



Effect of Drug-Mediated Cytoskeletal Remodeling on Osteogenic Differentiation of Human Mesenchymal Stem Cells

Bijing YANG, Liang XIAO, Ziang Xu & Hongguang XU

Spine Surgery Research Center of Wannan Medical College, Departments of Orthopedic Surgery, Yijishan Hospital, The First Affiliated Hospital of Wannan Medical College, Wuhu, Anhui 241001, China.

SUMMARY. Mesenchymal stem cells (MSCs) are pluripotent stem cells with multi-directional differentiation and self-replication characteristics. In this study, we investigated the effect of drug-mediated cytoskeletal remodeling on osteogenic differentiation of human MSCs (hMSCs). F-actin was regulated in hMSCs cultured for three passages using the depolymerizing drugs cytochalasin D (CytD) and latrunculin A (LatA), while tubulin was modulated with nocodazole (Noco). A Cell Counting Kit-8 assay was used to examine cell proliferation, and changes in hMSCs morphology and cytoskeletal organization were observed by confocal laser-scanning microscopy. Real-time PCR (RT-PCR) analysis was used to quantify mRNA expression of alkaline phosphatase (ALP), osteocalcin (OCN), and RUNX2 in hMSCs. Osteogenic capability and mineralization of hMSCs were evaluated by ALP and Alizarin Red S staining, respectively. All three drugs elicited significant changes in cell morphology and cytoskeletal organization. None of the drugs affected the proliferative capacity of hMSCs. RT-PCR detection revealed reduced expression of ALP, OCN, and RUNX2 in drug-exposed groups compared with the control group ($P < 0.05$). ALP staining in drug-exposed groups was lighter compared with the control group ($P < 0.05$). Similarly, Alizarin Red S staining in drug-exposed groups was significantly reduced compared with the control group ($P < 0.05$). CytD, LatA, and Noco provoked cytoskeletal remodeling and inhibited osteogenic differentiation of hMSCs. Such drug-mediated hMSCs may provide promising treatment strategies for repair and regeneration of bone tissue.

RESUMEN. Las células madre mesenquimales (MSC) son células pluripotentes con características de diferenciación multidireccional y de auto-replicación. En este estudio investigamos el efecto de la remodelación del citoesqueleto mediada por fármacos en la diferenciación osteogénica de las MSC humanas (hMSC). La F-actina se reguló en las hMSC cultivadas durante tres pases usando los fármacos despolimerizantes citocalasina D (CytD) y latrunculina A (LatA), mientras que la tubulina se moduló con nocodazol (Noco). Se usó un ensayo Cell-Counting Kit-8 para examinar la proliferación celular y se observaron cambios en la morfología de las hMSC y la organización del citoesqueleto mediante microscopía de barrido láser confocal. Se utilizó el análisis de PCR en tiempo real (RT-PCR) para cuantificar la expresión de ARNm de fosfatasa alcalina (ALP), osteocalcina (OCN) y RUNX2 en hMSCs. La capacidad osteogénica y la mineralización de las hMSC se evaluaron mediante ALP y tinción con Alizarina Red S, respectivamente. Los tres fármacos provocaron cambios significativos en la morfología celular y la organización del citoesqueleto. Ninguna de las drogas afectó la capacidad proliferativa de hMSCs. La detección por RT-PCR reveló una expresión reducida de ALP, OCN y RUNX2 en grupos expuestos a fármacos en comparación con el grupo control ($P < 0,05$). La tinción de ALP en los grupos expuestos a fármacos fue más clara en comparación con el grupo de control ($P < 0,05$). De manera similar, la tinción con Alizarina Red S en los grupos expuestos a fármacos se redujo significativamente en comparación con el grupo control ($P < 0.05$). En conclusión, CytD, LatA y Noco provocaron el remodelado del citoesqueleto e inhibieron la diferenciación osteogénica de las hMSC. Tales hMSC mediadas por fármacos pueden proporcionar estrategias de tratamiento prometedoras para la reparación y regeneración del tejido óseo.

KEY WORDS: cytoskeletal, drug-mediated, human mesenchymal stem cell, osteogenic differentiation

* Author to whom correspondence should be addressed. *E-mail:* pumchxuhg@126.com