

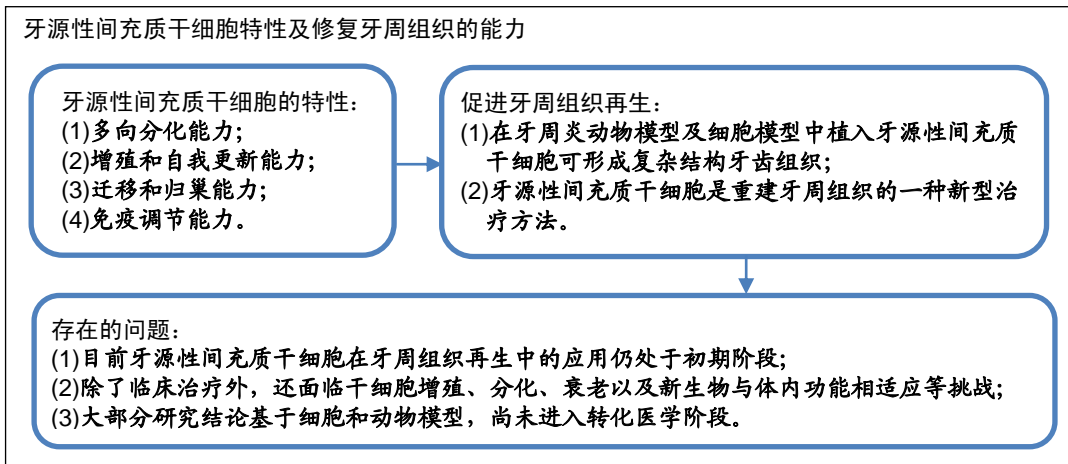
牙源性间充质干细胞促进牙周组织再生的可能性与前景

都沙沙, 蔡智国, 杨 琨, 刘 琪(遵义医学院附属口腔医院牙周科, 贵州省遵义市 563003)

DOI:10.3969/j.issn.2095-4344.1730

ORCID: 0000-0002-1313-2374(都沙沙)

文章快速阅读:



都沙沙, 女, 1991 年生, 贵州省遵义市人, 汉族, 在读硕士, 医师, 主要从事 2 型糖尿病伴牙周炎方面的研究。

通讯作者: 刘琪, 博士, 教授, 遵义医学院附属口腔医院牙周科, 贵州省遵义市 563003

文献标识码:A
稿件接受: 2019-02-12



文题释义:

牙周炎: 是由菌斑微生物引起的牙周组织炎症破坏性疾病, 主要表现为结合上皮破坏致使牙周袋形成, 牙槽骨吸收; 牙周炎的发展过程为活动期与静止期交替出现, 晚期出现牙齿松动、脱落。

牙源性间充质干细胞: 间充质干细胞是一种源自中胚层未分化的多功能干细胞, 可以从胚胎早期阶段或出生后组织(成体干细胞)中分离, 牙源性间充质干细胞主要源于乳牙和恒牙的牙周膜干细胞、根尖乳头衍生干细胞、脱落乳牙干细胞、牙囊干细胞、牙髓干细胞, 能在病理条件下增殖和分化, 具有良好的免疫耐受性, 无异位组织形成, 可作为组织工程和组织修复的理想种子细胞。

摘要

背景: 近年来, 牙源性间充质干细胞在牙周炎模型牙周组织再生中取得了突破性进展, 被认为是牙周组织再生的种子细胞, 也是目前牙周组织重建的研究热点。

目的: 综述牙源性间充质干细胞在牙周组织再生中的研究进展, 并提出牙源性间充质干细胞促进牙周组织再生的潜在机制。

方法: 以“牙周炎、牙源性间充质干细胞、牙周组织再生、多向分化能力、增殖、自我更新、迁移、归巢、免疫调节、衰老、牙周组织修复”为中文检索词; 以“periodontitis, odontogenic mesenchymal stem cells/dental-derived mesenchymal stem cells, periodontal tissue regeneration, multidirectional differentiation, proliferation and self-renewal, migration and homing, immune regulation, aging, repair of periodontal tissue”为英文检索词, 检索 CNKI 与 PubMed 数据库 1995 至 2018 年间相关文献, 纳入 61 篇文献进行综述, 分析牙源性间充质干细胞的相关特性、修复牙周组织的潜在机制及研究进展。

结果与结论: 在牙周炎动物模型及细胞模型中植入牙源性间充质干细胞, 可形成牙周组织。牙源性间充质干细胞是重建牙周组织的一种新型治疗方法, 但目前在牙周组织再生中的应用仍处于初期阶段, 还面临干细胞增殖、分化、迁移和归巢、衰老以及新生物与体内功能相适应等挑战。

关键词:

牙周炎; 牙源性间充质干细胞; 多能分化能力; 细胞迁移; 细胞归巢; 牙周组织再生; 牙周组织修复; 国家自然科学基金

中图分类号: R459.9; R394.2

基金资助:

国家自然科学基金项目(81860196), 项目负责人: 刘琪; 国家自然科学基金项目(81760199), 项目负责人: 杨琨

Dental-derived mesenchymal stem cells promote periodontal tissue regeneration: possibility and prospects

Du Shasha, Cai Zhiguo, Yang Kun, Liu Qi (Department of Periodontology, Hospital of Stomatology, Zunyi Medical University, Zunyi 563003, Guizhou Province, China)

Du Shasha, Master candidate, Physician, Department of Periodontology, Hospital of Stomatology, Zunyi Medical University, Zunyi 563003, Guizhou Province, China

Corresponding author: Liu Qi, MD, Professor, Department of Periodontology, Hospital of Stomatology, Zunyi Medical University, Zunyi 563003, Guizhou Province, China

Abstract

BACKGROUND: In recent years, dental-derived mesenchymal stem cells have made breakthroughs in the periodontal tissue regeneration of a periodontitis model, and they are the seed cells of periodontal tissue regeneration, which is also the hotspot study of periodontal tissue reconstruction

OBJECTIVE: To review the research progress in the use of dental-derived mesenchymal stem cells in periodontal tissue regeneration, and to propose the potential mechanism by which dental-derived mesenchymal stem cells promote periodontal tissue regeneration.

