

文章编号:1004-0374(2005)01-0040-05

Cbfa1 / Runx2与成骨细胞分化调控

王国红,李祺福*

(厦门大学生命科学学院细胞生物学研究室 细胞生物学与肿瘤细胞工程
教育部重点实验室,厦门 361005)

摘要:成骨细胞是由间充质干细胞经骨原细胞和前成骨细胞分化而来的。近年来已鉴定转录因子 Cbfa1(core binding factor α 1)是成骨细胞分化和骨形成的关键调控因子。在成骨细胞分化的过程中,Cbfa1通过调控成骨细胞特异性细胞外基质蛋白基因的表达和成骨细胞周期参与成骨细胞的分化过程。新近发现 Cbfa1 能通过自身的 PST 序列区域与 Smads 结合形成复合物共同参与成骨细胞的分化调控。

关键词: Cbfa1 ; Smads ; 成骨细胞分化

中图分类号: Q513.2 ; Q254 **文献标识码:** A

Cbfa1/Runx2 and regulation of osteoblast differentiation

WANG Guo-Hong, LI Qi-Fu*

(Laboratory of Cell Biology, College of Life Science, Education Ministry Key Laboratory of Cell Biology
and Tumor Cell Engineering, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

Abstract: Osteoblasts differentiate originally from mesenchymal stem cells through two progressive developmental steps: osteoprogenitors and pre-osteoblasts. In recent years, Cbfa1(core binding factor α 1) has been identified as a key regulator of osteoblast differentiation and bone formation. During osteoblast differentiation, Cbfa1 is involved in this differentiation course by regulating expression of osteoblast-specific extracellular matrix proteins and osteoblastic cell cycle. It has recently been found that Cbfa1 can interact and form complexes through its PST domain with Smads to regulate osteoblast differentiation cooperatively.

Key words: Cbfa1; Smads; osteoblast differentiation

成骨细胞(osteoblast)是骨形成过程中的重要功能细胞,来源于未分化并具有多潜能的间充质干细胞。在多种因子的作用下,间充质干细胞通过复杂的分子调控机制,分化为包括成骨细胞在内的多种类型的细胞。Runx基因家族的核心结合因子Cbfa1是成骨细胞特异性转录因子,在成骨细胞分化和骨形成中起重要作用。研究已经证实Cbfa1为Smads信号途径的下游效应分子,其表达要受Smad家族蛋白

的转录调控。最近研究发现Cbfa1将Smad家族蛋白定位于核基质的特定区域,调节分化增殖相关基因的表达,两种蛋白形成的复合物能共同参与成骨细胞分化的调控^[1],本文就其研究最新进展做概括介绍。

1 Cbfa1的结构及表达

1.1 Cbfa1/Runx2的结构 Cbfa1/Runx2又称多瘤病毒增强子结合蛋白PEBP2 α A或急性骨髓性白血病因子AML3,是属于runt结构域基因家族的转录因

收稿日期:2004-04-06;修回日期:2004-05-08

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30170724)

作者简介:王国红(1977—),女,硕士研究生;李祺福(1950—),男,教授,博士生导师,*通讯作者。

子。该家族还有两个成员分别是Cbfa2/Runx1/PEBP2 α B/AML1和Cbfa3/Runx3/PEBP2 α C/AML2。它们都有一个由128个氨基酸组成的DNA结合域,该区域与果蝇分节基因runt同源,故称为runt域,该域能特异识别并结合靶基因上的PyGPyGGTPy序列(Py代表嘧啶),调控靶基因转录。Cbfa1的N端有两个转录激活域(activation domain,AD),一个是由N端的19个氨基酸组成(AD1),另一个是富含谷氨酸和丙氨酸重复的Q/A域(AD2),这两个域是Cbfa1独有的^[2]。Cbfa1的C末端因为富含脯氨酸、丝氨酸和苏氨酸,也叫PST域,该域含有一个激活域(AD3)和一个抑制域(repression domain, RD)。在runt域和PST域分界处的9个氨基酸组成核定位信号(nuclear localization signal NLS),负责Cbfa1的核输入。Cbfa1 C末端的最后5个氨基酸(VWRPY框)被证实起转录阻遏作用(图1)。

