

牙源性干细胞在牙周组织再生中的作用

赵晓敏¹, 于曼殊¹, 刘春冉¹, 李冉², 高小波¹

¹内蒙古医科大学赤峰临床医学院, 内蒙古 赤峰

²赤峰市医院口腔科, 内蒙古 赤峰

收稿日期: 2024年4月11日; 录用日期: 2024年5月4日; 发布日期: 2024年5月11日

摘要

牙周炎, 又称破坏性牙周病, 其病因在于牙菌斑中的细菌对牙周组织的侵袭, 从而引发一种慢性炎症反应。这一病理过程可能导致牙周支持组织(包括牙根、牙周膜、牙槽骨和牙骨质)遭受破坏, 进一步引发牙周袋的形成, 并伴随着炎症的加重、附着丧失以及牙槽骨的吸收。尽管通过规范的基础治疗可以有效地将炎症控制在最低水平, 并通过手术治疗清除病变组织, 但牙周组织的修复与再生仍然是当前治疗的难点所在。20世纪80年代, 提出了引导性组织再生术, 但引导性组织再生术治疗的把握性及预期性不佳。临床还常用骨粉植入促进牙槽骨生成, 虽然可以修复牙周炎造成的牙槽骨缺损, 但自体骨取材创伤大且再生效果不易预测; 异体骨很难兼具骨引导、骨诱导和植入安全性。因此, 牙周组织的再生在临床中面临着巨大的挑战。目前, 干细胞因其卓越自我更新与分化潜能, 在牙周疾病的治疗中得到了广泛应用。在特定条件下, 干细胞能够分化为成骨细胞, 与生物材料和生长因子相结合, 共同促进牙周组织的再生。此外, 自体细胞移植不仅具有较高的安全性, 而且在实际操作中展现出了显著的可行性。这种治疗策略为牙周疾病的康复提供了新的可能性。本文就牙源性间充质干细胞(DSCs)在牙周组织再生中的应用展开综述, 聚焦于DSCs在牙周组织再生中的研究进展, 总结DSCs的供体来源、如何高效保存及应用效率的研究现状及局限, 为DSCs的前期研究和精准有效的临床应用提供思路。

关键词

牙源性干细胞, 牙周炎, 牙周组织再生, 组织工程

The Role of Odontogenic Stem Cells in Periodontal Tissue Regeneration

Xiaomin Zhao¹, Manshu Yu¹, Chunran Liu¹, Ran Li², Xiaobo Gao¹

¹Chifeng Clinical Medical College of Inner Mongolia Medical University, Chifeng Inner Mongolia

²Department of Stomatology, Chifeng Municipal Hospital, Chifeng Inner Mongolia

Received: Apr. 11th, 2024; accepted: May 4th, 2024; published: May 11th, 2024

文章引用: 赵晓敏, 于曼殊, 刘春冉, 李冉, 高小波. 牙源性干细胞在牙周组织再生中的作用[J]. 临床医学进展, 2024, 14(5): 544-553. DOI: 10.12677/acm.2024.1451461

Abstract

Periodontitis, also known as destructive periodontal disease, is caused by the invasion of bacteria in dental plaque into periodontal tissue, leading to a chronic inflammatory response. This pathological process may lead to the destruction of periodontal support tissues (including roots, periodontal membranes, alveolar bone, and cementum), further triggering the formation of periodontal pockets, accompanied by worsening inflammation, loss of attachment, and absorption of alveolar bone. Although standardized basic treatment can effectively control inflammation to the lowest level and remove diseased tissue through surgical treatment, the repair and regeneration of periodontal tissue remains the current challenge in treatment. In the 1980s, guided tissue regeneration surgery was proposed, but its treatment accuracy and predictability were poor. Bone powder implantation is commonly used in clinical practice to promote alveolar bone formation. Although it can repair alveolar bone defects caused by periodontitis, autologous bone extraction has significant trauma and the regeneration effect is difficult to predict; allogeneic bone is difficult to achieve both bone guidance, bone induction, and implant safety. Therefore, the regeneration of periodontal tissue faces significant challenges in clinical practice. At present, stem cells have been widely used in the treatment of periodontal diseases due to their excellent self-renewal and differentiation potential. Under specific conditions, stem cells can differentiate into osteoblasts and combine with biomaterials and growth factors to promote periodontal tissue regeneration. In addition, autologous cell transplantation not only has high safety, but also demonstrates significant feasibility in practical operations. This treatment strategy provides new possibilities for the rehabilitation of periodontal diseases. This article provides a review of the application of dental derived mesenchymal stem cells (DSCs) in periodontal tissue regeneration, focusing on the research progress of DSCs in periodontal tissue regeneration. It summarizes the research status and limitations of donor sources, efficient preservation, and application efficiency of DSCs, providing ideas for the preliminary research and precise and effective clinical application of DSCs.

Keywords

Odontogenic Stem Cells, Periodontitis, Periodontal Tissue Regeneration, Tissue Engineering

Copyright © 2024 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

牙周炎是一种炎症性和破坏性疾病，主要影响牙龈、牙周膜、牙槽骨和牙骨质等牙周支持组织。它是导致成年人牙齿丧失的主要原因之一，严重威胁着口腔健康[1]。牙周炎的治疗目标包括终止炎症的发展并促进软硬组织的修复再生，同时恢复口腔发音、形态美观、咀嚼等功能[2]。传统的翻瓣术、植骨术和引导性组织再生术在去除病变方面虽有一定效果，但在促进组织再生方面却不尽如人意。因此，当前再生医学领域广泛研究的方向之一，便是利用干细胞和组织工程策略来实现更为理想的组织再生效果。这些策略不仅为牙周炎等牙周疾病的治疗提供了新的思路，也为我们探索更多组织再生的可能性开辟了新的道路[3]。干细胞作为一种有显著增殖能力和多向分化潜能的未分化细胞，在再生治疗中有较好的应用前景[4]。而牙源性间充质干细胞(DSCs)因其供体丰富、取材安全方便、较低的免疫源性、且目前尚无伦理限制等优势，在再生医学领域被研究和应用的较多[5]。目前被分离出来的 DSCs 包括髓干细胞