METHODS: The related literatures addressing dental-derived mesenchymal stem cells and periodontal tissue regeneration published from 1995 to 2018 were retrieved in the databases of CNKI and PubMed. The keywords were “periodontitis, odontogenic mesenchymal stem cells/dental-derived mesenchymal stem cells, periodontal tissue regeneration, multidirectional differentiation, proliferation, self-renewal, migration, homing, immune regulation, aging, repair of periodontal tissue” in Chinese and English, respectively. Sixty-one articles were finally reviewed to analyze the characteristics and potential mechanisms of dental-derived mesenchymal stem cells for periodontal repair.

RESULTS AND CONCLUSION: Dental-derived mesenchymal stem cells that are implanted into an animal model of periodontitis or a cell model can differentiate into periodontal tissue. Dental-derived mesenchymal stem cells are a new treatment method for the reconstruction of periodontal tissue. However, its application in periodontal tissue regeneration is still in its infancy, and several challenges, such as stem cell proliferation, differentiation, migration and homing, aging and adaptation of new organisms to the function of the body, need to be overcome.

Key words: periodontitis; dental-derived mesenchymal stem cells; pluripotent differentiation; cell migration; cell homing; periodontal tissue regeneration; periodontal repair; National Natural Science Foundation of China

Funding: the National Natural Science Foundation of China, No. 81860196 (to LQ) and 81760199 (to YK)

0 引言 Introduction

牙周炎是牙周支持组织的一种慢性炎症性疾病,由特定的微生物菌群失调引起,导致结合上皮向根方迁移,形成深牙周袋,牙周膜和牙槽骨逐渐破坏,直至牙齿松动脱落,从而影响患者的咀嚼、发声和美观^[1]。临床常规治疗如龈上洁治、龈下刮治、翻瓣手术等,可阻止疾病进一步发展,但不能诱导牙周组织再生,迫切需要新的有效途径重建牙周组织的复杂结构^[2]。间充质干细胞来源广泛,可以从人体多种组织中获得,如口腔颌面部组织、骨髓、脂肪组织等^[3]。牙源性间充质干细胞能在炎症微环境中快速增殖,具有良好的免疫耐受性和组织兼容性,能多向分化形成特定的牙周组织结构(牙槽骨、牙周膜等),修复缺损^[2],但牙源性间充质干细胞重建牙周组织的机制十分复杂,还有待进一步研究。文章将从牙源性间充质干细胞的性质、修复牙周组织的能力以及涉及的机制3个方面进行综述。

1 资料和方法 Data and methods

1.1 检索数据库 中国生物医学文献库(CBM)、中国知识资源总库(CNKI)系列数据库、中国科技期刊数据库以及PubMed数据库。

1.2 检索途径、检索词及各检索词的逻辑关系 为全面、准确地检索出撰写该综述的相关文献,文章写作过程中综合考虑了检索途径的选择、检索词的选择和各检索词间逻辑关系的配置,制定了科学的检索策略。

1.2.1 检索途径 关键词检索、主题词检索。

1.2.2 检索词 以“牙周炎、牙源性间充质干细胞、牙周组织再生、多向分化能力、增殖、自我更新、迁移、归巢、免疫调节、衰老、牙周组织修复”为中文检索词;以“periodontitis, odontogenic mesenchymal stem cells/dental-derived mesenchymal stem cells, periodontal tissue regeneration, multidirectional differentiation, proliferation and self-renewal, migration and homing,

immune regulation, aging, repair of periodontal tissue”为英文检索词。

1.2.3 检索的时间范围 1995年1月至2018年1月。

1.3 文献筛选流程和筛选标准

1.3.1 文献筛选流程 见图1。

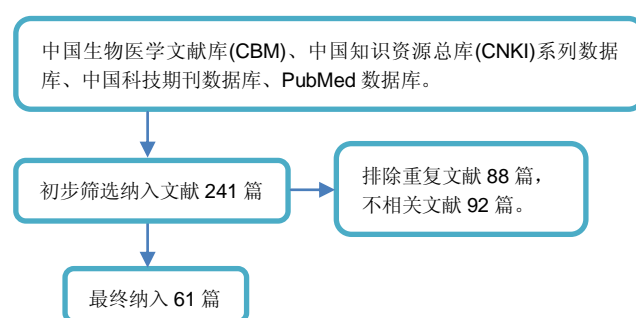


图1 文献筛选流程图

1.3.2 文献的筛选标准 ①牙源性间充质干细胞与牙周组织再生相关的文章; ②与牙源性间充质干细胞多向分化能力相关的文章; ③与牙源性间充质干细胞增殖和自我更新能力相关的文章; ④与牙源性间充质干细胞迁移和归巢相关的文章; ⑤与牙源性间充质干细胞免疫调节相关的文章; ⑥与牙源性间充质干细胞衰老相关的文章。

1.3.3 文献的排除标准 重复性研究,与研究目的无关的文章,较陈旧性文章。

1.4 文献质量评价 通过文献的标题与摘要进行初步筛选,按照纳入排除标准去除重复性文献、非相关性文献、陈旧性文献。通过查阅全文内容,剔除低质量文献,最终纳入文献61篇进行综述。