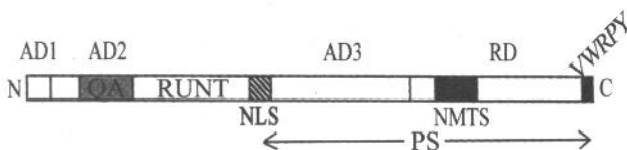


图1 Cbfa1的结构

Cbfa1能通过C末端区域与Smads蛋白、Yes相关蛋白、Groucho/TLE蛋白等相互作用形成共调节子^[3],激活或阻遏基因表达。Cbfa1可与成骨细胞特异性顺式作用元件2(osteoblast specific cis-acting element 2, OSE2)、Jun/Fra-2、AP-1/VSRE、SP、OSE1等元件结合调节基因表达。值得一提的是Cbfa1(Cbfa1也叫核基质蛋白NMP2)的C末端区域含有核基质定位信号(nuclear matrix targeting signal, NMTS)(图1),可将Cbfa1定位在核内特定区域,调控骨特异性基因转录,此信号序列与Smads相互作用的区域相互重叠,一旦此区域发生突变,成骨细胞分化不能正常进行,骨发育出现缺陷^[4]。

1.2 Cbfa1的表达及调控 Cbfa1最初表达于发育早期的间质细胞集缩处的细胞中,这些细胞是成骨细胞和软骨细胞的前体,随后只在成骨细胞系和肥大化软骨细胞中表达。Cbfa1的表达受到参与成骨细胞分化的多种生长因子和激素的调控。骨形态发生蛋白(bone morphogenetic protein BMP)是成骨细胞分化和骨形成最有效的诱导因子,可以通过Smads途径上调Cbfa1的表达。过氧化物酶体增殖因子激活

受体 γ 2(peroxisome proliferators activated receptor γ 2)和转化生长因子 β (transforming growth factor β)抑制Cbfa1表达和成骨细胞分化^[5-6]。肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor α)、1,25-(OH) $_2$ D $_3$ 、糖皮质激素(glucocorticoid)可能抑制或降低Cbfa1的表达^[7-8]。

另外,Cbfa1可通过自身启动子的负调控机制自动调控Cbfa1的表达及功能^[9]。在鼠的Cbfa1启动子区至少有三个Cbfa1识别位点,强制表达Cbfa1蛋白可以下调Cbfa1启动子活性。一个Cbfa1位点就足以抑制转录,这种自我调控严格控制Cbfa1的表达,从而调控骨相关基因的表达和成骨分化。Cbfa1通过由Smurf1(Smad ubiquitin regulatory factor 1)介导的泛素-蛋白水解酶复合途径降解^[10]。PEBP2 β /Cbfb(无DNA结合活性)可与Cbfa1/Runx2形成异源二聚体阻止Cbfa1的泛素化水解,从而稳定Cbfa1,并增强Cbfa1对DNA的结合^[11],在骨发育中起重要作用。

2 Cbfa1和Smads对成骨细胞分化的调控

多潜能的间充质干细胞在体内一旦分化为成骨细胞后,其增殖能力逐渐减弱,而后停止分裂逐渐走向分化成熟。成骨细胞分化为成熟的骨细胞一般要经过细胞增殖、细胞外基质成熟、基质矿化三个阶段。但是成骨细胞走向分化成熟过程中要协调两个事件:其一就是在分化成熟时,细胞必须首先将细胞分裂周期的进程停滞在G $_0$ /G $_1$ 期,其中细胞周期相关的调控因子、转录因子Cbfa1以及包括Smad蛋白信号途径在内的多种途径都参与调节;其二是成骨细胞分化的过程中如何保证相关的成骨细胞表型标志物有序表达,共同参与细胞外骨基质的形成,而转录调控因子Cbfa1直接参与表型标志物表达的调控。