(dental pulp stem cells, DPSCs)、根尖乳头干细胞(stem cells from apical papilla, SCAPs)、脱落乳牙干细胞(stem cells from human exfoliated deciduous teeth, SHEDs)、牙囊前体细胞(dental follicle progenitor cells, DFPCs)、牙周膜干细胞(periodontal ligament stem cells, PDLSCs)、牙槽骨骨髓间充质干细胞(alveolar bone marrow mesenchymal stem cells, aBMSCs)、牙龈间充质干细胞(gingival mesenchymal stem cells, GMSCs)和牙胚干细胞(tooth germ stem cells, TGSCs) [6]。它们可来源于正常或意外脱落的儿童乳牙、正畸需要拔除的额外牙、第三磨牙以及需要做牙龈手术的牙龈等,为牙周再生提供了便利的研究及治疗条件。有研究表明, DSCs 不仅具备自我更新和多向分化的潜能,其独特的免疫调节和抗炎功能亦不可忽视。这种细胞能够降低牙周炎患者牙周组织中的活性氧自由基水平,从而有效缓解牙周炎的症状,为牙周炎的治疗提供了新的策略与思路[7]。本文将从 DSCs 的来源出发,将其在牙周组织修复再生领域的研究进展作一阐述。

2. 牙龈间充质干细胞(GMSCs)

牙龈来源的间充质干细胞(GMSC)与其他间充质干细胞(MSC)相比,来源更丰富、对供体损伤较小,易于通过微创细胞分离技术获得且创口愈合更快[8]。Sun Quan [9]等将 GMSC 和 BMSC 在成骨培养基中培养,在体外环境下,通过对骨钙素、碱性磷酸酶(ALP)以及骨钙蛋白(OCN)进行定量检测,发现 GMSCs 相较于 BMSCs 展现出了更为卓越的成骨和成软骨分化能力。这一发现为 GMSCs 在牙周组织再生领域的潜在应用提供了有力支持,并有望为牙周炎等牙周疾病的治疗带来新的突破。同样的,在一项以猪牙周炎为模型的体内研究中,发现 GMSCs 可以促进牙槽骨、牙周膜和牙骨质的生成[10]。GMSCs 除了有直接进行分化再生的作用,还在炎症反应调节中发挥作用。2019 年, Sun [11]等在牙周炎小鼠尾静脉分别注射慢病毒载体标记(GFP+)的 GMSCs 和含有 5%FBS 的 α -MEM 培养基,通过对比测量牙槽骨 6 个位置(近腭尖、腭沟、腭底尖、近颊尖、颊沟和颊底尖)从牙骨质结合部(Cementum junction, CEJ)到牙槽嵴(alveolar ridge, ABC)的距离之和来评价两组牙槽骨的吸收情况,发现干细胞注射组牙周组织炎症细胞浸润减少,移植 GMSCs 1 周后牙龈组织中有 GFP+成纤维细胞样细胞生成,经过 4 周的培养,观察到 GFP+成骨细胞和牙周韧带细胞的数量显著增多,同时牙槽骨的高度也在逐渐提升。这一发现表明,细胞在体外培养过程中具有良好的增殖和分化能力,为牙周组织的再生修复提供了有力的细胞来源。同样关于其抗炎和免疫调节作用的研究, Zhang [12]将 GMSC 局部注射到牙周炎大鼠,观察到注射 GMSC 细胞组的牙龈组织中炎症细胞浸润相对较少,结合上皮向根方迁移程度较轻,牙槽骨嵴顶吸收较少,血清中炎症因子 IL-1 β 及 TNF- α 的表达降低,说明 GMSCs 通过调节炎症因子的表达在一定程度上减轻了牙周炎的症状。同时, Qiu [13]等发现 GMSC 的条件培养基 GMSC-CM 通过抑制 TNF- α 和 IL-1 β 的表达,促进 IL-10 的表达,使骨唾液蛋白 II (Bone Salivary Protein II, BSP-II)和 Runt 相关转录因子 2 (Recombinant Runt Related Transcription Factor 2, Runx2)表达显著增高,促进了牙周炎小鼠牙骨质生成、牙槽骨高度增加,并在新生骨与根面之间出现牙周纤维、结缔组织的附着。以上研究结果表明, GMSC 不仅通过促进细胞增殖改善牙周组织缺损,还能调节炎症因子使抗炎因子表达的同时促进牙周组织再生。但是,牙周病患者的牙龈健康状况并不理想,所以在 GMSCs 的提取和应用上需要多加考虑,有研究表明,健康牙龈间充质干细胞(healthy GMSC, H-GMSC)和牙周炎牙龈间充质干细胞(periodontitis GMSC, P-GMSC)在可塑性、成纤维细胞形态和表型方面具有相似性,与 H-GMSC 相比,大多数 P-GMSC 甚至表现出更高的成骨潜能,同时两种细胞都表现出中等的软骨生成潜能和低的脂肪生成潜能[14]。还有研究表明,炎症或非炎症的 GMSC 都可以通过微孔的生物膜表现出细胞迁移能力,且在 0.4 μ m 和 3 μ m 微孔的膜中无显著差异,仅在 8 μ m 微孔的生物膜中健康的牙龈间充质干细胞可能更易粘附于胶原上而表现出更强的迁移能力[15]。说明牙龈的健康程度对 GMSC 的增殖能力影响是不明显且可调控的,在自体 GMSC 治疗自体牙周疾病的过程中,