2 结果 Results

2.1 牙源性间充质干细胞 间充质干细胞是一种源自中胚层未分化的多功能干细胞,可以从胚胎早期阶段或出生后组织(成体干细胞)中分离。成人多种组织中均可获

得,例如骨髓、口腔颌面部组织等。间充质干细胞能在病理条件下增殖和分化,具有修复组织缺损和自我更新的潜力^[4]。研究表明,间充质干细胞可分化为成骨细胞和骨骼肌细胞等^[5],且同种异体间充质干细胞具有良好的免疫耐受性,无异位组织形成。因此,间充质干细胞可作为组织工程和组织修复的理想材料^[6]。

在口腔颌面部区域,牙源性间充质干细胞主要源于乳牙和恒牙的牙周膜干细胞、根尖乳头衍生干细胞、脱落乳牙干细胞、牙囊干细胞和牙髓干细胞。

2.1.1 牙源性间充质干细胞的多向分化能力 人牙周膜中含有间充质干细胞的一个亚群,可以分化为成骨细胞、成纤维细胞、成牙骨质细胞,形成牙骨质和牙周膜样组织,维持牙周组织结构和功能稳定^[7]。牙髓干细胞源自颅神经嵴,位于髓腔内,具有克隆和快速增殖能力,能分化为成牙本质细胞、软骨细胞和脂肪细胞^[8]。Laino等^[9]在体外诱导人牙髓干细胞群分化形成骨样组织,且移植入免疫缺陷大鼠体内可形成板层骨。根尖乳头衍生干细胞和牙囊干细胞在牙萌出前均位于牙胚中,根尖乳头衍生干细胞位于牙乳头前端,牙囊干细胞位于釉质和牙乳头周围的结缔组织,两者均可分化为成牙本质细胞、成牙骨质细胞和脂肪细胞^[10]。免疫缺陷大鼠体内植入根尖乳头衍生干细胞,可以在细胞载体羟磷灰石/磷酸三钙表面形成一层牙本质样组织。由于牙本质主要由成牙本质细胞样细胞分泌而成,因此这些细胞可能源于根尖牙乳头中间充质干细胞样细胞的分化。此外,根尖乳头衍生干细胞是一种独特的多能干细胞,这种细胞可以高水平表达抗细胞凋亡蛋白及人端粒末端转移酶,这两种基因可以调控细胞的增殖。根尖乳头衍生干细胞似乎比牙髓干细胞更具有组织再生的潜能,可能因为根尖乳头衍生干细胞具有更高的增殖能力^[11]。牙囊干细胞可分化为牙周膜成纤维细胞、成骨细胞和成牙骨质细胞的祖细胞^[12]。Guo等^[13]研究发现,载有牙囊干细胞的牙本质基质支架植入小鼠3个不同部位:牙囊干细胞可以在网膜囊内促进牙本质再生;在头颅骨缺损处,牙囊干细胞能促进矿化基质形成;牙囊干细胞还可以在牙槽窝中促进牙根样组织形成牙髓牙本质复合体及似牙骨质样组织间牙周膜。脱落乳牙干细胞是从天然脱落乳牙中分离出来的,能分化为成骨细胞、成牙本质细胞、脂肪细胞和神经细胞等^[14]。Yamada等^[15]将狗脱落乳牙干细胞联合血小板血浆植入小型猪下颌骨缺损处,检测到缺损区域表面覆盖着结构良好的血管化新骨。牙周膜干细胞与牙髓干细胞分化受局部微环境中分子受体、生长因子、转录因子和细胞外基质蛋白等调控,体内外研究显示两者均能诱导形成矿化组织^[16-17]。

2.1.2 牙源性间充质干细胞在炎性微环境中增殖和自我更新能力 任何牙周组织再生或修复的初级阶段均起始于干细胞增殖,以获得能够迁移、归巢和向特定组

织分化的功能性干细胞。克隆的形成和时间依赖性倍增是干细胞自我更新的主要特征。炎性微环境能显著增强间充质干细胞的增殖能力。研究表明,源于牙周炎性组织的牙周膜干细胞比健康牙周组织的牙周膜干细胞具有更高的增殖潜能^[18]。炎性条件下,CXC趋化因子8(CXCL8)和炎性趋化因子5(CC chemokine ligand 5, CCL5)升高是导致牙周膜干细胞快速增殖和克隆形成单位增加的重要原因。然而,炎性趋化因子5只能调节静息状态下牙周膜干细胞增殖能力,目前还未见炎性趋化细胞因子调节牙周膜干细胞增殖的报道^[19]。白细胞介素1(1 μg/L)、肿瘤坏死因子α(10 μg/L)、γ-干扰素(100 μg/L)连续刺激7 d,牙周膜干细胞增殖和克隆形成能力明显增强^[20]。同时,牙龈卟啉单胞菌来源的脂多糖刺激牙周膜干细胞48 h也能上调牙周膜干细胞的增殖能力^[21]。此外,白细胞介素1β(20 μg/L)、肿瘤坏死因子α(40 μg/L)刺激120 h后,还能显著上调健康牙周膜干细胞的生存能力^[22]。然而,高浓度炎性因子反而会抑制牙周膜干细胞的增殖能力,甚至诱导其凋亡。肿瘤坏死因子α联合γ-干扰素显著加速了牙周膜干细胞凋亡进程,其机制可能是高剂量肿瘤坏死因子α将γ-干扰素激活肿瘤坏死因子受体超家族成员6(Fas-6)的非凋亡信号转为半胱天冬酶3(caspase-3)和半胱天冬酶8(caspase-8)等促凋亡相关途径,降低了胞内NF-κB水平,激活细胞凋亡信号,导致牙周膜干细胞凋亡^[23]。