2.1 Cbfa1和Smads对成骨细胞分化标志物的调控

成骨细胞在分化的过程中会陆续表达碱性磷酸酶、I型胶原、骨桥蛋白、骨涎蛋白、骨粘素以及骨钙蛋白等表型标志物,逐渐形成细胞外基质,一旦基质成熟,成骨细胞被包埋其中形成骨组织。碱性磷酸酶、I型胶原是成骨细胞分化早期的标志物,胶原是细胞外基质成熟和矿化结节生成所必需的成分,而且胶原的形成会加速成骨细胞表型的分化。分化晚期的标志物是骨钙蛋白,是惟一只在成骨细胞中表达的成骨细胞特异性标志物,被认为是成骨细胞分化和成熟的标志,骨钙蛋白通过其特有的谷氨酸序列选择性地与羟基磷灰石和胶原联系在一起,形成钙沉积。这几种标志物协同作用保证细

胞外基质的正常成熟。

Cbfa1是间充质干细胞向成骨细胞系分化过程中的一种骨特异性转录因子，也是成骨细胞分化和功能的中心调控因子。Cbfa1可以和骨钙蛋白启动子区的成骨细胞特异性顺式作用元件2(OSE2)相结合，刺激骨钙蛋白的表达，随后发现在型胶原、骨涎蛋白及骨桥蛋白等成骨细胞相关基因的启动子区都有OSE2样元件^[12]，Cbfa1可以和这些OSE2样元件结合激活这些基因的表达，促进成骨分化。一旦Cbfa1不正常表达，体外培养成骨细胞的成熟和骨样结构的产生会发生障碍。Cbfa1敲除小鼠成骨细胞分化完全受阻，不能成骨，Cbfa1的杂合突变导致人的锁骨颅骨发育异常(cleidocranial dysplasia, CCD)。最近研究发现，Smads蛋白作为共调节子和Cbfa1相互作用共同参与成骨细胞表型基因表达和分化。用外源的BMPs启动信号通路，激活Smads复合物调节下游基因的表达，但是Smads复合物对基因调节的特异性较低，下游基因的特异表达需要其他的组织特异性转录因子(如Cbfa1)的参与，Cbfa1能与Smads蛋白共同调节软骨成骨细胞胶原的表达^[13]。Cbfa1可以直接结合到OSE2上转录激活骨钙蛋白基因的启动子，而Smad1和Smad5自身不能结合到OSE2上，只有在Cbfa1的帮助下，才能结合到OSE2上转录激活骨钙蛋白启动子^[14]。Cbfa1提高Smads蛋白调节基因表达的特异性可能与其本身具有核基质定位信号有关，Cbfa1通过其C末端的核基质定位信号将Smads定位在核内活跃转录位点，两者形成复合物和核基质结合共同调控基因表达和细胞分化^[4](图2)。该核基质定位信号对Cbfa1在核内的精确定位及Cbfa1依赖性分化基因的表达调控是必要的，Cbfa1C末端删除纯合(Cbfa1^{C/C})小鼠因为成骨细胞成熟受阻而不能成骨^[15]。Smads和Runx2相互作用并增强Runx2对靶基因的转录激活活性^[16]。

骨形态发生蛋白是成骨细胞分化最有力的诱导者，可通过Smad途径诱导Cbfa1的表达，当外源的骨形态发生蛋白激活Smad信号途径后，受体激活Smad(R-Smad)和Smad4(C-Smad)形成异二聚体激活Cbfa1表达，然后两者定位到核中特定区域形成复合物调节成骨细胞标志物基因表达^[14, 17]。BMP2处理多潜能间充质细胞C2C12细胞，受体激活Smads诱导Cbfa1表达，Cbfa1阻止C2C12细胞的成肌分化，并和Smad5共同作用诱导C2C12细胞的成