牙龈组织的健康状态无疑是一个需要审慎考量的关键因素。此外,通过精心设计和制备特定适宜的生物膜,可以最大化地发挥细胞的迁移潜能,有效促进牙周引导组织再生。这一策略为牙周手术提供了新的治疗思路,有望为牙周疾病的治疗带来更为显著和持久的疗效。

3. 牙周膜干细胞(PDLSCs)

牙周膜,作为一种弹性纤维结缔组织,位于牙骨质与牙槽窝之间,不仅为牙齿提供营养,还发挥着支撑和稳定的重要作用[16]。牙周膜干细胞,则来源于牙周膜组织中的未分化间充质细胞,其首次分离可追溯至2004年,为牙周组织的研究和治疗开辟了新的路径[17]。有研究表明,在体外的成骨培养中,PDLSCs表现出比人骨髓间充质干细胞和人牙髓干细胞更多的蛋白表达和更高的生长潜力[18]。关于PDLSCs在体内优越的成骨能力、成牙周膜能力已经被多次证明。Liu [19]成功提取了鼠牙周膜内的PDLSCs,并构建了相应的PDLSCs生物支架,在植入鼠牙周缺损模型后,观察到缺损处新骨生成连续性和完整性更佳,牙本质表面形成了类牙骨质结构,并有类似纤维结构穿入。通过荧光实时定量PCR技术检测,发现PDLSCs在牙周愈合阶段能够抑制TNF- α 的分泌,并在早期促进IL-10的分泌。此外,在牙周组织愈合过程中,PDLSCs组最早观察到CD163+细胞的出现,且数量显著多于其他组。这些结果表明,PDLSCs能够通过调节巨噬细胞极化来改善牙周炎病变。鉴于PDLSCs的再生能力已得到验证,学者们正致力于研究如何更有效地发挥其效能,以期在牙周炎等牙周疾病的治疗中取得更好的疗效。Liu [1]等研究发现将PDLSC负载于不同复合支架材料上,如聚乳酸-羟基乙酸共聚物(PLGA)、丝素蛋白结合PLGA(PLGA/SF)、羟基磷灰石结合PLGA(PLGA/HA)以及三者结合的复合支架材料(PLGA/SF/HA),均可展现出良好的成骨分化能力。在对比牙周炎组的炎症因子表达时,PLGA/SF、PLGA/HA、PLGA/SF/HA三组中TNF- α 、IL-2、IL-4、IL-6、IL-17A、IFN- γ 等炎症因子的表达均呈现下降趋势。同时,这些组的牙槽骨在各个方向均表现出明显的骨修复效果,且牙周袋深度有所变浅。Wu [20]等的研究表明,细胞悬浮液注射会使细胞扩散,供应不足,其他的细胞支架、水凝胶以及纤维膜等生物材料都能够发挥自身良好生物性能的同时结合PDLSCs发挥更强的作用。

鉴于牙周炎患者群体中老年患者占比较大,因此在利用患者自身PDLSC治疗牙周炎的方案中,面临一些限制:特别是捐献者的年龄因素,可能会对细胞的再生能力以及最终的治疗效果产生不可忽视的影响[21]。这一发现提示我们,在制定治疗方案时,需要充分考虑到患者的年龄特征,以确保治疗的有效性和安全性。Tian [22]将18至65岁需要牙周治疗的志愿者的PDLSCs进行对比,在细胞水平上年老者的PDLSCs表现出明显的低成骨分化潜能,将PDLSCs移植到细胞膜片上,年老者的膜片生物学性能同样表现的不佳,Nanog、Oct-4和Sox-2三个基因的相对mRNA和蛋白含量均较年龄小者低,Ki-67阳性细胞数更少。所以在PDLSCs治疗牙周炎时,对衰老的干细胞进行处理后应用是一个需要解决的问题。考虑到选择质量更优的供体细胞,Xu [23]等将牙根表面来源的PDLSCs(r-PDLSCs)与牙槽骨来源的PDLSCs(a-PDLSCs)性能进行对比,显示a-PDLSCs的增殖能力、成骨和成脂分化潜能均优于r-PDLSCs。在PDLSCs的分化能力得到认可的同时,我们仍需深入探究如何获取生物性能更优越的PDLSCs。此外,关于PDLSCs如何更有效地发挥治疗作用,以及选择何种方式将其引入牙周组织以促进病变愈合,这些问题仍待我们进一步探索和研究。

4. 牙髓干细胞(DPSCs)

DPSCs作为从人牙髓组织中首次被识别的人牙脑神经嵴源性间充质干细胞,其来源广泛[24]。它主要取自正畸过程中需要拔除的牙齿或阻生智齿等。这一特性使得DPSCs在再生医学领域具有广阔的应用前景,尤其是在牙周疾病的治疗方面,其潜力不容忽视。DPSCs在诱导成骨、促进神经损伤恢复和形成