以上研究表明,牙周膜干细胞能在轻度炎性微环境中快速增殖,同时也会在高水平炎性因子介导下凋亡。由此可以推测,牙周膜干细胞对于轻、中度牙周炎具有良好的修复能力。

2.1.3 牙源性间充质干细胞在炎性微环境中迁移和归巢能力 迁移和归巢是间充质干细胞增殖、牙周组织再生和愈合过程中的必经阶段^[14]。新兴研究表明,细胞迁移和归巢是由某些特定细胞分泌的特异性细胞因子和趋化因子或损伤组织释放的特异分子共同介导的。间充质干细胞选择性迁移和归巢在一定程度上决定了炎性微环境中牙周再生组织的质与量,但其机制尚未完全阐明^[24]。

已有研究表明,炎性微环境对间充质干细胞募集和归巢有着积极促进作用^[25]。骨髓间充质干细胞体内趋化性和迁移率在很大程度上受关键归巢受体CXC趋化因子受体4(CXC chemokine receptor 4, CXCR4)的影响,CXCR4的表达主要由炎性微环境调控。牙周膜干细胞在白细胞介素1β(5 μg/L)、肿瘤坏死因子α(10 μg/L)中培养24 h后,CXCR4表达上调,与CXCL12特异性结合,从而增强了牙周膜干细胞迁移和归巢能力,诱导细胞迁移和归巢到特定部位^[26]。但该实验中克隆形成能力尚未增加,表明牙周膜干细胞增殖和归巢两个阶段不能同时激活^[27]。同时,牙周炎性组织释放的趋化因子也能显著

增加牙周膜干细胞迁移能力。此外,除了前文中提到促进牙周膜干细胞增殖外,炎症趋化因子5还能调节牙周膜干细胞迁移和归巢能力。炎症趋化因子5升高显著上调了肌动蛋白细胞骨架、细胞黏附分子、F-肌动蛋白相关基因(ACTG1)的表达,促进细胞迁移信号传导^[19]。

2.1.4 牙源性间充质干细胞的免疫调节能力 Sundin等^[28]首次提出机体对同种异体植入的间充质干细胞仅具有弱免疫原性。间充质干细胞同种异体移植能激活细胞毒性T淋巴细胞,活化的细胞毒性T淋巴细胞将间充质干细胞作为识别靶点,产生较弱免疫排斥反应。

间充质干细胞以剂量依赖性抑制细胞因子和外源性免疫细胞(如T细胞、B细胞、NK细胞、树突状细胞)的产生,还能释放可溶性免疫抑制因子^[29],如转化生长因子 β 、肝细胞生长因子等,抑制前细胞毒性T淋巴细胞向细胞毒性T淋巴细胞分化。因此,间充质干细胞不会被外源性细胞毒性T淋巴细胞或自然杀伤细胞裂解。此外,由于间充质干细胞缺乏II类主要组织相容性复合物和共刺激分子表达,其不能完全被同种异体抗原识别^[30]。

健康的间充质干细胞可以抑制T细胞增殖。有学者将外周血单核细胞分别与健康间充质干细胞和炎症间充质干细胞共培养,研究发现,与炎症间充质干细胞相比,健康间充质干细胞与活化的外周血单核细胞共培养能明显抑制Th17分化及白细胞介素17分泌,而调节性T细胞分化和白细胞介素10分泌增加^[31],说明炎症牙周组织中分离出的间充质干细胞对T细胞功能抑制作用明显低于健康间充质干细胞。根尖乳头衍生干细胞具有较低的免疫原性,能抑制T细胞增殖,还能以剂量依赖性的方式抑制单向混合淋巴细胞反应^[32]。脱落乳牙干细胞显著抑制Th17细胞分化,促进调节性T细胞的产生。系统性红斑狼疮患者全血中输入脱落乳牙干细胞后,外周血中调节性T细胞与Th17细胞之间的比例恢复正常,相关症状减轻^[33],这说明脱落乳牙干细胞具有良好的免疫调节作用。牙髓干细胞能产生转化生长因子 β 并抑制外周血单核细胞增殖,Toll样受体3和Toll样受体4激动剂治疗可增强牙髓干细胞的免疫抑制能力,促进转化生长因子 β 和白细胞介素6的分泌。研究表明,体外培养的牙髓干细胞能上调可溶性因子的表达,抑制外周血单核细胞分泌 γ -干扰素,从而影响外周血单核细胞的增殖。Toll样受体通过上调转化生长因子 β 和白细胞介素6的表达而触发牙髓干细胞的免疫抑制^[34]。因此推测牙髓干细胞可能适用于预防或治疗与器官移植相关的T细胞排斥反应。此外,牙髓干细胞还能诱导活化的T细胞凋亡,并改善结肠炎小鼠相关组织炎症损伤,但敲除FasL基因后降低了牙髓干细胞的免疫调节特性,这表明牙髓干细胞免疫调节与FasL配体的表达有关^[35]。

综上所述,间充质干细胞同种异体移植后,由于具有低免疫原性,不会被免疫细胞(如T细胞、B细胞、NK

细胞、树突状细胞)裂解,是牙周组织再生种子细胞的理想选择。

2.1.5 牙源性间充质干细胞的衰老 有证据表明不同年龄个体中分离的间充质干细胞都有组织再生能力,但间充质干细胞和体细胞一样,其增殖和分化潜能随着年龄的增长逐渐降低。对年轻供者(0-18岁)和老年供者(59-97岁)间充质干细胞的体外生长特性研究发现:年轻供者间充质干细胞能高速增长,镜下观察到特征性的纺锤体形态,且碱性磷酸酶表达低;而老年供者间充质干细胞比例显著下降,生长速率低、寿命短,细胞呈现大而扁平的衰老形态,且与衰老相关的 β -半乳糖苷酶活性表达升高^[36]。Zheng等^[37]观察到微环境对牙周膜干细胞生理学有较大影响。当年轻供者的牙周膜干细胞暴露于老化环境培养基时,其分化功能降低,成骨能力丧失。相反,改变培养环境能恢复其生物活性,逆转与年龄相关的细胞衰老。微环境也是影响间充质干细胞生理学功能的关键因素。因此,间充质干细胞微环境及其信号转导网络对间充质干细胞的影响显著,改善微环境是促进内源性和外源性间充质干细胞再生潜力的重要途径^[38]。

