 的异构体,具有不同的转录激活潜能。多条信号传导通路参与到 cbfa1 的活性或表达的调控。本文主要从 cbfa1 基因的结构、功能、表达调控以及基因功能的影响因子等方面进行了综述。

关键词 核结合因子 $\alpha 1$ (cbfa1) 表达调控 信号传导通路 成骨细胞分化

中图分类号 Q78

文献标识码 A

Review of the Structure and Function of the Cbfa1 Gene

SUN Hong- mei,LI Chun- yi,YANG Fu- he,ZHAO Hai- ping,
LU Xiao- ping,CHU Wen- hui

(Insitute of Special Wild Economic Animal and Plant Science, CAAS, Jilin 132109, China)

Abstract: cbfa1 is one of the major members of runt gene family and encodes a special transcription factor of osteoblasts. It regulates the development differentiation and the formation of bone. The gene of cbfa1 contains 8 exons, the selectively splicing of these exons generated the diversity of cbfa1 gene isoforms. So it has diverse potency of transcriptional activation. Many pathways of signal transduction take part in the regulation of the activation and expressing of cbfa1. In this review, the structure of cbfa1, the biological function, and the gene expression were discussed.

Key words Core binding factor $\alpha 1$ (cbfa1) ;Expressing regulation ;Pathway of signal transduction ;Osteoblasts differentiation

cbfa1 一经发现,引起了世界性的震惊,由于这一个基因的缺失,竟破坏了小鼠胚胎过程中的整个的骨的形成。因此,许多科学家对其结构、功能、表达调控等方面进行了深入的研究。

1 cbfa 1 基因的结构特征

cbfa1 是 cbfa 家族成员之一,又称为 Pebp2 α A 或 aml3,最近被重新命名为 runx2。cbfa1 属于 runt 结构域基因家族,在哺乳动物中氨基酸序列高度保守。因为 cbfa1 蛋白 runt:结构域具有 DNA 结合特性,故 cbfa 实

为一族特异性转录激活因子。研究表明,cbfa1 转录因子有 2 种主要蛋白质异构体,即 cbfa1/p56 (I 型) 和 cbfa1/p57 (II 型)。它们区别仅在于氨基端的氨基酸序列结构,系由于 cbfa1 mRNA 选择性剪接和翻译的结果。cbfa1/p56 的 cDNA 全长为 1 542bp,编码 514 个氨基酸,以“MRIPV”开头,而 cbfa1/p57 的 cDNA 全长为 1 584bp,编码 528 个氨基酸,以“MASNSLFSAVTPC-QQSFFW”开头,其余氨基酸序列完全与 cbfa1/p56 相同,而推测以“MLHSPH”开头的 Osf2/cbfa1 蛋白质异构

收稿日期 2008- 08- 21

基金项目 国家科技基础条件平台建设项目 (20061002)

作者简介 孙红梅(1978-),女,吉林省榆树市人,在读博士,主要从事特种经济动物遗传育种的研究。

体很少表达或含量极低,其作用可以忽略。

cbfa1 基因含 8 个外显子,外显子 1 分为 1a 和 1b,分别编码 2 种主要蛋白质异构体的 5' 端非翻译区和 5' 端氨基酸序列。外显子 2-8 编码的多肽链由 4 类功能区组成,其中,转录激活区(activation domain,AD)分为氨基端区域(AD1)、谷氨酰胺及丙氨酸(QA)富含区域(AD2)和氨基端的一半脯氨酸、丝氨酸、苏氨酸(PST)富含区域(AD3);DNA 结合区即 runt 结构域所在处,与靶基因启动子的同源 DNA 结合序列为 puAccPu,核定位信号(nuclear localization signal NLS)位于 runt 区域和 PST 区域分界处的 9 个氨基酸序列(RRHRQKLD);转录抑制区(repression domain, RD)由轻基端的一半 PST 区域和尾部“VWRPY”基序组成。