牙髓/牙本质复合体等方面展现出独特的潜能[25]。Guan [26]通过比较牙周炎小鼠上颌双侧磨牙区的 0.9% 氯化钠溶液注射(NS)组和 DPSC 注射(DPSC)组的 CEJ-ABC, 发现 DPSC 组的平均距离为(0.215 ± 0.017) mm, NS 组的为(0.311 ± 0.022) mm, DPSC 组的牙槽骨吸收程度更低, 同时 DPSC 组炎症细胞浸润减少, 形成的成熟破骨细胞较少, 龈沟上皮也未见根方迁移。研究已证实 DPSCs 具有抑制破骨细胞形成的能力, 这对于促进牙周组织的修复再生至关重要。破骨细胞在骨重塑过程中负责骨质的吸收, 而 DPSCs 通过其独特的生物学特性, 能够调节这一过程, 促进牙周组织的健康恢复。关于炎性牙髓干细胞(iDPSCs)的生物学性能分析, 2015 年的研究表明, 不同炎症严重程度的 iDPSCs 在结合生物支架植入裸鼠皮下后, 均能够生成牙本质/牙髓样复合体样组织, 且其形成能力无显著差别。然而, 与正常 DPSCs 组相比, 这些 iDPSCs 的组织生成活力明显受到抑制。这一发现说明, 尽管炎症对 iDPSCs 的成骨能力影响有限, 但它确实会对组织的生成活力产生一定的抑制作用[25]。同样的, Hu [27]等将人牙髓间充质干细胞制剂注射在骨缺损根方黏骨膜下体内修复小型猪实验性牙周炎骨缺损, 经过 4 个月的观察, 通过牙周探诊深度(PD)、临床附着丧失(AL)、影像学及组织病理学等多方面的评价, 发现 DPSCs 细胞注射组的修复效果非常显著, 该组在牙周组织内形成了大量的新骨, 这一现象不仅体现在宏观的影像学结果上, 也在微观的组织病理学观察中得到了证实。DPSCs 在这一过程中发挥了关键的作用, 它们的存在不仅促进了骨质的再生, 还可能通过抑制破骨细胞的形成来维护骨质的平衡。同时作者又对 DPSCs 的植入方式和效果进行了研究, 发现 DPSCs 试剂和 DPSCs 细胞膜片均可有效促进牙周再生, 其中细胞注射可用于一般的牙周炎再生, 膜片植入更适合牙周翻瓣等手术的愈合。

牙周炎症的发生确实会伴随着缺氧状态, 这种缺氧环境对细胞在受损组织中的作用会产生一定的影响。有研究表明, 环境因素会对 DPSCs 的成骨能力产生影响, 缺氧会抑制体外 DPSCs 成骨/牙源性分化的能力[28]。但近年有研究表明了相反观点, 当在 DPSCs 中过度表达外源性 miR-140-3p 时, 其展现出一定的适应性, 并能够拮抗其他基因的反向作用, 通过负调控 KMT5B 增强了 DPSCs 缺氧受损环境下的骨/牙分化基因表型的增加, 提示 miR-140-3p 和 KMT5B 是牙组织再生的新靶点[29]。同时有研究表明给药前 MSCs 的缺氧预处理能使其更好地在缺血的临床环境中存活[30]。所以 DPSCs 的提取条件以及应用前是否需要缺氧预处理, 是我们在将其大量应用于临床前需要进一步探索的。

5. 脱落乳牙干细胞(SHEDs)

SHEDs 是分离自乳牙牙髓的间充质干细胞, 它来源广泛且易于收集获取[31]。与 BMSCs 和 DPSCs 相比, SHED 确实展现出了更高的增殖活性和更高的 bFGF、BMP-2 基因表达水平[32]。在牙槽骨缺损小鼠的口内骨缺损区域植入 CAS + SHED 后, 我们观察到间充质干细胞的成骨分化标志物如 RUNX2、ALP、骨钙素和骨桥蛋白的表达均呈现上升趋势。同时, VEGF 和 TGF- β 的表达水平也有所增加, 这些变化共同促进了骨组织的生成[33]。有学者做了 SHEDs 搭载生物支架对牙周组织再生效果的研究, 将 SHEDs 负载在聚己内酯支架上, 发现未经处理或者透明质酸凝胶处理的支架都允许干细胞向成骨细胞分化, 但明胶包被的聚己内酯支架比未处理的和透明质酸包被的支架促进了更多干细胞的成骨, 说明明胶修饰的纤维支架更有利于骨组织工程应用[34]。虽然目前的研究充分表明 SHEDs 对牙周组织再生有积极作用, 但在 DSCs 促进牙周组织再生领域, SHEDs 相对于其他干细胞的研究较少, 国外学者对 SHEDs 的分离、扩增和低温保存进行了研究, 致力于优化这些技术来保留 SHEDs 的生物性能[35]。这也是未来 SHEDs 的研究重点, 如果可以在乳牙脱落时期较好的保存 SHEDs, 会极大的方便日后牙周组织疾病的治疗。

6. 根尖乳头干细胞(SCAPs)

SCAPs 作为一种间充质干细胞, 主要存在于未成熟恒牙的根尖乳头内, 因此其提取过程受到特定发

育时期的限制。然而, 由于其易于从第三磨牙中分离出来的特性, SCAPs 的获取相对便捷[36]。将 SCAPs 移植到小猪缺陷牙周后 12 周, 观察到小猪的牙龈生长和附着情况要优于注射 0.9% NaCl 组, SCAPs 改善了牙周炎小猪的 PD 和 AL, 同时又使炎症部位有较多的新生骨组织和更厚的成熟牙骨质生成, 还有牙周组织特有的 Sharpey 纤维结构和牙周膜组织也大量生成。证实 SCAPs 可作为再生型牙周组织工程的合适替代细胞源[37]。同样的, SCAPs 也被证实可以通过抑制 T 细胞增殖来抑制免疫反应, 这种能力为同种异体 SCAPs 移植的应用提供了指导[38]。研究还显示, SCAPs 具有促进未发育完全根尖继续发育闭合的潜力。将黄连素(berberine, BBR)与 SCAPs 共同培养, 并应用于未成年大鼠的牙齿时, 这些细胞能够通过激活 Wnt/ β -catenin 信号通路来诱导成骨分化。进一步地, 将 SCAPs 填充到根尖炎症的根管中, 可以显著增强根尖的修复能力, 并促进乳白色牙骨质样和牙槽骨样组织的生成。这些发现不仅证明了 SCAPs 在牙周组织再生中的重要作用, 还揭示了其在根尖炎症治疗中的显著效果, 为未来的临床应用提供了广阔的前景[39]。鉴于 SCAPs 只存在于未分化完成的根尖乳头中, 只能从第三磨牙、额外牙或者有炎症需要拔除的年轻恒牙中获得, 所以有研究将下颌前磨牙上收集含有部分根尖乳头的炎症根尖周组织的细胞(SCAP CS)与炎症的根尖周祖细胞(IPAPCS)和正常的根尖乳头干细胞(SCAP-RP89)进行比较, 发现 SCAP CS 的特异性标记物 CD73、CD90 和 CD105 与 SCAP-RP89 高度一致, 且在成骨和成血管能力方面表现最为突出, 成骨和成血管的能力也最强, 说明 SCAP CS 与正常 SCAP 的组织生成能力无显著差异[40]。因此, 在牙周组织再生的应用中, SCAPs 的来源可以尝试相对更广泛的供体, 例如因疾病而拔除的患牙。然而, 关于其在牙周炎组织再生临床应用中的具体效果, 仍需进一步实践和探索。

