

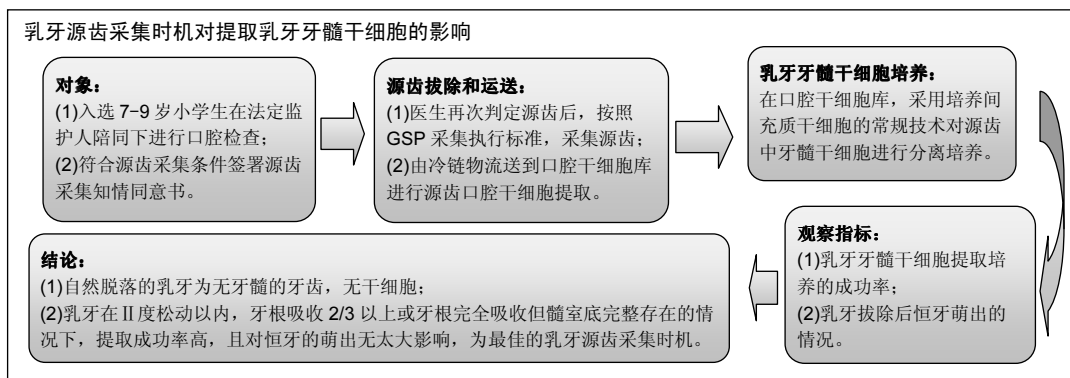
乳牙牙根吸收情况对乳牙牙髓干细胞提取结果的影响

邹智群¹, 杨晓宇², 赵秀兰², 马玉实³, 孙境辰³ (¹中国医科大学附属盛京医院大连医院, 辽宁省大连市 116000; ²大连众益口腔医院, 辽宁省大连市 116000; ³北京口腔干细胞库(北京泰盛生物科技有限公司), 北京市 100000)

DOI:10.3969/j.issn.2095-4344.0447

ORCID: 0000-0002-9104-0619(邹智群)

文章快速阅读:



邹智群, 男, 1979 年生, 黑龙江省大庆市人, 满族, 2005 年佳木斯大学口腔医学院毕业, 硕士, 副主任医师, 主要从事口腔颌面外科学及口腔干细胞源齿研究。

中图分类号:R394.2
文献标识码:B
稿件接受: 2017-08-29



文题释义:

细胞治疗: 是指将正常或生物工程改造过的人体细胞移植或输入患者体内, 新输入的细胞可以替代受损细胞或者具有更强的免疫杀伤功能, 从而达到治疗疾病的目的。细胞治疗在癌症、血液病、心血管病、糖尿病、老年痴呆症等方面显示出越来越高的应用价值。一般来讲, 细胞治疗包括肿瘤细胞免疫治疗、干细胞治疗两大类。细胞治疗的细胞来源有两种, 一种来源于患者自身, 另一种来源于同种异体组织。

源齿: 为制备口腔干细胞种子细胞而拔除的健康无龋有髓的牙齿, 包括乳牙和恒牙。

摘要

背景: 间充质干细胞来源于多种组织, 如骨髓、牙髓、胎盘、脐带和脂肪等, 其中乳牙牙髓间充质干细胞具有强大的干性和生物学活性, 无排异反应, 免疫调节能力强, 是非常优秀的生物治疗细胞来源之一。由于乳牙牙髓间充质干细胞取材方便, 适宜于大规模培养, 因此为牙髓干细胞的产业化奠定了良好基础。

目的: 观察乳牙牙根吸收情况对牙髓干细胞提取结果的影响, 为进一步判断乳牙源齿的拔除时机提供有效的依据。

方法: 采集 173 例小学生 173 颗源齿, 年龄 7-9 岁。在采集前对源齿进行根尖 X 射线片或曲面体层片检查, 检查标准以及方法均遵照世界卫生组织专业检查标准。按牙根吸收情况将乳牙分为牙根吸收 1/3、牙根吸收 1/2、牙根吸收 2/3、牙根完全吸收(髓室底完整)、自然脱落的乳牙 5 种情况, 采集的源齿在拔牙离体后 7 s 内放入培养液中, 于 2-4 °C 的冰箱中保存, 24 h 内由专业的冷链物流送至北京口腔干细胞库进行乳牙牙髓干细胞的提取和保存, 对检测结果进行统计分析。

结果与结论: ①牙根吸收 1/3 的源齿 32 颗, 牙髓干细胞提取成功 30 颗, 成功率 94%, 继承恒牙异位萌出 12 颗, 平均萌出时间(2.19±0.18)个月; ②牙根吸收 1/2 的源齿 35 颗, 牙髓干细胞提取成功 32 颗, 成功率 92%, 继承恒牙异位萌出 11 颗, 平均萌出时间(1.89±0.13)个月; ③牙根吸收 2/3 的源齿 59 颗, 牙髓干细胞提取成功 54 颗, 成功率 92%, 继承恒牙异位萌出 8 颗, 平均萌出时间(1.42±0.12)个月; ④牙根完全吸收但髓室底完整的源齿 37 颗, 牙髓干细胞提取成功 34 颗, 成功率 92%, 继承恒牙异位萌出 2 颗, 平均萌出时间(1.03±0.15)个月; ⑤自然脱落的乳牙 10 颗, 牙髓干细胞提取成功 0 颗, 继承恒牙异位萌出 4 颗, 平均萌出时间(0.65±0.23)个月; ⑥结果表明, 自然脱落的乳牙为无牙髓的牙齿, 无干细胞; 乳牙在 II 度松动以内, 牙根吸收 2/3 以上或牙根完全吸收但髓室底完整存在的情况下, 提取成功率高, 且对恒牙的萌出无太大影响, 为最佳的乳牙源齿采集时机。