2 cbfa1 基因的功能

2.1 cbfa1 是成骨细胞分化和功能的关键因子

在鼠中剔除 cbfa1 基因可导致成骨细胞分化完全受抑制,使骨骼的软骨内骨化成骨和膜内骨化成骨均不能发生^[1]。cbfa1^{-/-} 的头盖骨体外培养细胞已经完全丧失了向成骨细胞分化的能力,反而具有了向脂肪细胞或软骨细胞分化的潜能^[2]。尽管 cbfa1^{-/-} 鼠的软骨细胞分化和软骨形成正常,但是软骨细胞成熟,即肥大化,仍然受到严重影响,所以 cbfa1^{-/-} 鼠的骨骼是软骨构成的,整个软骨骨骼很难见到血管侵入,破骨细胞数量也急剧减少^[1]。由此可见,cbfa1 不仅控制成骨细胞分化和骨形成,而且还影响软骨细胞、破骨细胞分化和血管侵入。cbfa1 不仅对骨骼形成起关键作用,对骨骼生长同样至关重要。在骨钙蛋白基因启动子所指导的转基因鼠中,过量表达的 DN-cbfa1 (dominant negative cbfa1) 抑制内源 cbfa1 的功能,使本来已经分化的成骨细胞不能合成和分泌骨基质,造成骨骼发育不良。但值得注意的是,成骨细胞数量并不受影响^[3]。由于成骨细胞分化或功能受抑制,许多重要骨基质蛋白基因无法表达,说明这些骨基质蛋白基因是 cbfa1 的靶基因^[1,3]。cbfa1 诱导或促进这些骨基质蛋白基因的表达,从而启动未分化的间质细胞或使已分化的其他类型细胞向成骨细胞方向分化^[4,5]。

2.2 cbfa1 促进体内成骨细胞早期分化

转基因鼠研究结果表明,在型胶原启动子指导下的成骨细胞内 cbfa1 持续过表达不能促进骨发育,恰恰相反,cbfa1 转基因导致严重骨发育不良并使之表现出多处骨折^[6]。转基因小鼠骨发育不良主要是由于外源 cbfa1 抑制了成骨细胞成熟,因为在转基因鼠骨骼内,表达骨钙蛋白(成骨细胞分化最晚期的标记基因)的成骨细胞和由成骨细胞进一步转化而来的骨细胞急剧减

少,而表达骨桥蛋白(成骨细胞分化早期的标记基因)的成骨细胞明显上升。这使得骨基质的合成降低、骨吸收增强,并最终使骨量和骨钙化程度降低。值得注意的是,转基因小鼠骨骼内的成骨细胞数量无论是在出生时还是在出生后发育阶段都明显高于对照,表明过表达 cbfa1 能够促进成骨细胞早期分化,并通过抑制成骨细胞成熟导致早期的、不成熟的成骨细胞数量增加^[6]。因此,认为成骨细胞晚期分化不需要 cbfa1,cbfa1 只对成骨细胞早期分化起决定作用。

2.3 cbfa1 促进软骨细胞肥大

原位杂交实验显示,cbfa1 在软骨细胞,特别是在肥大化软骨细胞中表达^[7]。cbfa1 的缺失使软骨细胞肥大化受到严重抑制^[10]。在体外培养的软骨细胞中,过量表达 cbfa1 促进软骨细胞肥大化^[8]。这些结果说明 cbfa1 与软骨细胞肥大化有关。两项独立的转基因鼠实验进一步证明这种观点。在体内,在 type collagen 启动子和增强子的指导下,cbfa1 在软骨细胞内过表达明显地促进软骨细胞肥大化^[9,10],并能够在一定程度上使 cbfa1^{-/-} 软骨细胞肥大化和凋亡,使血管侵入软骨^[9]。而在软骨细胞内过量表达 DN-cbfa1,由于抑制内源 cbfa1 的功能,会使软骨细胞成熟受到抑制,使软骨表现永久软骨特性^[10]。