7. 牙槽骨骨髓间充质干细胞(aBMSCs)

aBMSCs 主要源自口腔的牙槽骨, 它们可以从拔牙后留下的牙槽窝、牙槽间隔中分离出来, 或者在种植手术过程中从骨屑、骨渣中提取。在细胞形态和分化能力上, aBMSCs 与骨髓间充质干细胞(BMSCs)展现出相似性, 这使得 aBMSCs 成为口腔组织再生领域的一种具有潜力的细胞来源[41]。Mason S [42]等在种植牙的骨髓间隙吸取骨髓, 发现分离的 aBMSCs 表现出多能性, 核型在 30 个 pd 位以内正常, 35 个 pd 位以内细胞开始衰老, 随后将 aBMSCs 在小鼠皮下移植后有异位骨形成。同时, 相比于在种植牙植入过程中获得的抽吸物, 从拔牙或重建手术中收集的抽吸物中进行细胞增殖效果更好, 年龄、颌骨位置、组织采集部位都会对 aBMSCs 的成骨能力产生影响。此项研究为 aBMSCs 在临床提取的标准化、安全性和颌面部应用提供了指导。Wang [43]等将 aBMSCs 和多孔纳米羟基磷灰石材料支架(nHAC/PLA + aBMSCs)混合, 植入下颌骨缺损的兔模型中, nHAC/PLA + aBMSCs 组的缺陷被大量成熟的增厚骨填充, 新骨表面有成排的成骨细胞、骨小梁排列。还有研究证明, BMSCs 表现出优秀的成脂、成骨能力, 其可以通过静脉注射或者局部移植的方式使骨质疏松大鼠的下颌骨缺损修复[44]。尽管目前关于 aBMSCs 在牙周组织再生领域的研究相较于其他干细胞类型尚显不足, 但其卓越的成骨潜能无疑为我们提供了深入研究的动力。通过加强对 aBMSCs 的研究, 我们有望在牙周炎导致的牙缺失种植修复术中实现直接取骨、培养细胞, 从而更有效地改善牙周状况。

8. 牙胚干细胞(TGSCs)

TGSCs 主要形成于第三磨牙牙胚的中晚期阶段, 其提取来源主要集中于第三磨牙的牙胚[45]。虽然 TGSCs 应用于牙周组织再生的研究很少, 但诸多研究已经证明了它的成骨分化潜能。将 TGSCs 与聚乳酸(poly-lactic acid, PLA)和聚乙醇酸(Polyglycolic Acid, PGA)的共聚物——可降解多孔支架 PLGA 结合, 在体外可诱导细胞迁移, 在体内可生成细胞外基质[46]。同样, 硅酸钙基水泥材料作为 TGSCs 的支架也可使其表现出更优异的牙/成骨分化能力[47]。在将 TGSCs 与 PEG 水凝胶结合后作用于家猪下颌骨实验中,

也促进了家猪下颌骨缺损的骨再生[48]。尽管 TGSCs 的来源相较于其他 DSCs 而言较为局限,但它作为在牙齿发育过程中形成牙齿组织多种结构的多能干细胞,其后续在组织形成方面的能力仍然不容忽视。这种独特的生物学特性使得 TGSCs 在牙齿再生医学领域具有潜在的应用价值,值得我们进一步深入研究和探索。

9. 牙囊干细胞(DFCs)

DFCs 起源于颅神经嵴,是环绕牙胚的间充质前体细胞,它们在牙齿发育过程中发挥着关键作用,参与牙骨质、牙周膜以及牙槽骨的形成过程,也对牙齿的萌出起着协调与稳定的作用[49]。Zhan [50]将 DFCs 和 DPSCs 成骨诱导 7 天后植入裸鼠皮下,发现 DFCs 的皮下成骨能力、ALP 活性和成骨基因的表达均高于 DPSCs。最新研究表明,将人牙囊干细胞(hDFCs)与经过处理的牙本质基质颗粒(TDMPS)制成的细胞片(hTDMP)植入小猎犬单壁牙周骨内缺损后,观察到新生骨、牙骨质样矿化组织以及连接二者的类 Sharpey 纤维的形成。这一发现充分证明了 DFCs 在促进牙周软硬组织再生方面的强大能力,为牙周病的治疗提供了新的可能性[51]。Yang [52]对冻存的牙囊组织中提取的牙囊干细胞(cells from cryopreserved dental follicle, C-cdf)与冻存的牙囊干细胞(cryopreserved dental follicle cells, cDFCs)进行了对比分析,发现其成骨、成脂能力与正常 cDFCs 相似但成骨基因 ALP 和成牙周膜基因牙周膜相关蛋白-1 (periodontal ligament-associated protein-1, PLAP-1)、骨膜蛋白(Periostin)的 mRNA 表达相对较低。随后将牙本质基质颗粒联合牙囊细胞膜片植入比格犬牙周炎模型中,观察到含有牙囊细胞膜片的组中牙骨质样组织的厚度最为显著,且形成的牙周膜间隙与天然牙的牙周间隙更为接近。这一发现表明,牙囊细胞膜片在牙周组织的再生过程中起到了积极的促进作用,为牙周组织的修复和再生提供了新的策略。同样,将 PRF 复合 DFCs 制成细胞膜片(PRF + DFCs)植入犬种植体周围炎模型的骨缺损处,发现 PRF + DFCs 组和 DFCs 组都有新生骨质,但 PRF + DFCs 组抑制牙周致病菌 *P. gingivalis* 且使 DFCs 的牙周分化基因(Periostin, CoIII, CP23)、ALP 表达更强。说明与生物材料结合可以加强 DFCs 的形成能力。

