

doi:10.3969/j.issn.2095-4344.2012.41.033

[http://www.crter.org/crter-2012-qikanquanwen.html]

于海涛, 古力巴哈·买买提力. 牙周膜干细胞与牙周组织的再生[J]. 中国组织工程研究, 2012, 16(41):7768-7771.

## 牙周膜干细胞与牙周组织的再生★

于海涛, 古力巴哈·买买提力

新疆医科大学第五附属医院口腔科, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市830011

于海涛★, 1977年生, 山东省威海市人, 汉族, 2009年新疆医科大学毕业, 硕士, 主要从事口腔修复的研究。  
yht555@yeah.net

通讯作者: 古力巴哈·买买提力, 硕士, 主任医师, 新疆医科大学第五附属医院口腔科, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市830011  
guli51287@yahoo.com.cn

中图分类号:R318  
文献标识码:A  
文章编号: 2095-4344  
(2012)41-07768-04

收稿日期: 2012-05-20  
修回日期: 2012-07-10  
(20110820004/D·C)

**文章亮点:** 总结了牙周膜中的祖细胞或干细胞的特性和近期对于牙周膜干细胞的表面标志的一些研究新亮点, 表明应用组织工程技术将牙周膜内具有再生能力的干细胞培养在三维支架上, 然后再种植至缺损的部位可能会克服很多目前再生医学所遇到的障碍。

**关键词:** 牙周膜干细胞; 牙周组织再生; 体外培养; 再生; 组织工程; 干细胞

### 摘要

**背景:** 牙周组织再生过程中再生细胞数量和生物学功能的不足是造成组织再生困难的主要原因。

**目的:** 就近年来牙周膜干细胞在牙周组织再生中的研究进展及未来展望作一综述。

**方法:** 由第一作者检索 Pubmed 数据库 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>)、中国知网数据库 (<http://www.cnki.net/>) 2000年1月至2012年7月有关牙周膜干细胞分离、鉴定、相关细胞因子等方面的文献, 英文检索词为“periodontal ligament stem cell”, 中文检索词为“牙周膜, 干细胞”。排除重复性研究, 最终纳入26篇文献进行综述。

**结果与结论:** 利用组织工程的方法, 将牙周膜干细胞作为牙周组织再生的种子细胞, 在体外培养扩增后移植至缺损区, 可有效增进牙周附着结构的再生并缩短愈合周期。对牙周膜干细胞的研究已成为目前牙周组织工程领域中的重点课题。

## Role of periodontal ligament stem cells during regeneration of periodontal tissue

Yu Hai-tao, Maimaitili·Gulibaha

### Abstract

**BACKGROUND:** It is difficult to regenerate the periodontal tissue because the number of stem cells is not enough and their biological function is insufficient.

**OBJECTIVE:** To summarize the progress and perspective of periodontal ligament stem cells for the periodontal tissue regeneration in dentistry.

**METHODS:** The first author searched PubMed database and CNKI database (2000-01/2012-07) for articles regarding isolation, identification, and relevant factors of periodontal ligament stem cells published between January 2000 and July 2012 using the key words of “periodontal ligament stem cells” in English and “periodontal ligament, stem cells” in Chinese. Repetitive articles were excluded, and 26 articles were included in the final analysis.

**RESULTS AND CONCLUSION:** Using tissue engineering technology, periodontal ligament stem cells were used as the seed cells of periodontal tissue regeneration and transplanted into the defected area after in vitro culture and amplification. Results showed that periodontal ligament stem cells can promote the regeneration of periodontal attachment tissue and shorten the healing period. The study of periodontal ligament stem cells has become a key point in the field of tooth tissue engineering.

Yu HT, Maimaitili·Gulibaha. Role of periodontal ligament stem cells during regeneration of periodontal tissue. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2012;16(41): 7768-7771.