2.4 cbfa1 与破骨细胞分化和血管侵入有关

破骨细胞分化离不开成骨细胞。由于没有成骨细胞,cbfa1^{-/-} 鼠的骨骼中破骨细胞数极少^[1],而且 cbfa1^{-/-} 头盖骨培养细胞不能有效促进破骨细胞分化^[11]。破骨细胞分化可能与早期的或不成熟的成骨细胞相关,因为过表达 cbfa1 的成骨细胞是不成熟的,转基因老鼠的皮质骨上分布许多的破骨细胞^[12],但在成熟成骨细胞被剔除的鼠体内,破骨细胞分化和骨吸收丝毫不受影响^[13]。成骨细胞表达的 RANKL/OPG 是破骨细胞分化的关键因子,在正常鼠骨骼中表达很高,在 cbfa1^{-/-} 鼠中表达很低。VD3 促进正常鼠头盖骨培养细胞的 RANKL 表达水平,却无法促进 cbfa1^{-/-} 头盖骨培养细胞的 RANKL 表达水平^[11]。OPG 是由成骨细胞分泌的破骨细胞分化和功能的抑制因子,其在体外培养细胞中的表达也同 cbfa1 密切正相关^[14]。这些结果初步说明 cbfa1 与破骨细胞形成有关。另有实验证据表明,cbfa1 还可能与血管侵入软骨组织有关。在体外培养的内皮细胞 MSS31 和在体内血管生成位点的内皮细胞中,有 cbfa1 的表达^[15]。cbfa1 过表达能在体外促进成纤维细胞的血管内皮细胞生长因子的表达水平,而 VEGF 是调控血管生成的关键因子^[16]。在正常软骨内,随软骨细胞肥大化,VEGF 表达量上升。而 cbfa1^{-/-} 或 DN-cbfa1 软骨

没有血管侵入, VEGF 表达没有类似变化。在体内 μ cbfa1-/- 软骨细胞内过表达 cbfa1 可通过使 cbfa1-/- 软骨细胞肥大化, 使血管侵入软骨, 与此同时, 也使 VEGF 明显表达出来^[19,16]。最新的研究结果表明, 充分的软骨血管侵入离不开 cbfa1^[17]。

3 cbfa1 基因的表达调控

3.1 cbfa1 基因启动子

据推测, CBFA1/cbfa1 基因至少存在 2 个启动子区域 P1 和 P2, P1 驱动 cbfa1/p57 的表达, 而 P2 驱动 Cbfa1/p56 的表达。Fujiwara 和 Drissi 等^[26]克隆出小鼠、大鼠及人的 CBFA1/Cbfa1 基因 P1 启动子区域, 序列分析揭示在 p1 启动子区域存在 2 个高度保守的调节区域 (nt-113~-1 和 nt-458~-304), 其间由一嘌呤富含区相连, 在 CBFA1/cbfa1 基因 P1 启动子区域缺乏典型的 TATA 盒或 CCAAT 盒, 具有多个转录起始点, 在主要转录起始点上游 1kb 以内含有多个转录因子结合区, 如 Ap-1、cdx、oct-1、GATA-1、cbfa1 等, 参与 CBFA1/cbfa1 基因的转录调节。该启动子功能分析表明, 在成骨细胞株 UMR-106 和 ROS17/2.8 中 Cbfa1 启动子区域(1.8kb) 的活性最高, 与之相比在多潜能间充质干细胞 C3H10T1/2 和未分化成骨细胞株 MC3T3-E1 中, 启动子区域的活性约下降一半, 而在非成骨细胞株 COS-1 和 HepG2 中其活性不到成骨细胞株的 1/4, 这与它们细胞自身的 mRNA 表达水平相一致, 表现出 cbfa1 启动子活性的组织细胞特异性调节。序列缺失分析揭示启动子起始 0.6kb 序列足以维持小鼠和大鼠 CBFA1/Cbfa1 基因的转录, 进一步启动子缺失分析表明在 m-351-92 之间存在多个顺式调节区域, 该区域缺失可导致启动子活性累进性下降达到 100 倍。此外, 5' 端非翻译区表现为抑制启动子报道基因转录活性 2~3 倍。

3.2 cbfa1 RNA 的剪接

从基因组结构而言, cbfa1 只存在一个基因组基因。但在成骨细胞中由于存在 cbfa1 外显子的选择性剪接, 使得 cbfa1 的 mRNA 呈现多态性。Xiao 等^[19]首次报道 cbfa1/p57 在 5' 端外显子 1 可能存在 3 种异构体: cbfa1/p57d1、Cbfa1/p57d2 和 Cbfa1/p57u; 同时, 还发现外显子 2 和 5 是选择性拼接高发区。Geoffroy 等^[29]也发现 CBFA1/p57mRNA 在外显子 7 存在选择性拼接, 并且影响到 CBFA1/p57 转录因子的活性。与此相仿, Ogawa 等^[27]从 Ha-ras 转化的 NIH3T3 细胞中分离出 2 种转录活性不同的 cbfa1/P56mRNA 的异构体 α 1 (513 个氨基酸) 和 α 2 (306 个氨基酸)。至于 cbfa1/p56 是否存在于成骨细胞仍还有疑虑, 有关 cbfa1 基因外显子选择性剪接的分子机制及 mRNA 多态性存在的意义尚不清楚, 可