10. 结语

综上所述,牙源性干细胞从不同来源、不同状态、和与不同生物材料结合发挥作用等方面展示了它的组织再生能力。从 DSCs 获取的难易程度来讲,GMSCs 具有绝对优势,其次是 aBMSCs、DPSCs 和 PDLSCs,所以应充分发挥他们的提取优势,将其作用最大化,同时对于不易提取的细胞,要在提取、保存和高效应用方面继续探索。而关于几种 DSCs 的增殖分化能力,还需进一步系统的实验研究来对比,以利于在最适宜的缺损处、最恰当的应用时期,应用最合适的干细胞。目前看来,对干细胞的应用方式也存在些许争议,细胞悬液注射精准到位但是会扩散导致供应不足效果不佳;Bio-Oss 可作为一种载体支架,但其属于一种异体骨材料,吸收性差,能否作为支架还需要进一步研究[4]。也有人认为支架结构需要考虑到免疫排斥和吸收降解还有细胞增殖的问题。细胞膜片虽然效果较好但需要对牙周皮瓣进行操作,所以 DSCs 的促进再生应用方式还需要再进行安全性与效果对比或根据应用情况具体分析[33]。尽管 DSCs 的植入已被证实对组织再生具有积极效果,但其再生效率和程度目前仍难以精确控制。同时,深入探究 DSCs 的具体作用机制对于我们确保其临床应用的安全性至关重要。因此,DSCs 在临床中的广泛应用仍需进一步研究和探索,相关领域仍有诸多未知等待我们去揭示。

项目基金

- 1) 项目名称: 内蒙古医科大学校级联合项目, 课题号: YKD2023LH003;
- 2) 项目名称: 内蒙古自治区科技厅“十四五”重点研发和成果转化计划项目, 课题号: 2023YFSH0054;

3) 项目名称: 赤峰市自然科学基金, 课题号: SZR2023087。

参考文献

- [1] 刘垚杉, 张彤, 欧阳昭广, 等. 仿生改性 PLGA 多孔微球作为牙周膜干细胞递送载体促进牙周组织再生研究[C]// 中华口腔医学会口腔生物医学专业委员会. 2020 年中华口腔医学会口腔生物医学专业委员会第十次全国口腔生物医学学术年会暨第六次全国口腔杰青优青论坛论文汇编. 2020: 340-341.
- [2] Gungormus, M., Oren, E.E., Horst, J.A., *et al.* (2012) Cementomimetics constructing a Cementum-Like Biomaterialized Microlayer via Amelogenin-derived Peptides. *International Journal of Oral Science*, **4**, 69-77. <https://doi.org/10.1038/ijos.2012.40>
- [3] Narayanan, R., Huang, C.C. and Ravindran, S. (2016) Hijacking the Cellular Mail: Exosome Mediated Differentiation of Mesenchymal Stem Cells. *Stem Cells International*, **2016**, Article ID: 3808674. <https://doi.org/10.1155/2016/3808674>
- [4] 宋晓玥, 程灏, 陈璐, 等. 间充质干细胞治疗心肌梗死的研究进展[J]. 中国医学工程, 2019, 27(6): 34-39. <https://doi.org/10.19338/j.issn.1672-2019.2019.06.009>
- [5] 叶青松, 王晓燕. DSCs 储存和临床应用的研究进展[J]. 口腔疾病防治, 2018, 26(1): 15-25.
- [6] 王一玉, 黄佳萍, 丁佩惠, 等. 联合生物材料的牙源性间充质干细胞进行牙周组织再生的研究进展[J]. 口腔医学, 2023, 43(3): 261-266. 10.13591/j.cnki.kqyx.2023.03.014.
- [7] da Costa Gonçalves, F., Grings, M., Nunes, N.S., *et al.* (2017) Antioxidant Properties of Mesenchymal Stem Cells against Oxidative Stress in a Murine Model of Colitis. *Biotechnology Letters*, **39**, 613-622. <https://doi.org/10.1007/s10529-016-2272-3>
- [8] 吴昊, 刘紫微, 郑颖, 等. 单细胞水平解析人牙龈间充质干细胞异质性[J]. 生物技术通报, 2023, 39(7): 325-332. <https://doi.org/10.13560/j.cnki.biotech.bull.1985.2023-0253>
- [9] Sun, Q., Nakata, H., Yamamoto, M., *et al.* (2019) Comparison of Gingiva-Derived and Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells for Osteogenesis. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, **23**, 7592-7601. <https://doi.org/10.1111/jcmm.14632>
- [10] Fawzy El-Sayed, K.M., Mekhemar, M.K., Beck-Broichsitter, B.E., *et al.* (2015) Periodontal Regeneration Employing Gingival Margin-Derived Stem/ Progenitor Cells in Conjunction with IL-1ra-Hydrogel Synthetic Extra-Cellular Matrix. *Journal of Clinical Periodontology*, **42**, 448-457. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12401>
- [11] Sun, W., Wang, Z., Xu, Q., *et al.* (2019) The Treatment of Systematically Transplanted Gingival Mesenchymal Stem Cells in Periodontitis in Mice. *Experimental and Therapeutic Medicine*, **17**, 2199-2205. <https://doi.org/10.3892/etm.2019.7165>
- [12] 张华梅. 局部注射人牙龈间充质干细胞对大鼠实验性牙周炎的治疗效果研究[D]: [硕士学位论文]. 石家庄: 河北医科大学, 2020.
- [13] Qiu, J., Wang, X., Zhou, H., *et al.* (2020) Enhancement of Periodontal Tissue Regeneration by Conditioned Media from Gingiva-Derived or Periodontal Ligament-Derived Mesenchymal Stem Cells: A Comparative Study in Rats. *Stem Cell Research & Therapy*, **11**, Article No. 42. <https://doi.org/10.1186/s13287-019-1546-9>
- [14] Bekić, M., Radanović, M., Đokić, J., *et al.* (2022) Mesenchymal Stromal Cells from Healthy and Inflamed Human Gingiva Respond Differently to *Porphyromonas gingivalis*. *International Journal of Molecular Sciences*, **23**, Article 3510. <https://doi.org/10.3390/ijms23073510>
- [15] Al Bahrawy, M., Ghaffar, K., Gamal, A., *et al.* (2020) Effect of Inflammation on Gingival Mesenchymal Stem/Progenitor Cells' Proliferation and Migration through Microperforated Membranes: An *in Vitro* Study. *Stem Cells International*, **2020**, Article ID: 5373418. <https://doi.org/10.1155/2020/5373418>
- [16] 冉娟, 易守银, 陈月, 等. 牙周膜干细胞冷冻保存的研究现状[J]. 实用医院临床杂志, 2023, 20(2): 142-145.
- [17] Seo, B.M., Miura, M., Gronthos, S., *et al.* (2004) Investigation of Multipotent Postnatal Stem Cells from Human Periodontal Ligament. *The Lancet*, **364**, 149-155. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(04\)16627-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(04)16627-0)
- [18] Lei, T., Wang, J., Liu, Y., *et al.* (2021) Proteomic Profile of Human Stem Cells from Dental Pulp and Periodontal Ligament. *Journal of Proteomics*, **245**, Article 104280. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2021.104280>
- [19] 刘佳盈. 牙周膜干细胞调节巨噬细胞极化促进牙周组织再生的研究[D]: [硕士学位论文]. 南京: 南京大学, 2019. <https://doi.org/10.27235/d.cnki.gnjj.2019.001395>
- [20] 吴梦鑫, 梁文红, 杨琨, 等. 牙周膜干细胞促进牙周组织再生的影响因素[J]. 中国组织工程研究, 2022, 26(30): 4912-4920.