由此可以认为:间充质干细胞“适应性”功能与年龄存在负相关关系,来自年轻供者的牙源性间充质干细胞作为牙周再生工具更具有优势,且间充质干细胞移植后,应控制局部微环境炎症反应。

2.2 牙源性间充质干细胞修复牙周组织的能力 牙源性间充质干细胞具有良好的组织修复能力,在体内成骨能力已经得到证实,可作为同种异体移植的理想载体。牙髓干细胞是成牙本质细胞和成骨细胞的祖细胞,能有效修复实验性牙周炎模型中牙周组织缺损^[39]。脱落牙齿中牙髓干细胞虽不能直接分化为成骨细胞,但可以形成骨诱导模板,招募成骨细胞聚集,诱导新生牙槽骨形成^[40]。

动物模型组织学也表明,牙源性间充质干细胞可以促进牙槽骨再生。牙周膜干细胞治疗大鼠牙槽骨缺损21 d后,检测到大量类似牙骨质和牙周膜样组织的充填物^[41]。研究者将载有牙周膜干细胞的凝胶状支架置入绵羊晚期牙周炎模型牙槽骨缺损处,4周时观察到大量类似成骨细胞的细胞系覆盖于缺损处牙槽骨表面^[42]。这与Yu等^[43]在大鼠模型中得到的研究结果相同。牙髓干细胞与牙周膜干细胞同时植入免疫缺陷小鼠皮下,可见Sharpey样纤维、牙骨质及牙周膜样组织形成^[44]。免疫缺陷小鼠皮下植入根尖乳头衍生干细胞后,检测到典型的牙骨质和牙周膜样组织^[45]。同样,脱落乳牙干细胞也能在免疫缺陷小鼠体内形成牙髓-牙本质样复合物。另外,牙髓干细胞同种异体植入微型猪牙周炎模型中可有效修复牙周软硬组织,且无明显免疫排斥等不良反应^[46],还能修复牙骨质、牙周膜和牙槽骨之间的功能性连接,促进牙周组织重建^[47]。Aimetti等^[48]发表了1篇56岁男性患者第三磨牙牙髓干细胞治疗牙周缺损的临床病例,术

后1年从临床和放射学角度均观察到缺损处大量骨样组织填充。此外, 载有同种异体牙髓干细胞的胶原支架植入人牙槽骨缺损处, 形成新生牙槽骨组织的质量和数量方面均优于其他成骨技术^[49]。以上研究均表明: 牙源性间充质干细胞对牙周组织缺损具有良好的修复能力。

2.3 牙源性间充质干细胞促进牙周组织再生的机制 牙源性间充质干细胞促进牙周组织再生, 必须具备以下3个因素: ①向缺损组织前体细胞分化的能力、强增殖能力; ②足量血液供应; ③分子信号传导。

如前文所述, 牙源性间充质干细胞可以分化为成骨细胞、成纤维细胞和成牙骨质细胞等, 具有多向分化能力。此外, 牙源性间充质干细胞在牙周炎早期主要表现为诱导肉芽组织形成, 进展期则能促进牙周组织中大量稳定的新生血管网形成, 提供丰富的血液^[50]。在缺损处植入脱落乳牙干细胞后, 可观察到缺损处连接受血管的功能性血管形成^[51], 表明牙源性间充质干细胞可以诱导牙周组织血管重建, 促进血液循环。

血液中含有丰富的营养物质, 将分子信号传递到指定部位, 如胰岛素样生长因子1、血管内皮生长因子、转化生长因子等通过新生血管传递到病变位置, 诱导牙髓干细胞分化为成纤维细胞^[52]。同时, 牙髓干细胞还分泌人牙骨质蛋白和I型胶原蛋白, 合成牙周膜中的牙龈牙骨质纤维。牙周膜干细胞还能够产生多肽和蛋白质, 如生物活性因子和营养因子等, 抑制相邻细胞凋亡和炎症反应, 减少组织炎性损伤。研究表明, 生物活性分子如釉质基质衍生物和血小板衍生生长因子等能促进牙周组织再生^[53]。

牙源性间充质干细胞植入动物模型后, 信号分子胰岛素样生长因子1、肿瘤坏死因子 α 、白细胞介素6、制瘤素M和某些细胞(如Th2淋巴细胞和单核细胞)可通过新生血管网到达病变部位。胰岛素样生长因子1能诱导成纤维细胞分泌胶原纤维, 并激活mTOR途径, 诱导成纤维细胞分化为成骨细胞进而分泌骨钙素^[54]。骨钙素可以上调骨形态发生蛋白2、Runt相关转录因子2的表达, 促进成骨细胞合成细胞外基质^[16]。肿瘤坏死因子 α (10 $\mu\text{g/L}$)对牙髓干细胞的增殖和生长周期没有直接影响, 但低浓度(1 $\mu\text{g/L}$)肿瘤坏死因子 α 可以激活NF- κB 途径, 上调矿化相关基因的表达, 如骨形态发生蛋白2、碱性磷酸酶、Runt相关的转录因子2和I型胶原蛋白, 诱导细胞外基质矿化^[55]。白细胞介素6与其家族细胞因子制瘤素M协同作用也能上调碱性磷酸酶表达。碱性磷酸酶是成骨细胞形成的必要因子, 能促进细胞外基质的矿化, 并激活JAK3/STAT3信号通路, 上调成骨相关基因表达, 进而诱导牙髓干细胞分化为成骨细胞^[56]。此外, 细胞外基质金属蛋白酶及金属蛋白酶组织抑制剂在牙周再生中起关键作用。牙周膜干细胞可以抑制基质金属蛋白酶1和基质金属蛋白酶8的活性, 上调金属蛋白酶组