能是 cbfa1 基因转录后调节的重要机制之一。

3.3 cbfa1 的信号传导通路

Ras/Raf/MEK/MAPK 通路 Ras/Raf/MEK/MAPK 通路不但在细胞增殖中起着重要作用, 还与细胞分化的调控及转录因子的激活密切相关。Ogawa 等^[27]最先报道 Ha-ras 转化的 NIH3T3 细胞 cbfa1mRNA 表达显著高于非 ras 转化的 NIH3T3 细胞, 表明 ras 基因表达参与 cbfa1 基因转录的激活作用, 而最近 Xiao 等^[19]首次证实 cbfa1 的活性直接受 MAPKs 通路的调控。研究表明, 在未分化的成骨细胞株 MC3T3-E1 中, 超表达野生型的 MEK 可显著刺激依赖于 cbfa1 的下游基因如骨钙蛋白 mRNA 的表达, 明显提高共转染 cbfa1 诱导的小鼠骨钙蛋白启动子的转录活性, 而突变型的 MEK 则表现为抑制效应^[22]; 用 MEK1/MEK2 的抑制剂则抑制稳转染小鼠骨钙蛋白启动子的转录活性; 离体实验证实活化的重组 MAPKS 可直接磷酸化经组氨酸标记的 cbfa1 融合蛋白, 而在完整的细胞中野生型的 MEK 也可明显增加 cbfa1 的磷酸化, 且 cbfa1 经基端的 PST 区域为 MEK 介导 cbfa1 磷酸化并活化该转录因子所必需的结构区域, 而突变型的 MEK 则作用相反。因此, Ras/Raf/MEK/MAPK 磷酸化通路对 cbfa1 的活性的调节在成骨细胞特异性基因表达调控中起着非常重要的作用。

cAMP 通路 甲状旁腺素 (PTH) 对成骨细胞的功能具有调节作用, 其细胞内信号传导机制主要是由 cAMP 通路所介导的。Tintut 等^[30]用 cAMP 激动剂 Forskolin 处理 MC3T3E1 成骨细胞株, 结果发现 Forskolin 刺激细胞内的 cAMP 升高并不影响 cbfa1 mRNA 的表达水平, 但却导致成骨细胞碱性磷酸酶活性降低, 钙沉积减少及受 cbfa1 调节的成骨基因下调; cbfa1 凝胶滞留法显示 cAMP 激动剂呈时间依赖性地降低 cbfa1 蛋白质水平, 若先用蛋白水解酶抑制剂预处理成骨细胞或在使用 cAMP 激动剂后加入蛋白水解酶抑制剂, 则 cbfa1 蛋白质可保持稳定或恢复到正常水平。从而证实 cAMP 激动剂诱导的 cbfa1 蛋白质降解是由于 cAMP 通路激活遍在蛋白质/蛋白酶体依赖的蛋白水解机制所介导的。由此可见甲状旁腺素 (一种 cAMP 激动剂) 对成骨细胞分化的抑制作用就是通过 cAMP 通路促进 cbfa1 蛋白质降解的调控机制而实现的。

Smads-DPC4 通路 Smads-DPC4 通路在 BMP-2 诱导多潜能间充质干细胞 C2C12 向成骨细胞分化的信号传导中起着至关重要的作用。研究表明, 若将突变型的 Smad1 和 Smads cDNA 转染至 C2C12 前体细胞可阻断 BMP-2 诱导该细胞向成骨表型分化的信号传导通