- [21] 裴雪峰. 探究老年口腔疾病患者的口腔修复治疗方法和治疗效果[J]. 名医, 2020(11): 44-45.
- [22] 田蓓敏. 自体牙周膜干细胞治疗骨下袋牙周缺损的临床试验研究[D]: [博士学位论文]. 西安: 中国人民解放军空军军医大学, 2018.
- [23] Xu, X.Y., Li, X., Wang, J., *et al.* (2019) Concise Review: Periodontal Tissue Regeneration Using Stem Cells: Strategies and Translational Considerations. *Stem Cells Translational Medicine*, **8**, 392-403. <https://doi.org/10.1002/sctm.18-0181>
- [24] Alghilan, M.A., Windsor, L.J., Palasuk, J., *et al.* (2017) Attachment and Proliferation of Dental Pulp Stem Cells on Dentine Treated with Different Regenerative Endodontic Protocols. *International Endodontic Journal*, **50**, 667-675. <https://doi.org/10.1111/iej.12669>
- [25] 孙海花. 牙周炎症状态对患牙牙髓中牙髓干细胞生物学行为的影响[D]: [博士学位论文]. 西安: 第四军医大学, 2015.
- [26] 关梅亮, 沈宗杉, 高现灵, 等. 牙髓干细胞对牙周炎中破骨细胞的作用[J]. 中华口腔医学研究杂志(电子版), 2018, 12(1): 1-7.
- [27] 胡景超. 标准化生产的人牙髓间充质干细胞制剂注射治疗牙周炎的临床前研究[C]//中华口腔医学会口腔生物医学专业委员会(Society of Oral Biomedicine Chinese Stomatological Association). 2016 国际口腔及颌颌前沿研究研讨会暨全国口腔生物医学年会论文汇编. 2016: 278-279.
- [28] Iida, K., Takeda-Kawaguchi, T., Tezuka, Y., *et al.* (2010) Hypoxia Enhances Colony Formation and Proliferation but Inhibits Differentiation of Human Dental Pulp Cells. *Archives of Oral Biology*, **55**, 648-654. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2010.06.005>
- [29] Zheng, H., Wang, N., Li, L., *et al.* (2021) miR-140-3p Enhanced the Osteo/Odontogenic Differentiation of DPSCs via Inhibiting KMT5B under Hypoxia Condition. *International Journal of Oral Science*, **13**, Article No. 41. <https://doi.org/10.1038/s41368-021-00148-y>
- [30] Wobma, H.M., Tamargo, M.A., Goeta, S., *et al.* (2018) The Influence of Hypoxia and IFN- γ on the Proteome and Metabolome of Therapeutic Mesenchymal Stem Cells. *Biomaterials*, **167**, 226-234. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2018.03.027>
- [31] 郭蓉, 于金华. 脱落乳牙干细胞治疗神经系统疾病的研究进展[J]. 口腔生物医学, 2023, 14(2): 119-122.
- [32] Kunitatsu, R., Nakajima, K., Awada, T., *et al.* (2018) Comparative Characterization of Stem Cells from Human Exfoliated Deciduous Teeth, Dental Pulp, and Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **501**, 193-198. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2018.04.213>
- [33] Saskianti, T., Nugraha, A.P., Prahasanti, C., *et al.* (2020) Immunohistochemical Analysis of Stem Cells from Human Exfoliated Deciduous Teeth Seeded in Carbonate Apatite Scaffold for the Alveolar Bone Defect in Wistar Rats (*Rattus norvegicus*). *F1000Research*, **9**, Article 1164. <https://doi.org/10.12688/f1000research.25009.1>
- [34] Jitpibull, J., Tangjit, N., Dechkunakorn, S., *et al.* (2021) Effect of Surface Chemistry-Modified Polycaprolactone Scaffolds on Osteogenic Differentiation of Stem Cells from Human Exfoliated Deciduous Teeth. *European Journal of Oral Sciences*, **129**, e12766. <https://doi.org/10.1111/eos.12766>
- [35] Lee, S.H., Looi, C.Y., Chong, P.P., *et al.* (2021) Comparison of Isolation, Expansion and Cryopreservation Techniques to Produce Stem Cells from Human Exfoliated Deciduous Teeth (SHED) with Better Regenerative Potential. *Current Stem Cell Research & Therapy*, **16**, 551-562. <https://doi.org/10.2174/1574888X15666200928110923>
- [36] Kang, J., Fan, W., Deng, Q., *et al.* (2019) Stem Cells from the Apical Papilla: A Promising Source for Stem Cell-Based Therapy. *BioMed Research International*, **2019**, Article ID: 6104738. <https://doi.org/10.1155/2019/6104738>
- [37] Li, G., Han, N., Zhang, X., *et al.* (2018) Local Injection of Allogeneic Stem Cells from Apical Papilla Enhanced Periodontal Tissue Regeneration in Minipig Model of Periodontitis. *BioMed Research International*, **2018**, Article ID: 3960798. <https://doi.org/10.1155/2018/3960798>
- [38] Liu, J., Yu, F., Sun, Y., *et al.* (2015) Concise Reviews: Characteristics and Potential Applications of Human Dental Tissue-Derived Mesenchymal Stem Cells. *Stem Cells*, **33**, 627-638. <https://doi.org/10.1002/stem.1909>
- [39] Cui, Y., Xie, J., Fu, Y., *et al.* (2020) Berberine Mediates Root Remodeling in an Immature Tooth with Apical Periodontitis by Regulating Stem Cells from Apical Papilla Differentiation. *International Journal of Oral Science*, **12**, Article No. 18. <https://doi.org/10.1038/s41368-020-0085-7>
- [40] Chrepa, V., Pitcher, B., Henry, M.A., *et al.* (2017) Survival of the Apical Papilla and Its Resident Stem Cells in a Case of Advanced Pulpal Necrosis and Apical Periodontitis. *Journal of Endodontics*, **43**, 561-567. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2016.09.024>
- [41] 王熙, 李健. 人牙槽骨髓间充质干细胞成骨诱导分化[J]. 全科口腔医学电子杂志, 2016, 3(18): 11-12. <https://doi.org/10.16269/j.cnki.cn11-9337/r.2016.18.008>