关键词:

乳牙; 源齿采集; 牙髓干细胞; 牙根吸收; 干细胞

主题词:

牙; 乳; 牙髓; 干细胞; 牙根吸收; 组织工程

Effect of primary tooth root resorption on the isolation of dental pulp stem cells from primary teeth

Zou Zhi-qun¹, Yang Xiao-yu², Zhao Xiu-lan², Ma Yu-shi³, Sun Jing-chen³ (¹Dalian Hospital, Shengjing Hospital of China Medical University, Dalian 116000, Liaoning Province, China; ²Dalian Zhongyi Stomatology Hospital, Dalian 116000, Liaoning Province, China; ³Beijing Oral Stem Cell Bank (Beijing Taisheng Biotechnology Co., Ltd.), Beijing 100000, China)

Zou Zhi-qun, Master, Associate chief physician, Dalian Hospital, Shengjing Hospital of China Medical University, Dalian 116000, Liaoning Province, China

Abstract

BACKGROUND: Mesenchymal stem cells are derived from a variety of tissues, such as bone marrow, pulp, placenta, umbilical cord and adipose tissue. Mesenchymal stem cells from deciduous pulp have strong stemness and biological activity, no rejection, and strong immunoregulation, which are one of excellent cell sources for biotherapy. It is easy and suitable for large-scale production of mesenchymal stem cells from deciduous pulp, thereby laying a good foundation for the industrialization of dental pulp stem cells.

OBJECTIVE: To investigate the effect of primary tooth root resorption on the isolation and expansion of dental pulp stem cells, in order to further determine the proper period for tooth extraction for pulp stem cell isolation.

METHODS: Totally 173 primary teeth from 173 pupils aged 7-9 years were extracted for the isolation and expansion of dental pulp stem cells. Before tooth extraction, we took X-ray periapical film or orthopantomography of the primary teeth, in accordance with the World Health Organization (WHO) professional inspection standard. Root resorption in primary teeth could be divided into five kinds: root resorption 1/3, root resorption 1/2, root resorption 2/3, complete root resorption, and natural loss of primary teeth. Collected teeth after tooth extraction were placed into a medium within 7 seconds, and stored at in a refrigerator of 2-4 °C. Then, the teeth were sent to the Oral Stem Cell Bank in Beijing within 24 hours by a professional cold-chain logistics for the isolation, expansion and preservation of dental pulp stem cells. Statistical analysis of the test results was performed.

RESULTS AND CONCLUSION: For 32 primary teeth with root resorption 1/3, dental pulp stem cells were successfully extracted from 30 teeth, with a success rate of 94%, and ectopic eruption of permanent teeth was found in 12 cases, with an average eruption time of (2.19±0.18) months. For 35 primary teeth with root resorption 1/2, dental pulp stem cells were successfully extracted from 32 teeth, with a success rate of 92%, and ectopic eruption of permanent teeth was found in 11 cases, with an average eruption time of (1.89±0.13) months. For 59 primary teeth with root resorption 2/3, dental pulp stem cells were successfully extracted from 54 teeth, with a success rate of 92%, and ectopic eruption of permanent teeth was found in 8 cases, with an average eruption time of (1.42±0.12) months. For 37 primary teeth with complete root resorption (the bottom of the pulp was intact), dental pulp stem cells were successfully extracted from 34 teeth, with a success rate of 92%, and ectopic eruption of permanent teeth was found in 2 cases, with an average eruption time of (1.03±0.15) months. For 10 naturally exfoliated primary teeth, dental pulp stem cells were not extracted, and ectopic eruption of permanent teeth was found in 4 cases, with an average eruption time of (0.65±0.23) months. To conclude, the primary teeth naturally exfoliated have no dental pulp with no stem cells; the success rate of extraction is relatively high in primary teeth that have mobility I-II, root resorption 2/3 or complete root resorption but with the complete bottom of the pulp. Moreover, it has no effect on permanent tooth eruption, and it is the best time for collection of primary teeth.