织抑制剂2和金属蛋白酶组织抑制剂4的表达, 使细胞外基质在成骨分化过程中达到最佳状态^[57]。全血中单核细胞和Th2淋巴细胞都能产生白细胞介素10, 促进骨保护素产生。骨保护素能下调RANKL、活化T细胞核因子c1和巨噬细胞集落刺激因子活性, 从而抑制破骨细胞的分化和形成^[58]。

最近, Fu等^[59]提出了间充质干细胞在组织再生中的新机制: ①细胞外囊泡和纳米隧道的形成可使不同细胞相互连接, 并输送各种营养因子。Aliotta等^[60]研究表明受损组织中的细胞通过细胞外囊泡向干细胞传递mRNA或生长因子信号, 诱导干细胞重新编码表型分子, 提高组织对干细胞的亲和力。细胞外囊泡还可诱导受损组织中体细胞增殖。例如, 牙源性间充质干细胞的细胞外囊泡能促进牙周损伤组织中存活的体细胞重新进入细胞周期进而分泌细胞外基质, 促进牙周组织再生^[28]; ②间充质干细胞具有抗细胞凋亡能力, 当间充质干细胞与心肌细胞共培养时, 可以抑制缺血心肌细胞凋亡, 可能是间充质干细胞中线粒体通过纳米隧道管转入心肌细胞内, 恢复了缺血心肌中线粒体的功能^[61]。

以上研究表明, 牙周再生机制十分复杂, 众说纷纭, 目前的研究尚未完全明了, 但在实验性研究已经取得了一定的成果, 见图2。

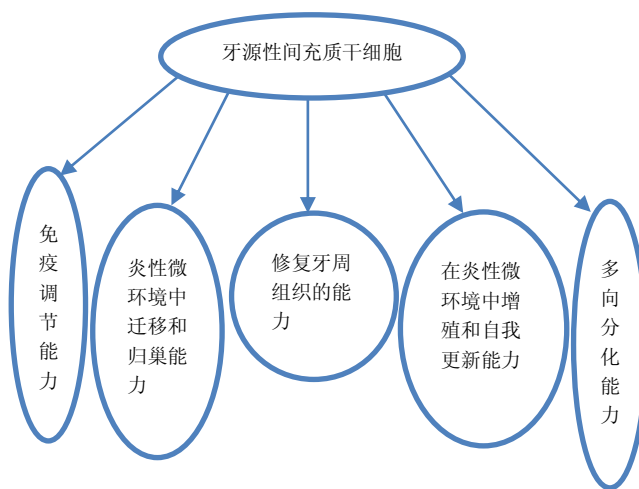


图2 牙源性间充质干细胞促进牙周组织再生的机制

3 结论 Conclusions

牙源性间充质干细胞的应用是一个广而深的探索领域。目前牙源性间充质干细胞在牙周组织再生中的应用仍处于初期阶段, 缺乏对这些细胞生物学特性深度的了解。除了临床治疗外, 还面临干细胞增殖、分化、衰老以及新生物与体内功能相适应等挑战。牙髓干细胞、根尖乳头衍生干细胞和牙周膜干细胞在动物和人体模型中形成牙周组织的实用性还有待研究。已有研究表明, 在不同动物模型中植入牙源性间充质干细胞, 检测到复杂结构牙齿组织形成, 目前体内外实验数据仅提供

了预期的近似值。大部分研究结论基于细胞和动物模型，尚未进入转化医学阶段，也没有研究比较不同牙源性间充质干细胞在牙周再生中的疗效。

生物学、分子学和临床研究数据表明牙源性间充质干细胞修复牙周缺损是一种优于其他途径(如骨粉等)的替代疗法。牙源性间充质干细胞用于牙周组织的重建，在本质上不会危及患者的生命，并且有望成为一种新型治疗方法，有着广阔的前景。由于牙源性间充质干细胞与靶组织具有高度相似性，牙源性间充质干细胞修复牙周组织效果好、风险小，是最理想的选择。

作者贡献: 文章由都沙沙、刘琪共同设计，都沙沙完成写作，蔡志国协作查阅文献和总结，杨琨指导和初次修改，刘琪，杨琨进行盲法评估。

经费支持: 该文章接受了“国家自然科学基金项目(81860196, 81760199)”的资助。所有作者声明，经费支持没有影响文章观点和对研究数据客观结果的统计分析及其报道。