- [42] Mason, S., Tarle, S.A., Osibin, W., *et al.* (2014) Standardization and Safety of Alveolar Bone-Derived Stem Cell Isolation. *Journal of Dental Research*, **93**, 55-61. <https://doi.org/10.1177/0022034513510530>
- [43] Wang, X., Xing, H., Zhang, G., *et al.* (2016) Restoration of a Critical Mandibular Bone Defect Using Human Alveolar Bone-Derived Stem Cells and Porous Nano-HA/Collagen/PLA Scaffold. *Stem Cells International*, **2016**, Article ID: 8741641. <https://doi.org/10.1155/2016/8741641>
- [44] 谢梦生. CKIP-1 修饰的骨髓间充质干细胞对骨质疏松大鼠牙槽骨缺损修复的影响研究[D]: [硕士学位论文]. 南宁: 广西医科大学, 2019.
- [45] 姜杨杨, 姜竹玲, 刘明月, 等. DSCs 及其在再生医学中的应用进展[J]. 医学综述, 2018, 24(12): 2334-2338.
- [46] 李晓东, 田卫东, 江宏兵. PLGA 支架材料的制作及复合牙胚间充质干细胞的组织工程化研究[C]//中国康复医学会修复重建外科专业委员会. 中国康复医学会修复重建外科专业委员会第十四次全国学术交流会论文集. 2004: 66-67.
- [47] Sismanoglu, S. and Ercal, P. (2023) Effects of Calcium Silicate-Based Cements on Odonto/Osteogenic Differentiation Potential in Mesenchymal Stem Cells. *Australian Endodontic Journal*, **49**, 66-74. <https://doi.org/10.1111/aej.12615>
- [48] Ramazanoglu, M., Moest, T., Ercal, P., *et al.* (2021) The Effect of Polyethylenglycol Gel on the Delivery and Osteogenic Differentiation of Homologous Tooth Germ-Derived Stem Cells in a Porcine Model. *Clinical Oral Investigations*, **25**, 3043-3057. <https://doi.org/10.1007/s00784-020-03625-6>
- [49] 蒙盛子, 刘蓉, 罗雅馨, 等. 牙囊干细胞应用于牙及牙周组织再生修复的前景及临床转化价值[J]. 中国组织工程研究, 2022, 26(19): 3095-3099.
- [50] 詹天乐. 牙髓干细胞和牙囊细胞成骨能力的比较[C]//中华口腔医学会口腔生物医学专业委员会. 2018 全国口腔生物医学学术年会论文汇编. 2018: 2.
- [51] Yang, H., Li, J., Hu, Y., *et al.* (2019) Treated Dentin Matrix Particles Combined with Dental Follicle Cell Sheet Stimulate Periodontal Regeneration. *Dental Materials*, **35**, 1238-1253. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2019.05.016>
- [52] 杨禾丰. 牙本质基质颗粒联合牙囊细胞膜片再生牙周组织的实验研究[D]: [博士学位论文]. 昆明: 昆明医科大学, 2016.