Subject headings: Tooth, Deciduous; Dental Pulp; Stem Cells; Root Resorption; Tissue Engineering

0 引言 Introduction

间充质干细胞来源于多种组织,如骨髓、牙髓、胎盘、脐带和脂肪等,其中来自乳牙牙髓的间充质干细胞具有强大的干性和生物学活性,无排斥反应,免疫调节能力强,是非常优秀的生物治疗细胞来源之一。由于来自乳牙牙髓的间充质干细胞取材方便,适宜于大规模培养,因此为牙髓干细胞的产业化奠定了良好基础。经过国内外专家学者多年研究发现,口腔组织来源的干细胞不但具备所有间充质干细胞的特性,在质量及数量上均优于其他组织来源,特别是在神经再生方面尤为突出^[1-2]。牙齿中含有丰富的干细胞,而且其不可再生,因此,进行相关干细胞的储存具有非常重要的现实意义和特殊的临床价值。以往儿童替牙期脱落的乳牙会被白白扔掉,现在可以从即将脱落的乳牙中提取牙髓干细胞用于临床和基础研究,但是国内尚未发现有乳牙拔除时机选择对牙髓干细胞提取成功影响的研究。为此,通过观察173例乳牙牙根不同吸收情况对提取乳牙牙髓干细胞结果的影响,为今后临床乳牙牙髓干细胞源齿的采集时机提供理论基础。

1 对象和方法 Subjects and methods

1.1 设计 前瞻性、随机、单盲、单中心临床研究。

1.2 时间及地点 于2016年1月至2017年2月在大连众益口腔医院完成乳牙源齿采集,通过冷链运输到北京口腔干细胞库完成细胞提取保存。

1.3 对象 入选2016年1月至2017年2月在大连众益口腔医院进行乳牙牙髓干细胞源齿采集的小学生173例。所有

采集者均由法定监护人签署乳牙牙髓干细胞源齿采集知情同意书(北京口腔干细胞库制作)。

诊断与入选标准:符合《儿童口腔医学》中关于乳牙滞留的诊断标准^[2]。①健康的乳牙无龋坏;②牙根吸收情况:源齿为乳牙滞留,牙根吸收1/3,恒牙已接近萌出或萌出;源齿为乳牙滞留,牙根吸收1/2,恒牙已接近萌出或萌出;源齿为乳牙滞留,牙根吸收2/3,恒牙已接近萌出或萌出;源齿为乳牙滞留,恒牙已接近萌出,牙根基本吸收但髓室底完整存在;源齿为自然脱落的乳牙。

排除标准:①龋坏(含继发龋)乳牙不适宜进行乳牙牙髓干细胞的提取;②存在充填体的乳牙不适宜进行乳牙牙髓干细胞的提取。

1.4 乳牙源齿的采集方法

1.4.1 器械准备 口腔无痛麻醉注射仪(single tooth anesthesia);专用拔牙手术包:口镜、探针、镊子、适合患牙的拔牙钳、牙挺、挖匙、消毒孔巾、敷料、骨膜分离器(备用)。

1.4.2 药品准备 Ultracare盐酸利多卡因表麻膏(美国皓齿公司);阿替卡因肾上腺素注射液(法国碧兰公司);含采集液的采集管(北京口腔干细胞库制作)。

1.4.3 源齿采集的方法 ①拔除牙齿前从冰箱中取出对应采集管(乳牙采用细采集管),注意不要拧开或松动盖子;②按照注意事项中的要求对牙齿进行初步判定,拔除牙齿前,用碘伏等消毒液擦拭牙冠或复方氯己定等含漱液含漱;③按照常规拔牙流程进行源齿拔除;④牙齿拔除后(牙根基本吸收但髓室底完整存在的源齿拔出后用无菌纱布包裹)