## 0 引言

间充质干细胞在再生医学中的成功应用极大地推动了以干细胞为基础的牙组织工程的研究<sup>[1]</sup>。牙周组织再生的关键是牙周膜细胞,但牙周组织再生过程中再生细胞数量和生物学功能的不足,导致牙周组织很难达到有效的组织再生和功能重建<sup>[2]</sup>。利用组织工程的方法,在体外培养扩增种子细胞并移植至缺损区,可有效增进牙周附着结构的再生和缩短愈合周期。2004年 Seo 等<sup>[3]</sup>首次发现牙周组织发育完成后存在于牙周膜中的未分化间充质细胞具有自我更新和多向分化等成体干细胞的特点,能形成牙骨质-牙周膜样复合体,故将其命名为牙周膜干细胞。本文对牙周膜干细胞的特征、表面标志及未来展望作一综述。

## 1 资料和方法

**1.1 资料来源** 由第一作者于 2012-07-01 进行检索。检索数据库: Pubmed 数据库 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>)、中国知网数据库(<http://www.cnki.net/>)。资料的检索时间范围为 2000 年 1 月至 2012 年 7 月。英文检索词为“periodontal ligament stem cell”,中文检索词为“牙周膜,干细胞”。

**1.2 入选标准** 纳入标准: ① 文章所述内容需与牙周膜干细胞生物学特性等方面的研究密切相关。② 同一领域选择近期发表或在权威杂志上发表的文章。排除标准: 重复性研究。

**1.3 质量评估** 纳入标准的 26 篇文章中,基础研究和动物实验研究原著 23 篇,临床研究 3 篇。

## 2 结果

**2.1 纳入文献基本情况** 初检得到 264 篇文献,中文 41 篇,英文 223 篇。阅读标题和摘要进行初筛,排除因研究目的与此文无关 186 篇,内容重复性的研究 52 篇,共保存 26 篇中英文文献做进一步分析。

## 2.2 结果描述

**2.2.1 牙周组织愈合、再生过程中的干细胞** 牙周组织由牙龈、牙周韧带、牙骨质和牙槽骨组成,这一复杂结构使牙周组织损伤后以一种特殊的方式愈合,即在传统的根面平整术后,新生的牙龈上皮细胞沿着感染的根面爬行,形成长结合上皮<sup>[4]</sup>。牙周组织新附着的形成一直是牙周炎的治疗目标,牙周组织的再生需要新生的牙周纤维嵌入在新生的牙骨质和牙槽骨之间。但是,目前的牙周再生技术还无法获得这种理想的、可预见性的治疗结果<sup>[5-6]</sup>。

牙周韧带在牙周再生过程中起着至关重要的作用,从生物学角度来看,在牙周再生领域能否取得新的突破,关键取决于能否促使那些有再生能力细胞群的增殖。已有研究表明牙周组织中只有牙周韧带而非牙龈结缔组织或骨组织,包含能在牙骨质与牙槽骨之间建立新附着的细胞<sup>[2]</sup>。研究发现牙周组织中含有可继续增殖分化的细胞,大多数学者认为它们是能分化为成纤维细胞、成骨细胞、成牙骨质细胞的前体细胞<sup>[7]</sup>;称之为祖细胞或干细胞<sup>[5-8]</sup>。

牙周膜细胞是一群复杂的细胞群,包括成纤维细胞、成骨细胞、成牙骨质细胞和间充质细胞,这些细胞在表型及功能上有所不同、存在着差异,即异质性;而且只有部分成分具有自我更新能力<sup>[8]</sup>。由于干细胞的自我更新、增殖、分化的能力,学者们一直期望在牙周组织缺损的情况下能出现大量的利于牙周再生的牙周膜干细胞。所以,对牙周膜干细胞的培养、分离纯化、鉴定等相关研究有着重要的理论研究价值和显著的临床意义。

间充质干细胞是在体外具有广泛的增殖和分化成基质细胞潜能成纤维样细胞的克隆群<sup>[9]</sup>。按照这一标准, Seo 等<sup>[3]</sup>在成人牙周组织中鉴别出能被划分为间充质干细胞的细胞群,即牙周膜干细胞,这些牙周膜干细胞在与骨髓间质干细胞均具有相同生长因子的培养基内显示了生成克隆性黏附细胞群体的能力。Lang 等对小型猪牙槽骨及牙周膜细胞进行培养传代后,结合 ePTFE 膜回植至自体根尖及牙间缺损内,结果可见细胞植入组较单纯

Department of  
Stomatology, Fifth  
Affiliated Hospital of  
Xinjiang Medical  
University 830054,  
Urumqi 830011,  
Xinjiang Uyghur  
Autonomous Region,  
China

Yu Hai-tao★, Master,  
Department of  
Stomatology, Fifth  
Affiliated Hospital of  
Xinjiang Medical  
University 830054,  
Urumqi 830011,  
Xinjiang Uyghur  
Autonomous Region,  
China  
yht555@yeah.net