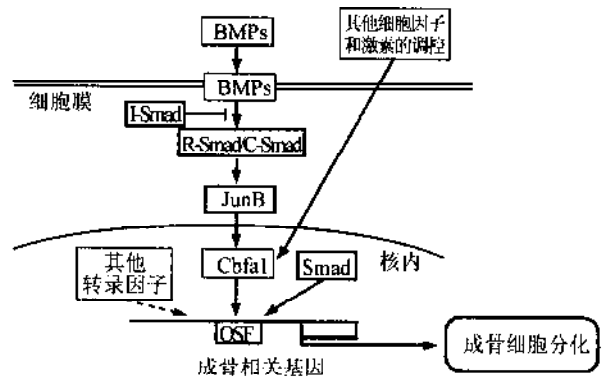


图2 Cbfa1和Smads调控成骨细胞相关基因表达的分子途径

→:实际作用; ---→:可能作用; —|:示阻遏作用; BMPRs:BMP受体; I-Smad:抑制型Smad; R-Smad/C-Smad:受体激活Smad/通用型Smad异二聚体

骨细胞特异性基因表达，促使其发生成骨分化^[18]。但是，Smads并不是直接诱导Cbfa1表达，而是通过诱导Cbfa1表达的一个上游激活子JunB间接激活Cbfa1的表达(图2)，并且Smad途径和p38MAPK途径都参与了BMP2对Cbfa1的诱导。Smad信号途径和p38MAPK信号途径在对Cbfa1基因表达调节处汇合，调控间充质细胞的成骨细胞分化^[19]。BMPs通过三种类型的Smads协同作用调节成骨细胞表型标志物的表达^[20](图2)。

虽然Cbfa1和Smads形成复合物可以促进成骨细胞表型标志物基因的表达和成骨细胞分化，但研究表明，Cbfa1和Smads蛋白形成复合物不是Cbfa1执行功能所必须的，即使Cbfa1不和Smads蛋白形成复合物，也能参与成骨细胞表型标志物的表达和成骨细胞分化。当外源的Cbfa1进入C2C12细胞中，即使不和Smad1/5形成复合物也能诱导骨钙蛋白基因启动子的转录激活，诱导成骨细胞分化，Cbfa1-Smad1/5复合物的形成被拮抗性Smad6阻断后，Cbfa1仍能发挥其生理作用，这说明与Smads蛋白的结合不是Cbfa1执行功能所必须的，但是和Smads形成复合物可以增强Cbfa1的转录激活作用，促进成骨分化。另一方面，Cbfa1基因的表达还要受到Smads的激活^[14]。

Cbfa1/Runx2除了和Smads蛋白相互作用调节其转录因子活性外，Cbfa1本身的两个保守丝氨酸(S104和S451)的磷酸化参与Cbfa1/Runx2功能的负调控，S104的磷酸化可以阻止Cbfa1和PEPB2β/Cbfb形成异二聚体，使自身代谢稳定性降低趋于降解，

而位于Cbfa1 C末端转录抑制区的S451的磷酸化则下调Cbfa1依赖性转录激活^[21]。此外,有研究发现Smads蛋白处于不同的信号途径中表现出功能调节的异质性^[6]。因此,Smads蛋白在成骨细胞分化调控中的作用还需要做进一步的研究。