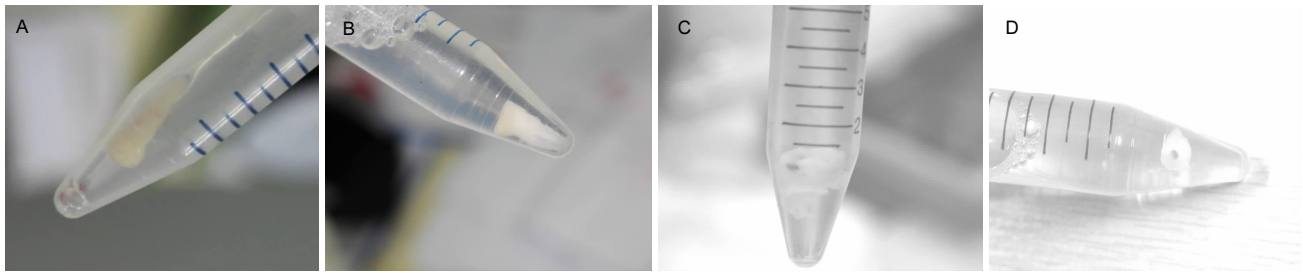


图 1 乳牙拔除后实际情况

Figure 1 The actual situation after primary tooth extraction

图注: 图中 A 为 I 度松动乳牙; B 为 II 度松动乳牙; C, D 为 III 度松动乳牙。

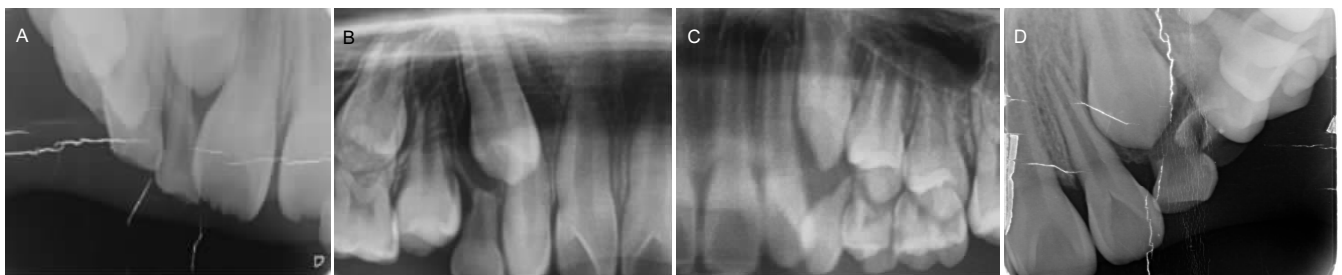


图 2 乳牙根尖 X 射线片

Figure 2 Periapical radiographs of the primary teeth

图注: 图中 A 为乳牙 I 度松动, 根吸收 1/3; B 为乳牙 II 度松动, 根吸收 1/2; C 为乳牙 III 度松动, 根吸收 2/3; D 为乳牙 III 度松动, 根完全吸收。

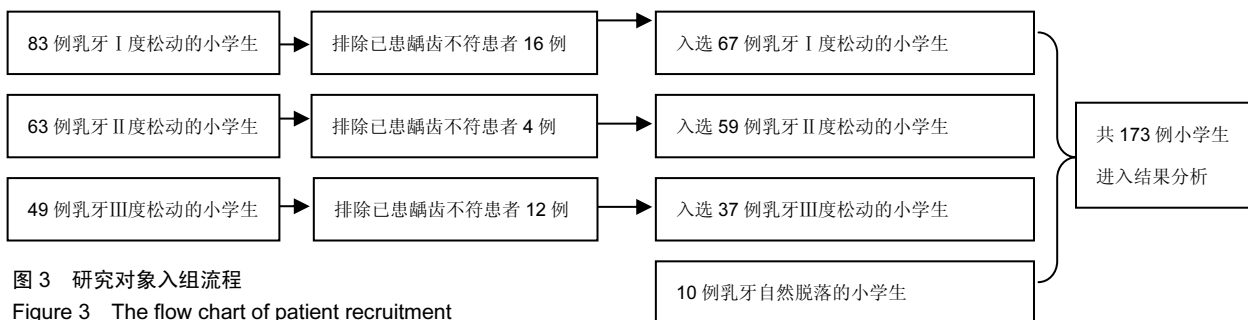


图 3 研究对象入组流程

Figure 3 The flow chart of patient recruitment

表 1 乳牙牙根吸收情况及乳牙牙髓干细胞提取结果

Table 1 Root resorption and extraction of dental pulp stem cells in primary teeth

牙根吸收程度	源齿数量	提取成功数量	百分比(%)
根吸收 1/3	32	30	94
根吸收 1/2	35	32	91
根吸收 2/3	59	54	92
根完全吸收	37	34	92
自然脱落的乳牙	10	0	0 ^a

表注: 牙根吸收 1/3、1/2、2/3 以及牙根完全吸收的各组牙髓干细胞提取成功百分率进行比较, 差异无显著性意义($P > 0.05$); 以上 4 组与自然脱落的乳牙组进行比较, 差异有显著性意义($^aP < 0.05$)。

表 2 乳牙牙根吸收情况对乳牙拔除后恒牙萌出的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Root resorption and eruption of permanent teeth after primary tooth extraction

牙根吸收程度	恒牙萌出异常(n)	恒牙萌出平均时间(月)
根吸收 1/3	12	2.19±0.18 ^a
根吸收 1/2	11	1.89±0.13 ^a
根吸收 2/3	8	1.42±0.12 ^a
根完全吸收	2	1.03±0.15
自然脱落的乳牙	4	0.65±0.23

表注: 与牙根完全吸收组与自然脱落组比较, 差异有显著性意义($^aP < 0.05$)。

迅速拧开收集管盖, 7 s 内放入收集管中, 迅速拧上收集管盖, 确保拧紧, 收集后在采集管上做好标记, 需要在采集管上粘贴条形码、使用低温记号笔填写客户姓名、采集日期等信息, 并避免上下颠倒混匀收集管; ⑤立刻将装有采集液及牙齿的采集管放入 2-4 °C 冰箱内进行冷藏保存(图

1); ⑥填写《源齿采集执行记录》并粘贴条形码, 该采集记录需由医生与相关操作人员共同填写并进行签字确认。
1.4.4 源齿运送的方法 采集的源齿通过冷链物流运输, 运输温度保持在 2-4 °C (在 2-4 °C 条件下放置不超过 72 h 对成功提取牙髓干细胞无显著影响)。运输前检查采集管是