路,同样超表达突变型的 DPC4 也能阻断 BMP-2 诱导 C2C12 细胞向成骨细胞分化的调节作用。

4 影响 cbfa1 功能的因子

4.1 细胞因子对 cbfa1 表达的影响

多种细胞因子可上调或抑制 cbfa1 的表达,目前报道较多的有骨形态发生蛋白 (BMP)、转移生长因子 (TGF- β)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、成纤维细胞生长因子 2(FGF-2)等。Nishimura 等^[18]认为多能间充质细胞只有在诸如 BMP-2 等细胞因子的诱导下才会向 OB 方向分化,否则只能向成肌细胞方向分化。Xiao 等^[19]发现 BMP-2 对 cbfa1 基因的转录没有影响,cbfa1 启动子区域缺乏 BMP-2 的应答元件(responsive element),认为 BMP-2 只是以剂量依赖性的方式上调多能间充质细胞 cbfa1 mRNA 的表达,而对于 cbfa1 启动子则没有影响、BMP7 可以通过级联放大效应诱导 OB 的分化。Ducy 等^[4]发现 BMP-7 体外可以间接诱导 cbfa1 提前表达,但是具体机制还不太清楚,可能 cbfa1 参与了 BMP-7 级联放大效应。

TGF- β 是骨组织里的常在因子,体外培养发现它可抑制 OB 的分化。Alliston 等^[20]研究了 TGF- β 及其效应物 Smads 对于 cbfa1 表达和功能的影响,TGF- β 与细胞膜上的受体结合形成复合物,致使受体 C 末端丝氨酸上的 Smads 磷酸化,脱离复合物,进入细胞核内,与 cbfa1 相互作用形成 cbfa1-Smads 复合物,cbfa1 结合 OSE2 启动子特定序列的功能受到影响,而抑制了骨钙素基因的表达。

TNF- α 可以抑制全能干细胞向 OB 的分化。Gilbert 等^[21]研究了 TNF- α 对于 cbfa1 表达的影响,并证明 TNF- α 对于 cbfa1 mRNA 的表达有抑制作用,认为 TNF- α 引起 cbfa1 剂量依赖性的抑制,主要是通过干扰 mRNA 和抑制转录而影响 cbfa1 的表达,cbfa1 表达下调导致 OB 分化抑制,阻止骨形成。Xiao 等^[22]证明了 FGF-2 通过 MAPK 途径可以使 cbfa1 磷酸化并激活,以时间和剂量依赖性方式刺激 OB 前体细胞骨钙素 mRNA 和启动子活动。

4.2 激素对 cbfa1 表达的影响

多种激素可上调或抑制 cbfa1 的表达,如甲状旁腺激素、糖皮质激素地塞米松(DEX)和 1,25 (OH) $_2$ D $_3$ 等,对于 OB 生长和分化因子的表达有明显的影响,在骨的发育和组织钙化过程中起着重要的调节作用。Fujita 等^[23]认为 PTH 通过增强 cbfa1 的转录活动而触发了骨的合成代谢,诱导骨发生。他们的实验还显示,在 PTH 的作用下骨的特异性蛋白表达也增多。Prince 等^[25]证明 DEX 可以增强 cbfa1 蛋白与 DNA 的结合能力,但对于 cbfa1

mRNA 似乎没有作用,糖皮质激素对于 cbfa1 的调节可出现在 OB 分化成熟的任何时期,但 Viereck 等^[24]认为 DEX 只可以增强 cbfa1 mRNA 的表达,同时抑制骨钙素基因的表达。1,25 (OH) $_2$ D $_3$ 通过激活或者抑制大量的骨表型基因而调节 OB 的分化,基因转染技术数据显示在 1,25 (OH) $_2$ D $_3$ 作用过的 MC3 T3 和 ORS17/2.8 细胞系 cbfa1 的表达下调了,凝胶迁移率技术分析发现主要是由于在它们 cbfa1 近端启动子序列(-92to-16)有功能性 1,25 (OH) $_2$ D $_3$ 应答性元件 (VDRE) 可以结合 1,25 (OH) $_2$ D $_3$ 受体所致^[25]。而 ORS24.1 细胞系由于缺乏功能性的 1,25 (OH) $_2$ D $_3$ 受体,所以 cbfa1 的表达不受影响。Ducy 等^[28]发现 1,25 (OH) $_2$ D $_3$ 处理过的小鼠原代 OB 消除了 Osf2/cbfa1 的表达,所以他们认为 1,25 (OH) $_2$ D $_3$ 还可以通过阻碍 cbfa1 和 OSE2 的结合而抑制小鼠骨钙素的表达,阻止 OB 进一步分化成熟,进而引起发育不全骨病,1,25 (OH) $_2$ D $_3$ 对于 cbfa1 与 DNA 的结合能力似乎没有明显的影响。