2.2 Cbfa1和Smads对成骨细胞周期的调控 成骨细胞分化成熟中的一个必然步骤就是细胞周期发生阻滞,细胞从G₁期走向G₀期,此时细胞停止分裂走向分化。在这个过程中细胞周期相关因子起重要作用,这些调控因子的核心就是细胞周期蛋白依赖性激酶(CDK)及其正负调控因子——细胞周期蛋白和细胞周期蛋白依赖性激酶抑制蛋白(CKI),其本质就是对细胞周期相关的癌基因和抑癌基因的调节。Cbfa1/Runx2联合好几条细胞增殖相关信号转导途径(如Smad、Yes/Src、MAPK和Rb蛋白)参与细胞周期的调节,促进细胞分化,它极有可能是成骨细胞分裂增殖与成骨细胞分化的一个重要的调节关卡。阐明Smad、Cbfa1以及两者的复合物对细胞周期相关调控因子的调控可以加深对成骨细胞分化机理的认识,但是这方面的资料并不多。

Cbfa1存在于积极分裂的成骨细胞前体细胞中,并在细胞由增殖转向分化时表达最高,这表明:Cbfa1参与了成骨细胞增殖分化调控。Cbfa1^{-/-}和Cbfa1^{C/C}(C末端删除)突变小鼠锁骨的成骨细胞的DNA合成和G₁/S期标志物升高,表现出细胞生长速度加快,用腺病毒载体把Cbfa1基因重新导入Cbfa1^{-/-}骨细胞则恢复细胞生长的严紧控制。因此,Cbfa1调控正常成骨细胞增殖且Cbfa1的C末端对这一生物功能是必要的。Cbfa1通过使细胞退出细胞周期和激活骨细胞表型基因促进成骨细胞分化成熟^[22],也就是说Cbfa1把细胞分裂停滞和成骨细胞表型基因表达有机地统一起来。

细胞周期依赖性激酶抑制蛋白(CKIs)是细胞周期的负调控因子,可抑制细胞周期进程促进细胞分化。p21和p27是Cip/Kip家族的CKIs成员,通过抑制CDK-cyclin复合物活性调控细胞增殖。下调成骨细胞前体细胞增殖是成骨细胞分化的关键一步,在成骨细胞分化中,p21主要表达于增殖期,参与细胞增殖调控,而p27水平在细胞增殖后达到最大,表明p27在成骨细胞从增殖向分化的转变中起重要作用^[23]。而成骨细胞分化关键调控因子Cbfa1也在成骨细胞从增殖向分化的转变时表达水平达最高,提示Cbfa1调控细胞周期和成骨细胞分化可能与p27有

关。在成骨细胞中,Cbfa1能够与组蛋白去乙酰酶6相结合,并将其定位于核基质特定区域,抑制p21启动子活性从而抑制p21的表达^[24]。pRb蛋白是细胞周期G₁/S期转换的核心调节因子,在细胞分化过程中能激活分化相关基因的表达。在成骨过程中,pRb可作为共激活子和Cbfa1结合,共激活成骨细胞特异性启动子转录,促进成骨细胞分化,pRb发生突变可阻止成骨细胞分化^[25]。

在所有的CKIs中,p57^{Kip2}在胚胎发育过程中的作用是其他的CKIs无法替代的,在增殖的成骨细胞中,p57^{Kip2}的泛素降解途径是由Smads介导的,在此通路中Smad2/Smad3与Smad4形成复合物,加速p57^{Kip2}的泛素化降解的同时,促进细胞周期的进程,而Smad7(I-Smad7)的表达会抑制p57^{Kip2}的降解^[26]。BMP2处理人神经瘤细胞可以导致p27^{Kip1}的积累,而p27^{Kip1}泛素化降解所需要的Skp2表达却减少,引起细胞停止增殖并进行分化^[27]。而BMP是通过Smad信号途径发挥作用的,这说明,Smads蛋白可以通过调控p27^{Kip1}的表达来抑制细胞增殖促进细胞分化。

综上所述,Cbfa1和Smads通过和细胞周期关键调控因子相互作用调控细胞周期和成骨细胞分化,但有关Cbfa1和Smads对细胞周期和成骨细胞分化的详细调控机制,尚待进一步的研究。