Corresponding  
author:  
Maimaitili·Gulibaha,  
Master, Chief  
physician,  
Department of  
Stomatology, Fifth  
Affiliated Hospital of  
Xinjiang Medical  
University 830054,  
Urumqi 830011,  
Xinjiang Uyghur  
Autonomous Region,  
China  
guli51287@  
yahoo.com.cn

Received: 2012-05-20  
Accepted: 2012-07-10

GTR 组有更多的新生牙骨质、牙槽骨及牙周膜形成。Dogan 等<sup>[10]</sup>将体外培养扩增的犬牙周膜细胞与富含血小板的自体血浆复合后, 再植入手术制备的第二、四前磨牙牙周 II 型根分叉缺损处, 42 d 后组织学检查发现细胞移植组牙骨质生成、牙槽骨再生以及新生结缔组织附着均明显多于对照组。

**2.2.2 牙周膜干细胞的表面标志** 虽然早已有研究证明牙周组织内含有干细胞, 但是干细胞的特性如自我更新、克隆、多向分化潜能最近才被证实<sup>[11]</sup>。为了鉴别牙周膜中的祖细胞或干细胞, 确定他们在牙周膜中的位置, 很有必要用鉴定间充质干细胞的标志在体外分离牙周膜干细胞。但是, 要从牙周组织这样含有大量成纤维细胞的结缔组织里提取间充质干细胞仍然会遇到很多挑战。迄今为止, 针对间充质干细胞的单一抗原性标志是不存在的, 所以为了分离他们, 必须联合应用多种表面标志物<sup>[12]</sup>。

对人牙髓间充质干细胞的研究发现, 该细胞表达基质细胞抗原 1, CD44, integrin b1, 细胞间黏附分子 1, 靶向整合素  $\beta 1$ , TERT, 血管内皮细胞黏附分子 1<sup>[13]</sup>, D146/MUC-18, 基质细胞衍生因子 1 和碱性磷酸酶<sup>[14]</sup>。把这些牙髓干细胞移植到免疫耐受的小鼠身上后, 会生成有成牙本质样细胞和牙髓样间质衬里的牙本质样结构; 同时, 他们也有分化为脂肪细胞和神经样细胞的能力<sup>[15-17]</sup>。Miura 等<sup>[18]</sup>在脱落的乳牙牙髓内也分离出牙髓干细胞, 免疫组化研究显示这些细胞对基质细胞抗原 1, CD-146/MUC-18 显示阳性, 移植到免疫耐受的小鼠身上后发现脱落的乳牙能够诱导骨形成、牙本质发生, 在小鼠大脑里存活并表达神经组织的标志物。利用冰冻牙髓和骨髓切片的后续研究证实间充质干细胞定位在血管周围, 而且他们的细胞表面均表达基质细胞抗原 1, CD146 和平滑肌肌动蛋白, 这些细胞的血管周定位与以往牙周干细胞的组织定位相一致<sup>[19]</sup>。

牙周膜包含多种可以分化为成牙骨质细胞和成骨细胞的细胞群。其中, 牙周膜细胞还有许多成骨样特性, 它能在体外形成矿化结节并表达与骨相关的标志物如碱性磷酸酶和骨涎蛋白等, 它还能对甲状旁腺素、胰岛素样生长因子、骨形态发生蛋白 2 等骨诱导因子做出反应。Seo 等<sup>[3]</sup>利用类似于分离乳牙或恒牙牙髓干细胞的方法成功分离了牙周组织中的多潜能干细胞。结果发现, 被鉴别的牙周膜干细胞具有和其他各种间充质干细胞同样的形成成纤维样细胞克隆的能力; 免疫组化结果显示牙周膜干细胞表达间充质

干细胞的标记物基质细胞抗原 1 和 CD146/MUC18; 在矿化诱导培养条件下, 牙周膜干细胞可以表达成牙骨质、成骨样特性标志物, 如碱性磷酸酶、胞外基质糖蛋白, 骨涎蛋白、骨钙素和转移生长因子  $\beta 1$ ; 移植入啮齿类动物后, 它表现出形成牙骨质、牙周膜样结构的能力, 还生成了类似于附着于牙骨质中的穿通纤维样的结构。最近有学者发现牙釉质蛋白 1 通过三维培养可以诱导牙周膜干细胞的分化<sup>[20]</sup>。牙周膜干细胞的克隆能力、高增殖能力及其形成牙骨质、牙周膜样结构的特性都再次表明了其作为一种新的干细胞的独特性。以上结果显示, 牙周膜含有能在体内形成牙骨质、牙周膜样结构的干细胞, 此细胞的组织来源比较容易, 而且能在体外扩增, 很有希望成为重建牙周组织的细胞水平上的治疗手段。随后, 作者从冷冻保存的牙周组织内分离出了牙周膜干细胞, 为这一技术的临床应用提供了更为广阔的间充质干细胞来源<sup>[21]</sup>。