5 展望

cbfa1 转录因子及其对成骨细胞定向分化的调控已广为人们认识和接受,但 cbfa1 基因表达调控及其诱导成骨细胞分化的分子机制有待进一步探索。随着该研究的深入,更多被 cbfa1 调控的基因将被发现,与 cbfa1 相互作用的辅助因子将得到鉴定。一方面,查明影响 cbfa1 基因表达的因素及传导通路将有利于人们用药物主动地调节其表达,以刺激骨的形成来治疗某些骨代谢疾病;另一方面,应用定量超表达诱导骨髓间充质干细胞定向成骨细胞系,作为补充成骨细胞来源,将可用于基因和细胞治疗骨质疏松症。因此,这一研究的开展无疑具有重要的理论和临床意义。

参 考 文 献

- [1] Komori T, Yagi H, Nomura S, et al. Targeted disruption of cbfa1 results in a complete lack of bone formation owing to maturational arrest of osteoblasts. [J] Cell, 1997, 89 (5): 755-764.
- [2] Kobayashi H, Gao Y H, Ueta C, et al. Multilineage differentiation of Cbfa12deficient calvarial cells in vitro. [J] Biochem Biophys Res Commun, 2000, 273 (2): 630-636.
- [3] Ducy P, Starbuck M, Priemel M, et al. A Cbfa12dependent genetic pathway controls bone formation beyond embryonic development. [J] Genes Dev, 1999, 13 (8): 1025-1036.
- [4] Ducy P, Zhang R, Geoffroy V, et al. Osf2/Cbfa1: a transcriptional activator of osteoblast differentiation. [J] Cell, 1997, 89 (5): 747-754.
- [5] Harada H, Tagashira S, Fujiwara M, et al. Cbfa1 isoforms