3 结语

成骨细胞的增殖分化受到许多转录因子,包括HCH蛋白家族,亮氨酸拉链蛋白、锌指蛋白、runt域蛋白以及原癌基因,如c-myc、c-jun和c-fos的调控,其调控机理十分复杂。目前对成骨细胞分化调控机理的研究往往偏向其中一个方面,有的是探究细胞分化的表型标志物表达的调控机理;有的则是研究对细胞周期调控的机理集中在细胞周期相关因子在增殖分化不同时期的变化。而在成骨细胞分化过程中,细胞增殖分化调控和表型标志物的表达调控是同一动态过程中的两个几乎平行的事件,成骨细胞分化的重要调控因子Cbfa1将Smads蛋白定位于细胞核内特定的基因活跃转录区域,将成骨细胞表型标志物的表达调节与细胞增殖分化的细胞周期调控密切联系在一起。信号转导途径在核内空间的整合以及复合物的精确定位表明,Cbfa1极有可能是信号转导在核内的受体蛋白,将Smad途径的信号带入核内,从而将表型标志物的调控与细胞分化周期的调控融合在一起。因此,从Cbfa1与Smads蛋白复合物在核亚区的定位入手,进一步研

究两者对细胞周期以及标志物基因的表达调控对阐明成骨细胞这一特殊群体的分化机理具有重要的意义。

[参 考 文 献]