利益冲突: 文章的全部作者声明，在课题研究和文章撰写过程中不存在利益冲突。

写作指南: 该研究遵守《系统综述和荟萃分析报告规范》(PRISMA 指南)。

文章查重: 文章出版前已经过专业反剽窃文献检测系统进行3次查重。

文章外审: 文章经小同行外审专家双盲外审，同行评议认为文章符合期刊发稿宗旨。

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4.0”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] Corlan Puşcu D, Ciuluvică RC, Anghel A, et al. Periodontal disease in diabetic patients - clinical and histopathological aspects. *Rom J Morphol Embryol*. 2016;57(4):1323-1329.
- [2] Chalisserry EP, Nam SY, Park SH, et al. Therapeutic potential of dental stem cells. *J Tissue Eng*. 2017; 8(1):1-17.
- [3] Collart-Dutilleul PY, Chaubron F, De Vos J, et al. Allogenic banking of dental pulp stem cells for innovative therapeutics. *World J Stem Cells*. 2015;7(7):1010-1021.
- [4] Liao J, Yu X, Hu X, et al. lncRNA H19 mediates BMP9-induced osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells (MSCs) through Notch signaling. *Oncotarget*. 2017; 8(32):53581-53601.
- [5] Kim MJ, Kim ZH, Kim SM, et al. Conditioned medium derived from umbilical cord mesenchymal stem cells regenerates atrophied muscles. *Tissue Cell*. 2016;48(5):533-543.
- [6] Rohban R, Pieber TR. Mesenchymal Stem and Progenitor Cells in Regeneration: Tissue Specificity and Regenerative Potential. *Stem Cells Int*. 2017;2017:5173732.
- [7] Seo BM, Miura M, Gronthos S, et al. Investigation of multipotent postnatal stem cells from human periodontal ligament. *Lancet*. 2004;364(9429):149-155.
- [8] Yang X, van der Kraan PM, Bian Z, et al. Mineralized tissue formation by BMP2-transfected pulp stem cells. *J Dent Res*. 2009;88(11):1020-1025.
- [9] Laino G, d'Aquino R, Graziano A, et al. A new population of human adult dental pulp stem cells: a useful source of living autologous fibrous bone tissue (LAB). *J Bone Miner Res*. 2005;20(8):1394-1402.
- [10] Sonoyama W, Liu Y, Fang D, et al. Mesenchymal stem cell-mediated functional tooth regeneration in swine. *PLoS One*. 2006;1:e79.
- [11] Sonoyama W, Liu Y, Yamaza T, et al. Characterization of the apical papilla and its residing stem cells from human immature permanent teeth: a pilot study. *J Endod*. 2008;34(2):166-171.
- [12] Chen FM, Sun HH, Lu H, et al. Stem cell-delivery therapeutics for periodontal tissue regeneration. *Biomaterials*. 2012;33(27): 6320-6344.
- [13] Guo W, Gong K, Shi H, et al. Dental follicle cells and treated dentin matrix scaffold for tissue engineering the tooth root. *Biomaterials*. 2012;33(5):1291-1302.
- [14] Du ZH, Li SL, Ge XY, et al. Comparison of the secretory related molecules expression in stem cells from the pulp of human exfoliated deciduous teeth and dental pulp stem cells. *Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi*. 2018;53(11):741-747.
- [15] Yamada Y, Ito K, Nakamura S, et al. Promising cell-based therapy for bone regeneration using stem cells from deciduous teeth, dental pulp, and bone marrow. *Cell Transplant*. 2011;20(7):1003-1013.
- [16] Ching HS, Luddin N, Rahman IA, et al. Expression of Odontogenic and Osteogenic Markers in DPSCs and SHED: A Review. *Curr Stem Cell Res Ther*. 2017;12(1):71-79.
- [17] Bright R, Hynes K, Gronthos S, et al. Periodontal ligament-derived cells for periodontal regeneration in animal models: a systematic review. *J Periodontol Res*. 2015;50(2): 160-172.
- [18] Yang H, Gao LN, An Y, et al. Comparison of mesenchymal stem cells derived from gingival tissue and periodontal ligament in different incubation conditions. *Biomaterials*. 2013; 34(29):7033-7047.
- [19] Lee JS, Lee JB, Cha JK, et al. Chemokine in inflamed periodontal tissues activates healthy periodontal-ligament stem cell migration. *J Clin Periodontol*. 2017;44(5):530-539.
- [20] Zhang F, Si M, Wang H, et al. IL-1/TNF- α Inflammatory and Anti-Inflammatory Synchronization Affects Gingival Stem/Progenitor Cells' Regenerative Attributes. *Stem Cells Int*. 2017;2017:1349481.
- [21] Zhou L, Dörfer CE, Chen L, et al. Porphyromonas gingivalis lipopolysaccharides affect gingival stem/progenitor cells attributes through NF- κ B, but not Wnt/ β -catenin, pathway. *J Clin Periodontol*. 2017;44(11):1112-1122.
- [22] Tomasello L, Mauceri R, Coppola A, et al. Mesenchymal stem cells derived from inflamed dental pulpal and gingival tissue: a potential application for bone formation. *Stem Cell Res Ther*. 2017;8(1):179.
- [23] Liu Y, Wang L, Kikuri T, et al. Mesenchymal stem cell-based tissue regeneration is governed by recipient T lymphocytes via IFN- γ and TNF- α . *Nat Med*. 2011;17(12):1594-1601.
- [24] Sordi V. Mesenchymal stem cell homing capacity. *Transplantation*. 2009;87(9 Suppl):S42-45.
- [25] Yu Y, Wu RX, Gao LN, et al. Stromal cell-derived factor-1-directed bone marrow mesenchymal stem cell migration in response to inflammatory and/or hypoxic stimuli. *Cell Adh Migr*. 2016;10(4):342-359.
- [26] Ziaei R, Ayatollahi M, Yaghobi R, et al. Involvement of TNF- α in differential gene expression pattern of CXCR4 on human marrow-derived mesenchymal stem cells. *Mol Biol Rep*. 2014; 41(2):1059-1066.
- [27] Yu Y, Bi CS, Wu RX, et al. Effects of short-term inflammatory and/or hypoxic pretreatments on periodontal ligament stem cells: in vitro and in vivo studies. *Cell Tissue Res*. 2016;366(2): 311-328.