### 3 牙周组织再生的研究前景展望

多年以来, 为了获得牙周组织的再生, 学者们尝试了很多的方法, 如骨移植、根面平整术、引导膜及不同的生长因子等。然而, 现有的治疗手段尚不能获得理想的牙周组织再生, 所以目前的研究策略更加强调整造能够启动并促进牙周组织形成的细胞和微环境。有学者将人牙周膜干细胞在人骨髓间质干细胞和煅烧骨混合培养下形成一种混合细胞巢, 定量观察碱性磷酸酶和成骨分化的影响因子, 在体外培养, 观察到煅烧骨能上调碱性磷酸酶的活性并且可以加速人牙周膜干细胞的矿化。在体内, 将培养的细胞巢移植入免疫功能不全的小鼠体内, 观察到牙骨质牙周韧带的神经血管再生能力增强。表明混合培养的牙周膜干细胞巢可以模仿牙周韧带的微环境, 加强牙骨质牙周韧带的生理构建, 为牙周组织缺损修复提供一定的基础<sup>[22]</sup>。有研究表明发育期根尖组织是由上皮和间充质成分构成、具有整体性的复合体, 是牙根牙周发育的生长中心, 能够提供牙周组织再生的微环境, 促进牙周膜干细胞的分化<sup>[23]</sup>。近来有学者提出分离培养的牙周膜干细胞具有异质性, 通过单细胞克隆培养法发现其中包括各种成体牙周细胞的前体细胞, 说明牙周膜干细胞有可能会有各种亚型之分, 有关牙周膜干细胞特性的研究将会不断深入下去<sup>[24]</sup>。从生物学角度来看, 为了实现牙周再生, 合适的细胞类型和能够促进细胞迁移、黏附、增殖和分化的良好的微环境都需要在时

间和空间上精确地协调好<sup>[25]</sup>。应用组织工程技术将牙周膜内具有再生能力的干细胞培养在三维支架上, 然后再种植至缺损的部位可能会克服很多目前再生医学所遇到的障碍。有研究表明牙周膜干细胞在水溶性甲壳素的调节下, 合成胶原的能力增强, 有利于软组织缺损的修复<sup>[26]</sup>。而且, 从多余的牙齿如第三磨牙上预备的牙周组织能为其他牙齿提供了用于牙周组织再生的干细胞。可以推断, 在体内对那些能够产生新附着干细胞的研究将会推动牙周组织再生的重大突破。

组织工程技术治疗牙周缺损的修复、再生有着巨大的潜力和广阔的前景, 分离纯化牙周膜干细胞, 获取理想的基质材料, 完善牙周组织工程动物实验模型等将是今后研究的重点。伴随着多学科、跨专业的技术联合与协作, 由基础实验到临床应用的伟大转变终会实现。