否密封完好, 有无漏液, 并在北京口腔干细胞库物流人员取走源齿时填写《GSP采集执行记录》, 记录时间及运输方式。在运输过程中, 依据温度测量仪记录每时每刻的温度变化, 对从采集到入库的整个流程进行监控和记录。

1.4.5 乳牙牙髓干细胞的培养 由北京口腔干细胞库采用培养间充质干细胞的常规技术对源齿中牙髓干细胞进行分离培养, 并在20 d左右确认是否分离培养成功, 统计提取成功率。牙髓干细胞的具体制备、培养和鉴定方法参考文献[1]。

1.5 主要观察指标 ①乳牙牙髓干细胞提取培养的成功率; ②乳牙拔除后恒牙萌出情况。

1.6 统计学分析 用SPSS 13.0软件进行统计分析, 计数资料以n/%表示, 用 χ^2 检验进行比较, $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

2 结果 Results

2.1 一般资料 173例乳牙牙髓干细胞源齿采集的小学生, 男78例, 女95例, 年龄(8.19±0.15)岁, 体质量(25.98±1.16) kg, 体质量指数(17.35±0.22) kg/m², 心率(68.00±6.00)次/min, 收缩压(116.00±5.12) mm Hg (1 mm Hg=1.133 kPa), 舒张压(80.01±9.15) mm Hg。乳牙根尖X射线片见图2。

2.2 研究对象入组流程 见图3。

2.3 乳牙源齿采集及乳牙牙髓干细胞提取情况 见表1。牙根吸收1/3、1/2、2/3以及牙根完全吸收的各组牙髓干细胞提取成功百分率进行比较, 差异无显著性意义($P > 0.05$); 以上4组与自然脱落的乳牙组进行比较, 差异有显著性意义($P < 0.05$)。

2.4 乳牙源齿采集后恒牙萌出情况 见表2。牙根吸收1/3、1/2以及2/3组的恒牙萌出平均时间进行比较, 差异无显著性意义($P > 0.05$); 以上3组与牙根完全吸收组和自然脱落的乳牙组比较, 差异有显著性意义($P < 0.05$)。

3 讨论 Discussion

间充质干细胞来源于多种组织, 如骨髓、牙髓、胎盘、脐带、脂肪等, 临床试验网站Clinicaltrials.gov显示已注册的临床试验已开展了600多项, 分别涉及血液、心血管、自身免疫、神经系统、糖尿病、组织再生等多个领域, 且治疗上述疾病效果令人满意^[3-16]。人脱落乳牙干细胞具有强大的增殖能力和多向分化潜能, 在适宜的体内或体外环境下可以分化为成骨细胞、脂肪细胞、肌细胞、肝细胞、软骨细胞和基质细胞等多种细胞, 为细胞、组织、器官修复和移植提供了新的细胞来源^[17-36]。

由于中国国民产值不断提高, 生活方式不断改善, 如今的儿童食谱与过去相比减少了很多较硬的成人食谱成分, 因此咀嚼过程对乳牙的影响大为削弱, 导致如今儿童的乳牙相对过去不容易正常脱落替换, 而易于发生滞留,

因此往往需要到医院进行拔除。在过去, 拔除的乳牙作为医疗废弃物被大量丢弃, 而牙髓干细胞的发现和进展, 使得这些废弃物作为牙髓干细胞的重要来源而获得再利用机会, 为牙髓干细胞产业化提供了资源保证。

众所周知乳牙是人体惟一自然脱落器官, 所有组织器官中也只有牙齿具备两套系统, 即乳牙与恒牙。科学家通过大量研究发现儿童的乳牙和20岁之前青少年的恒牙和智齿中富含丰富的间充质干细胞, 可以从牙髓、牙龈、牙周膜等多种组织中获得, 属于间充质干细胞家族的一员。由于人脱落乳牙干细胞取材存储方便, 免疫原性小, 免疫调节能力强, 临床应用安全性好, 在颌面部组织再生及全身系统疾病治疗方面有着巨大前景^[37-40]。因此, 如何选择乳牙采集的时机, 提高乳牙源齿采集成功率, 降低继承恒牙萌出异常的概率是采集源齿临床工作的重点和难点。

3.1 乳牙源齿拔除时机的选择 目前临床上很多医生在对乳牙源齿采集时, 对乳牙拔除的时机不能进行良好的判断, 拔除过早就可能引起恒牙迟萌或恒牙异位萌出, 而乳牙自然脱落时可能残留的冠髓较少或无冠髓, 不能成功提取培养出乳牙牙髓干细胞。作者在源齿的采集中通过分析发现, 牙根吸收1/3的源齿32颗, 牙髓干细胞提取成功30颗, 成功率94%; 牙根吸收1/2的源齿35颗, 牙髓干细胞提取成功32颗, 成功率91%; 牙根吸收2/3的源齿59颗, 牙髓干细胞提取成功54颗, 成功率92%; 牙根完全吸收但髓室底完整的源齿37颗, 牙髓干细胞提取成功34颗, 成功率92%; 自然脱落的乳牙10颗, 牙髓干细胞提取成功0颗。除自然脱落的乳牙采集成功率低, 其他采集成功率差异无显著性意义。对牙齿异位萌出的情况进行统计分析, 结果显示牙根吸收1/3的源齿继承恒牙异位萌出12颗, 牙根吸收1/2的源齿继承恒牙异位萌出11颗, 牙根吸收2/3的源齿继承恒牙异位萌出8颗, 牙根完全吸收但髓室底完整的源齿继承恒牙异位萌出2颗。