- exert functional differences in osteoblast differentiation. [J] Biol Chem, 1999, 274 (11): 6972- 6978.
- [6] Liu W, Toyosawa S, Furuichi T, et al. Overexpression of Cbfa1 in osteoblasts inhibits osteoblast maturation and causes osteopenia with multiple fractures. [J] Cell Biol, 2001, 155 (1): 157- 166.
- [7] Inada M, Yasui T, Nomura S, et al. Maturation disturbance of chondrocytes in Cbfa1 deficient mice. [J] Dev Dyn, 1999, 214 (4): 279- 290.
- [8] Enomoto H, Enomoto I, Iwamoto M, et al. Cbfa1 is a positive regulatory factor in chondrocyte maturation. [J] Biol Chem, 2000, 275 (12): 8695- 8702.
- [9] Takeda S, Bonnamy J P, Owen M J, et al. Continuous expression of Cbfa1 in nonhypertrophic chondrocytes uncovers its ability to induce hypertrophic chondrocyte differentiation and partially rescues Cbfa1 deficient mice. [J] Genes Dev, 2001, 15 (4): 467- 481.
- [10] Ueta C, Iwamoto M, Kanatani N, et al. Skeletal malformations caused by overexpression of cbfa1 or its dominant negative form in chondrocytes. [J] Cell Biol, 2001, 153 (1): 87- 99.
- [11] Yamaguchi A, Komori T, Suda T. Regulation of osteoblast differentiation mediated by bone morphogenetic proteins, hedgehogs, and Cbfa1. [J] Endocr Rev, 2000, 21 (4): 393- 411.
- [12] Nakashima K, Zhou X, Kunkel G, et al. The novel zinc finger-containing transcription factor osterix is required for osteoblast differentiation and bone formation. [J] Cell, 2002, 108 (1): 17- 29.
- [13] Corral D A, Amling M, Priemel M, et al. Dissociation between bone resorption and bone formation in osteopenic transgenic mice. [J] Proc Natl Acad Sci USA, 1998, 95 (23): 13835- 13840.
- [14] Thirunavukkarasu K, Halladay D L, Miles R R, et al. The osteoblast-specific transcription factor Cbfa1 contributes to the expression of osteoprotegerin, a potent inhibitor of osteoclast differentiation and function. [J] Biol Chem, 2000, 275 (33): 25163- 25172.
- [15] Namba K, Abe M, Saito S, et al. Indispensable role of the transcription factor PEBP2/ CBF in angiogenic activity of a murine endothelial cell MSS31. [J] Oncogene, 2000, 19 (1): 106- 114.
- [16] Zelzer E, Glotzer D J, Hartmann C, et al. Tissue specific regulation of VEGF expression during bone development requires Cbfa1/ Runx2. [J] Mech Dev, 2001, 106 (122): 97- 106.
- [17] Himeno M, Enomoto H, Liu W, et al. Impaired vascular invasion of Cbfa12 deficient cartilage engrafted in the spleen. [J] Bone Miner Res, 2002, 17 (7): 1297- 1305.
- [18] Nishimura R, Kato Y, Chen D, et al. Smad5 and DPC4 are key molecules in mediating BMP-2 induced osteoblastic differentiation of the pluripotent mesenchymal precursor cell line C2C12 [J]. Biol Chem, 1998, 273: 1872- 1879.
- [19] Xiao ZS, Liu SG, Hinson TK, et al. Characterization of the upstream mouse Cbfa1 /Runx2 promoter [J]. Journal of Cellular Biochemistry. 2001, 82: 647- 659.
- [20] Alliston T, Choy L, Ducy P, et al. TGF β 2 induced repression of CBFA1 by Smad3 decreases Cbfa1 and osteocalcin expression and inhibits its osteoblast differentiation [J]. The EMBO Journal, 2001, 20: 2254- 2272.
- [21] Gilbert L, He X, Farmer P, et al. Expression of the osteoblast differentiation factor RUNX2 (Cbfa1 /AML3 /Pebp2alpha A) is inhibited by tumor necrosis factor 2alpha [J]. Biol Chem, 2002, 277: 2695- 2701.
- [22] Xiao G, Jiang D, Gopalakrishnan R, et al. Fibroblast growth factor 2 induction of the osteocalcin gene requires MAPK activity and phosphorylation of the osteoblast transcription factor, Cbfa1/Runx2 [J]. Biol Chem, 2002, 277: 36181- 36187.
- [23] Fujita T, Fukuyama R, Izumo N, et al. Transactivation of core binding factor alpha as a basic mechanism to trigger parathyroid hormone induced osteogenesis [J]. Pn J Pharmacol, 2001, 86: 405- 416.
- [24] Viereck V, Siggelkow H, Tauber S, et al. Differential regulation of Cbfa1 /Runx2 and osteocalcin gene expression by vitamin D3, dexamethasone, and local growth factors in primary human osteoblast [J]. Cell Biochem, 2002, 86: 348- 356.
- [25] Prince M, Banerjee C, Javed A, et al. Expression and regulation of Runx2 /Cbfa1 and osteoblast phenotypic markers during the growth and differentiation of human osteoblasts [J]. Journal of Cellular Biochemistry. 2001, 80: 424- 440.
- [26] Drissi H, Pouliot A, Koolloos C, et al. 1,25(OH) 2D3 suppresses the bone related Runx2 /Cbfa1 gene promoter [J]. Exp Cell Res, 2002, 274: 323- 333.
- [27] Ogawa E, Maruyama M, Kagoshima H, et al. PEBP2 /PEA2 represents a family of transcription factors homologous to the products of the Drosophila runt gene and the human AML1 gene [J]. Proc Natl. Acad Sci. USA, 1993, 90: 6859- 6863.
- [28] Ducy P, Zhang R, Geoffroy V, et al. Osf2 /Cbfa1: A transcriptional activator of osteoblast differentiation [J]. Cell, 1997, 89: 747- 754.
- [29] Geoffroy V, Ducy P, Karsenty G L. A PEBP2 alpha /AML212 related factor increases osteocalcin promoter activity through its binding to an osteoblast-specific cis-acting element [J]. Biol Chem, 1995, 270: 30973- 30979.
- [30] Tintut Y, Parhami F, LeVet A. Inhibition of osteoblast-specific transcription factor Cbfa1 by the cAMP pathway in osteoblast cells. Ubiquitin/proteasome dependent regulation [J]. Bio Chem, 1999, 274 (41): 28875- 28879.