- [1] Ito Y, Zhang Y W. A RUNX2/PEBP2 α A/CBFA1 mutation in cleidocranial dysplasia revealing the link between the gene and Smad. *J Bone Miner Metab*, 2001, 19 (3): 188-194
- [2] Thirunavukkarasu K, Mahajan M, McClarren KW, et al. Two domains unique to osteoblast-specific transcription factor *Osf2/Cbfa1* contribute to its transactivation function and its inability to heterodimerize with *Cbfb*. *Mol Cell Biol*, 1998, 18 (7): 4197-4208
- [3] Javed A, Guo B, Hiebert S, et al. Groucho/TLE/R-esp proteins associate with the nuclear matrix and repress RUNX (CBF α /AML/PEBP2 α) dependent activation of tissue-specific gene transcription. *J Cell Sci*, 2000, 113 (12): 2221-2231
- [4] Zaidi SK, Sullivan AJ, van Wijnen AJ, et al. Integration of Runx and Smad regulatory signals at transcriptionally active subnuclear sites. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99 (12): 8048-8053
- [5] Lecka-Czernik B, Gubrij I, Moerman EJ, et al. Inhibition of *Osf2/Cbfa1* expression and terminal osteoblast differentiation by PPA γ 2. *J Cell Biochem*, 1999, 74 (3): 357-371
- [6] Alliston T, Choy L, Ducky P, et al. TGF- β -induced repression of CBFA1 by Smad3 decreases *cbfa1* and osteocalcin expression and inhibits osteoblast differentiation. *Embo J*, 2001, 20 (9): 2254-2272
- [7] Gilbert L, He X F, Farmer P, et al. Expression of the osteoblast differentiation factor RUNX2 (Cbfa1/AML3/Pebp2 α A) is inhibited by tumor necrosis factor- α . *J Biol Chem*, 2002, 277 (4): 2695-2701
- [8] Komori T. A fundamental transcription factor for bone and cartilage. *Biochem Biophys Res Commun*, 2000, 276 (3): 813-816
- [9] Drissi H, Luc Q, Shakoori R, et al. Transcriptional autoregulation of the bone related CBFA1/RUNX2 gene. *J Cell Physiol*, 2000, 184: 341-350
- [10] Zhao M, Qiao M, Oyajobi B O, et al. E3 ubiquitin ligase Smurf1 mediates core-binding factor α 1/Runx2 degradation and plays a specific role in osteoblast differentiation. *J Biol Chem*, 2003, 278 (30): 27939-27944
- [11] Huang G, Shigesada K, Ito K, et al. Dimerization with PEBP2 β protects RUNX1/AML1 from ubiquitin-proteasome-mediated degradation. *EMBO J*, 2001, 20 (4): 723-733
- [12] Ducky P, Zhang R, Geoffroy V, et al. *Osf2/Cbfa1*: a transcriptional activator of osteoblast differentiation. *Cell*, 1997, 89 (5): 747-754
- [13] Grasso-Knight G, D'Angelo M, Volk SW, et al. Smad-Runx interactions during chondrocyte maturation. *J Bone Joint Surg Am*, 2001, 83A: S15-S22
- [14] Nishimura R, Hata K, Harris SE, et al. Core-binding factor α_1 (Cbfa1) induces osteoblastic differentiation of C2C12 cells without interactions with Smad1 and Smad5. *Bone*, 2002, 31 (2): 303-312
- [15] Choi J Y, Pratap J, Javed A, et al. Subnuclear targeting of Runx/Cbfa/AML factors is essential for tissue-specific differentiation during embryonic development. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98 (15): 8650-8655
- [16] Zhang Y W, Yasui N, Ito K, et al. A RUNX2/PEBP2 α A/CBFA1 mutation displaying impaired transactivation and Smad interaction in cleidocranial dysplasia. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97 (19): 10549-10554
- [17] Franceschi R T, Xiao G Z. Regulation of the osteoblast-specific transcription factor, runx2: responsiveness to multiple signal transduction pathways. *J Cell Biochem*, 2003, 88 (3): 446-454
- [18] Lee K S, Kim H J, Li Q L, et al. Runx2 is a common target of transforming growth factor β 1 and bone morphogenetic protein 2, and cooperation between Runx2 and Smad5 induces osteoblast-specific gene expression in the pluripotent mesenchymal precursor cell line C2C12. *Mol Cell Biol*, 2000, 20 (23): 8783-8792
- [19] Lee K S, Hong S H, Bae S C. Both the Smad and p38MAPK pathways play a crucial role in Runx2 expression following induction by transforming growth factor- β and bone morphogenetic protein. *Oncogene*, 2002, 21 (47): 7156-7163
- [20] Ebara S, Nakayama K. Mechanism for the action of bone morphogenetic proteins and regulation of their activity. *Spine*, 2002, 27 (16): S10-S15
- [21] Wee H J, Haung G, Shigesada K, et al. Serine phosphorylation of RUNX2 with novel potential functions as negative regulatory mechanisms. *EMBO Rep*, 2002, 3 (10): 967-974
- [22] Pratap J, Galindo M, Zaidi SK, et al. Cell growth regulatory role of Runx2 during proliferative expansion of preosteoblasts. *Cancer Res*, 2003, 63 (17): 5357-5362
- [23] Drissi H, Hushka D, Aslam F, et al. The cell cycle regulator p27^{Kip1} contributes to growth and differentiation of osteoblasts. *Cancer Res*, 1999, 59 (15): 3705-3711
- [24] Westendorf J J, Zaidi SK, Cascino J E, et al. Runx2 (Cbfa1, AML-3) interacts with histone deacetylase 6 and represses the p21^{CIP1/WAF1} promoter. *Mol Cell Biol*, 2002, 22 (22): 7982-7992
- [25] Thomas D M, Carty S A, Piscopo D M, et al. The retinoblastoma protein acts as a transcriptional coactivator required for osteogenic differentiation. *Mol Cell*, 2001, 8 (2): 303-316
- [26] Nishimori S, Tanaka Y, Chiba T, et al. Smad-mediated transcription is required for transforming growth factor- β 1-induced p57^{Kip2} proteolysis in osteoblastic cells. *J Biol Chem*, 2001, 276 (14): 10700-10705
- [27] Nakamura Y, Ozaki T, Koseki H, et al. Accumulation of p27^{KIP1} is associated with BMP2-induced growth arrest and neuronal differentiation of human neuroblastoma-derived cell lines. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, 307 (1): 206-213