本研究是在拍根尖X射线片或曲面体层片明确乳牙滞留诊断后拔除源齿的, 所以出现恒牙异位萌出的原因可能是: ①继承恒牙萌出的方向异常使乳牙牙根未吸收或吸收不全; ②继承恒牙无力, 乳牙根不被吸收。结果显示, 乳牙牙根吸收越好, 拔除后恒牙的萌出越快。通过研究发现, 乳牙接近替换期, 乳牙在II度松动以内, 牙根吸收2/3以上或牙根完全吸收但髓室底完整存在的情况下, 提取成功率高, 且对恒牙的萌出无太大影响, 为最佳的乳牙源齿采集时机。源齿I度松动以内, 建议拍根尖片, 由医师根据实际情况决定是否拔除。在III度松动以上, 只有少量冠髓存在的情况下, 提取成功率低。

3.2 乳牙源齿采集失败的原因分析 导致乳牙牙髓干细胞提取失败的原因多为以下几种: ①源齿采集时发生的感染, 作者采集的乳牙源齿中, 牙根吸收1/3的源齿2颗、牙根吸收1/2的源齿3颗未能提取培养牙髓干细胞, 分析其原因可能是乳牙源齿处于乳恒牙交替时期, 这一时期的乳牙

牙根不断吸收, 因为临床症状不明显和根尖X射线片检查未见明显变化, 一些乳牙的慢性根尖周病、牙震荡外伤等未能及时发现, 导致源齿的牙髓活性降低, 这可能是采集源齿提取牙髓干细胞失败的原因。另外, 儿童的牙龈或牙周组织发生慢性炎症时, 拔除源齿后组织中的细菌和源齿一起带入培养液中, 是否导致源齿采集失败的另一原因还有待于进一步研究证实; ②源齿运输过程中的温度波动较大, 在运输过程中, 依据温度测量仪记录每时每刻的温度变化, 对从采集到入库的整个流程进行监控和记录。本研究173颗乳牙源齿的运送是由北京口腔干细胞库负责的专业恒温的冷链物流, 在2-4 °C条件下放置24 h不会对乳牙源齿提取干细胞造成影响。每次运送的源齿到库时检测温度波动在0.5-1 °C, 避免了因运输过程温度波动过大致使干细胞活性丧失的影响; ③源齿提取过程中实验室的污染^[9]。本研究采集的源齿在分离提取培养过程中未发现源齿牙髓干细胞的污染问题, 说明北京口腔干细胞库以GMP为标准, 避免人为污染, 采集环境和器械的严格消毒, 培养液等物料的严格质检和采集技术的严格培训可有效防止牙髓干细胞污染, 保障牙髓干细胞的质量; ④对于牙根完全吸收的源齿, 在培养液中牙髓可能从牙冠中漂移出来, 导致采集失败。对于牙根完全吸收的源齿, 髓室底犹如开放的通道, 在运输过程中不可避免的震荡就可能会导致牙髓组织脱落到培养液中, 本研究初期牙根吸收2/3的源齿、牙根完全吸收但髓室底完整的源齿运送到口腔干细胞库时只发现少量的新鲜牙髓组织, 这可能是该组源齿采集导致牙髓干细胞培养失败的原因, 后来, 用灭菌纱布包裹牙冠放至培养液中运输, 提取细胞过程中发现, 培养液比较干净, 可能是牙冠本身组织带的血比较多, 纱布包裹后阻止了血清在收集液中的扩散, 降低了污染的风险, 避免了牙髓组织脱落在收集液中, 在培养过程中不容易产生组织碎屑等, 细胞生长比较快, 生长速度稳定, 牙髓干细胞提取培养成功率较高。

3.3 提高乳牙源齿采集成功率的对策 在采集乳牙源齿前, 对儿童乳牙源齿进行筛选也是保证乳牙牙髓干细胞提取成功的关键, 尽量避免选择龋坏(含继发龋)乳牙作为干细胞源齿, 若属浅龋或中龋, 需将龋坏部位清除后再进行拔除储存; 若为深龋则不建议储存, 感染风险大, 提取成功率低; 存在充填体的乳牙, 需拍摄X射线片判断原龋坏深度, 若原龋坏属浅龋或中龋, 建议做牙髓活力测试, 可尝试进行干细胞储存; 若原龋坏为深龋则不建议储存, 感染风险大, 提取成功率低。