#### 4 参考文献

- [1] Mezey E, Key S, Vogelsang G, et al. Transplanted bone marrow generates new neurons in human brains. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003;100(3):1364-1369.
- [2] Chen SC, Marino V, Gronthos S, et al. Location of putative stem cells in human periodontal ligament. *J Periodontol Res*. 2006;41(6):547-553.
- [3] Seo BM, Miura M, Gronthos S, et al. Investigation of multipotent postnatal stem cells from human periodontal ligament. *Lancet*. 2004;364(9429):149-155.
- [4] Bartold PM, Shi S, Gronthos S. Stem cells and periodontal regeneration. *Periodontol*. 2000;2006,40(1):164-172.
- [5] Bartold PM, McCulloch CA, Narayanan AS, et al. Tissue engineering: a new paradigm for periodontal regeneration based on molecular and cell biology. *Periodontol*. 2000;2000,24(1):253-269.
- [6] Wang HL, Greenwell H, Fiorellini J, et al. Periodontal regeneration. *J Periodontol*. 2005;76(9):1601-1622.
- [7] Pitaru S, Pritzki A, Bar-Kana I, et al. Bone morphogenetic protein 2 induces the expression of cementum attachment protein in human periodontal ligament clones. *Connect Tissue Res*. 2002;43(2-3):257-264.
- [8] Ivanovski S, Gronthos S, Shi S, et al. Stem cells in the periodontal ligament. *Oral Dis*. 2006;12(4):358-363.
- [9] Trubiani O, Orsini G, Caputi S, et al. Adult mesenchymal stem cells in dental research: a new approach for tissue engineering. *Int J Immunopathol Pharmacol*. 2006;19(3):451-460.
- [10] Dogan A, Ozdemir A, Kubar A, et al. Healing of artificial fenestration defects by seeding of fibroblast-like cells derived from regenerated periodontal ligament in a dog: a preliminary study. *Tissue Eng*. 2003;9(6):1189-1196.
- [11] Nagatomo K, Komaki M, Sekiya I, et al. Stem cell properties of human periodontal ligament cells. *J Periodontol Res*. 2006;41(6):303-310.
- [12] Kemp KC, Hows J, Donaldson C. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *Leuk Lymphoma*. 2005;46(11):1531-1544.
- [13] Guo W, Chen L, Ding B et al. Heterogeneous dental follicle cells and the regeneration of complex periodontal tissues. *Tissue Eng Part A*. 2012;18(5-6):459-470.
- [14] Du L, Yang P, Ge S. Stromal cell-derived factor-1 significantly induces proliferation, migration, and collagen type I expression in a human periodontal ligament stem cell subpopulation. *J Periodontol*. 2012;83(3):379-388.
- [15] 贺慧霞,刘洪臣,王东胜,等.人牙周膜干细胞向脂肪细胞方向诱导分化实验[J].*华西口腔医学杂志*,2010,28(2):203-207.
- [16] Gronthos S, Brahimi J, Li W, et al. Stem cell properties of human dental pulp stem cells. *J Dent Res*. 2002;81(8):531-535.
- [17] Tomokiyo A, Maeda H, Fujii S, et al. A multipotent clonal human periodontal ligament cell line with neural crest cell phenotypes promotes neurocytic differentiation, migration, and survival. *J Cell Physiol*. 2012;227(5):2040-2050.
- [18] Miura M, Gronthos S, Zhao M, et al. SHED: stem cells from human exfoliated deciduous teeth. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003;100(10):5807-5812.
- [19] Shi S, Gronthos S. Perivascular niche of postnatal mesenchymal stem cells in human bone marrow and dental pulp. *J Bone Miner Res*. 2003;18(4):696-704.
- [20] Hoz L, Romo E, Zeichner-David M, et al. Cementum protein 1 (CEMP1) induces differentiation by human periodontal ligament cells under three-dimensional culture conditions. *Cell Biol Int*. 2012;36(2):129-136.
- [21] Seo BM, Miura M, Sonoyama W, et al. Recovery of stem cells from cryopreserved periodontal ligament. *J Dent Res*. 2005;84(10):907-912.
- [22] Xie H, Liu H. A novel mixed-type stem cell pellet for cementum/periodontal ligament-like complex. *J Periodontol*. 2012;83(6):805-815.
- [23] Xu L, Tang L, Jin F, et al. The apical region of developing tooth root constitutes a complex and maintains the ability to generate root and periodontium-like tissues. *J Periodontol Res*. 2009;4(2):275-282.
- [24] Singhatanadgit W, Donos N, Olsen I. Isolation and characterization of stem cell clones from adult human ligament. *Tissue Eng Part A*. 2009;15(9):2625-2636.
- [25] Maeda H, Tomokiyo A, Fujii S, et al. Promise of periodontal ligament stem cells in regeneration of periodontium. *Stem Cell Res Ther*. 2011;2(4):33.
- [26] Jung IH, Park JC, Kim JC, et al. Novel Application of Human Periodontal Ligament Stem Cells and Water-Soluble Chitin for Collagen Tissue Regeneration: In Vitro and In Vivo Investigations. *Tissue Eng Part A*. 2012;18(5-6):643-653.

来自本文课题的更多信息—

**作者声明:** 文章为原创作品, 数据准确, 内容不涉及泄密, 无一稿两投, 无抄袭, 无内容剽窃, 无作者署名争议, 无与他人课题以及专利技术的争执, 内容真实, 文责自负。