由于生活方式不断改善, 儿童食谱与过去相比减少了很多较硬的成人食谱成分, 因此咀嚼过程对乳牙的影响大为削弱, 导致儿童乳牙不容易正常脱落替换, 往往需要到医院进行拔除。在过去, 拔除的乳牙作为医疗废弃物被大量丢弃, 而牙髓干细胞的发现和研究进展, 使得这些废弃物作为牙髓干细胞的重要来源而获得再利用机会, 为牙髓

干细胞产业化提供了资源保证。

通过对乳牙牙髓干细胞提取失败原因的分析, 作者认为在临床采集过程中, 提高医生源齿采集标准的判断分析, 采用符合国家要求的采集运输流程, 注意防范医学伦理隐患, 就可以提高源齿干细胞的采集成功率。

作者贡献: 实验设计为邹智群, 实验实施为杨晓宇, 实验评估为邹智群、赵秀兰, 资料收集为邹智群、孙境辰、马玉实。

经费支持: 该文章没有接受任何经费支持。

利益冲突: 所有作者共同认可文章无相关利益冲突。

伦理问题: 研究用人体组织的实验方案符合相关伦理学要求, 文章的撰写与编辑修改后文章遵守了国际医学期刊编辑委员会《学术研究实验与报告和医学期刊编辑与发表的推荐规范》。

文章查重: 文章出版前已经过 CNKI 反剽窃文献检测系统进行 3 次查重。

文章外审: 文章经国内小同行外审专家双盲外审, 符合本刊发稿宗旨。

作者声明: 第一作者对研究和撰写的论文中出现的不端行为承担责任。论文中涉及的原始图片、数据(包括计算机数据库)记录及样本已按照有关规定保存、分享和销毁, 可接受核查。

文章版权: 文章出版前杂志已与全体作者授权人签署了版权相关协议。

开放获取声明: 这是一篇开放获取文章, 根据《知识共享许可协议》“署名-非商业性使用-相同方式共享3.0”条款, 在合理引用的情况下, 允许他人以非商业性目的基于原文内容编辑、调整和扩展, 同时允许任何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链接该文献, 并为之建立索引, 用作软件的输入数据或其它任何合法用途。

4 参考文献 References

- [1] 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.
- [2] 葛立宏. 儿童口腔医学[M]. 4版. 北京: 人民卫生出版社, 2012.
- [3] Mujoo K, Sharin VG, Bryan NS, et al. Role of nitric oxide signaling components in differentiation of embryonic stem cells into myocardial cells. Proc Natl Acad Sci U S A. 2008; 105(48):18924-18929.
- [4] Kouskoff V, Lacaud G, Schwantz S, et al. Sequential development of hematopoietic and cardiac mesoderm during embryonic stem cell differentiation. Proc Natl Acad Sci U S A. 2005;102(37):13170-13175.
- [5] Phillips BW, Vernochet C, Dani C. Differentiation of embryonic stem cells for pharmacological studies on adipose cells. Pharmacol Res. 2003;47(4):263-268.
- [6] Koay EJ, Athanasiou KA. Hypoxic chondrogenic differentiation of human embryonic stem cells enhances cartilage protein synthesis and biomechanical functionality. Osteoarthritis Cartilage. 2008;16(12):1450-1456.
- [7] Corrales CE, Pan L, Li H, et al. Engraftment and differentiation of embryonic stem cell-derived neural progenitor cells in the cochlear nerve trunk: growth of processes into the organ of Corti. J Neurobiol. 2006;66(13): 1489-1500.
- [8] Inoue T, Sugiyama M, Hattori H, et al. Stem cells from human exfoliated deciduous tooth-derived conditioned medium enhance recovery of focal cerebral ischemia in rats. Tissue Eng Part A. 2013;19(1-2):24-29.

- [9] Nishino Y, Yamada Y, Ebisawa K, et al. Stem cells from human exfoliated deciduous teeth (SHED) enhance wound healing and the possibility of novel cell therapy. *Cytherapy*. 2011;13(5):598-605.
- [10] Aoki H, Hara A, Motohashi T, et al. Iris as a recipient tissue for pigment cells: organized in vivo differentiation of melanocytes and pigmented epithelium derived from embryonic stem cells in vitro. *Dev Dyn*. 2008;237(9):2394-2404.
- [11] Kim D, Dressler GR. Nephrogenic factors promote differentiation of mouse embryonic stem cells into renal epithelia. *J Am Soc Nephrol*. 2005;16(12):3527-3534.
- [12] Wang Z, Ge J, Huang B, et al. Differentiation of embryonic stem cells into corneal epithelium. *Sci China C Life Sci*. 2005;48(5):471-480.
- [13] 唐佩弦.干细胞基础研究的新进展[J]. *基础医学与临床*,2006,26(1):1-11.
- [14] Fei T, Chen YG. Regulation of embryonic stem cell self-renewal and differentiation by TGF-beta family signaling. *Sci China Life Sci*. 2010;53(4):497-503.
- [15] 江中明,季佩红,刘军,等.小鼠胚胎干细胞向成牙本质样细胞的诱导分化[J].*上海口腔医学*,2006,15(6):653-656.
- [16] Kouskoff V, Lacaud G, Schwantz S, et al. Sequential development of hematopoietic and cardiac mesoderm during embryonic stem cell differentiation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005;102(37):13170-13175.
- [17] 王劲松,汪璇,王松灵.人乳牙牙髓干细胞体外表达和分泌胶质细胞源性神经营养因子的研究[J]. *北京口腔医学*,2011,19(5):245-248.
- [18] Grzesik WJ, Narayanan AS. Cementum and periodontal wound healing and regeneration. *Crit Rev Oral Biol Med*. 2002;13(6):474-484.
- [19] 方厂云,翦新春. 干细胞技术应用于口腔医学的希望与困惑[J]. *医学与哲学*,2005,26(2):47-49.
- [20] 毛润一,王璟,林云锋. 诱导多能干细胞研究现状及展望[J]. *国际口腔医学杂志*,2012,39(4):510-512.
- [21] 路娟英,高杰,麻丹丹,等. 干细胞因子促进人乳牙牙髓干细胞增殖与向成骨方向分化[J]. *南方医科大学学报*, 2011, 31(3):531-534.
- [22] Cai J, Li W, Su H, et al. Generation of human induced pluripotent stem cells from umbilical cord matrix and amniotic membrane mesenchymal cells. *J Biol Chem*. 2010;285(15):11227-11234.
- [23] Alipio Z, Liao W, Roemer EJ, et al. Reversal of hyperglycemia in diabetic mouse models using induced-pluripotent stem (iPS)-derived pancreatic beta-like cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010;107(30):13426-13431.
- [24] Martinez-Fernandez A, Nelson TJ, Yamada S, et al. iPS programmed without c-MYC yield proficient cardiogenesis for functional heart chimerism. *Circ Res*. 2009;105(7):648-656.
- [25] Oda Y, Yoshimura Y, Ohnishi H, et al. Induction of pluripotent stem cells from human third molar mesenchymal stromal cells. *J Biol Chem*. 2010;285(38):29270-29278.
- [26] Yan X, Qin H, Qu C, et al. iPS cells reprogrammed from human mesenchymal-like stem/progenitor cells of dental tissue origin. *Stem Cells Dev*. 2010;19(4):469-480.
- [27] Wada N, Wang B, Lin NH, et al. Induced pluripotent stem cell lines derived from human gingival fibroblasts and periodontal ligament fibroblasts. *J Periodontol Res*. 2011;46(4):438-447.
- [28] Miyoshi K, Tsuji D, Kudoh K, et al. Generation of human induced pluripotent stem cells from oral mucosa. *J Biosci Bioeng*. 2010;110(3):345-350.
- [29] Otsu K, Kishigami R, Oikawa-Sasaki A, et al. Differentiation of induced pluripotent stem cells into dental mesenchymal cells. *Stem Cells Dev*. 2012;21(7):1156-1164.
- [30] Cai J, Zhang Y, Liu P, et al. Generation of tooth-like structures from integration-free human urine induced pluripotent stem cells. *Cell Regen (Lond)*. 2013;2(1):6.
- [31] 程晋,侯文文,曹鸿国,等.一种崭新的获取多能干细胞的技术--诱导多能性干细胞[J]. *畜牧与兽医*,2009,41(8):101-103.
- [32] 成德,雷蕾,卢智娟,等.诱导多能干细胞(iPS)的诱导培养与鉴定[J].*生物工程学报*,2010,26(4):421-430.
- [33] Piao LH,Wang W. Application of adult stem cells in neuraltissue engineering.*Neural Regen Res*. 2006;1(6):557-559.
- [34] 金岩,贺慧霞,王亦菁,等.成体干细胞在口腔再生医学的研究进展[J].*牙体牙髓牙周病学杂志*, 2004,14(10):539-543.
- [35] Chen K, Xiong H, Xu N, et al. Chondrogenic potential of stem cells from human exfoliated deciduous teeth in vitro and in vivo. *Acta Odontol Scand*. 2014;72(8):664-672.
- [36] Yamada M, Bringas P Jr, Grodin M, et al. Chemically-defined organ culture of embryonic mouse tooth organs: morphogenesis, dentinogenesis and amelogenesis. *J Biol Buccale*. 1980;8(2):127-139.
- [37] 贺慧霞,史俊南,金岩.成体干细胞在组织工程化牙本质牙髓复合体中的应用研究与展望[J]. *牙体牙髓牙周病学杂志*,2004,14(12):696-700.
- [38] Modino SA, Sharpe PT. Tissue engineering of teeth using adult stem cells. *Arch Oral Biol*. 2005;50(2):255-258.
- [39] 习佳飞,王韞芳,裴雪涛.成体干细胞及其在再生医学中的应用[J].*生命科学*,2006,18(4):328-332.
- [40] Pei D. Regulation of pluripotency and reprogramming by transcription factors. *J Biol Chem*. 2009;284(6):3365-3369.