- [28] Sundin M, Barrett AJ, Ringdén O, et al. HSCT recipients have specific tolerance to MSC but not to the MSC donor. *J Immunother.* 2009;32(7):755-764.
- [29] Rasmusson I, Ringdén O, Sundberg B, et al. Mesenchymal stem cells inhibit the formation of cytotoxic T lymphocytes, but not activated cytotoxic T lymphocytes or natural killer cells. *Transplantation.* 2003;76(8):1208-1213.
- [30] Uccelli A, Moretta L, Pistoia V. Mesenchymal stem cells in health and disease. *Nat Rev Immunol.* 2008;8(9):726-736.
- [31] Liu D, Xu J, Liu O, et al. Mesenchymal stem cells derived from inflamed periodontal ligaments exhibit impaired immunomodulation. *J Clin Periodontol.* 2012;39(12):1174-1182.
- [32] Ding G, Liu Y, An Y, et al. Suppression of T cell proliferation by root apical papilla stem cells in vitro. *Cells Tissues Organs.* 2010;191(5):357-364.
- [33] Yamaza T, Kentaro A, Chen C, et al. Immunomodulatory properties of stem cells from human exfoliated deciduous teeth. *Stem Cell Res Ther.* 2010;1(1):5.
- [34] Morsczeck C, Völlner F, Saugspier M, et al. Comparison of human dental follicle cells (DFCs) and stem cells from human exfoliated deciduous teeth (SHED) after neural differentiation in vitro. *Clin Oral Investig.* 2010;14(4):433-440.
- [35] Zhao Y, Wang L, Jin Y, et al. Fas ligand regulates the immunomodulatory properties of dental pulp stem cells. *J Dent Res.* 2012;91(10):948-954.
- [36] Kawamura H, Nakatsuka R, Matsuoka Y, et al. TGF- β Signaling Accelerates Senescence of Human Bone-Derived CD271 and SSEA-4 Double-Positive Mesenchymal Stromal Cells. *Stem Cell Reports.* 2018;10(3):920-932.
- [37] Zheng W, Wang S, Ma D, et al. Loss of proliferation and differentiation capacity of aged human periodontal ligament stem cells and rejuvenation by exposure to the young extrinsic environment. *Tissue Eng Part A.* 2009;15(9):2363-2371.
- [38] Li Y, Pan E, Wang Y, et al. Flk-1⁺Sca-1⁻ mesenchymal stem cells: functional characteristics in vitro and regenerative capacity in vivo. *Int J Clin Exp Pathol.* 2015;8(9):9875-9888.
- [39] Aksel H, Huang GT. Human and Swine Dental Pulp Stem Cells Form a Vasculalike Network after Angiogenic Differentiation in Comparison with Endothelial Cells: A Quantitative Analysis. *J Endod.* 2017;43(4):588-595.
- [40] 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.
- [41] Han J, Menicanin D, Marino V, et al. Assessment of the regenerative potential of allogeneic periodontal ligament stem cells in a rodent periodontal defect model. *J Periodontol Res.* 2014;49(3):333-345.
- [42] Mroziak KM, Wada N, Marino V, et al. Regeneration of periodontal tissues using allogeneic periodontal ligament stem cells in an ovine model. *Regen Med.* 2013;8(6):711-723.
- [43] Yu N, Oortgiesen DA, Bronckers AL, et al. Enhanced periodontal tissue regeneration by periodontal cell implantation. *J Clin Periodontol.* 2013;40(7):698-706.
- [44] Shi S, Bartold PM, Miura M, et al. The efficacy of mesenchymal stem cells to regenerate and repair dental structures. *Orthod Craniofac Res.* 2005;8(3):191-199.
- [45] Han C, Yang Z, Zhou W, et al. Periapical follicle stem cell: a promising candidate for cementum/periodontal ligament regeneration and bio-root engineering. *Stem Cells Dev.* 2010;19(9):1405-1415.
- [46] Fu X, Jin L, Ma P, et al. Allogeneic stem cells from deciduous teeth in treatment for periodontitis in miniature swine. *J Periodontol.* 2014;85(6):845-851.
- [47] Khorsand A, Eslaminejad MB, Arabsolghar M, et al. Autologous dental pulp stem cells in regeneration of defect created in canine periodontal tissue. *J Oral Implantol.* 2013;39(4):433-443.
- [48] Aimetti M, Ferrarotti F, Cricenti L, et al. Autologous dental pulp stem cells in periodontal regeneration: a case report. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2014;34 Suppl 3:s27-33.
- [49] D'Aquino R, De Rosa A, Lanza V, et al. Human mandible bone defect repair by the grafting of dental pulp stem/progenitor cells and collagen sponge biocomplexes. *Eur Cell Mater.* 2009;18:75-83.
- [50] Bakopoulou A, About I. Stem Cells of Dental Origin: Current Research Trends and Key Milestones towards Clinical Application. *Stem Cells Int.* 2016;2016:4209891.
- [51] Sakai VT, Zhang Z, Dong Z, et al. SHED differentiate into functional odontoblasts and endothelium. *J Dent Res.* 2010;89(8):791-796.
- [52] Kawai T, Katagiri W, Osugi M, et al. Secretomes from bone marrow-derived mesenchymal stromal cells enhance periodontal tissue regeneration. *Cytotherapy.* 2015;17(4):369-381.
- [53] Liu AQ, Hu CH, Jin F, et al. Contributions of Bioactive Molecules in Stem Cell-Based Periodontal Regeneration. *Int J Mol Sci.* 2018;19(4):E1016.
- [54] Ochiai H, Okada S, Saito A, et al. Inhibition of insulin-like growth factor-1 (IGF-1) expression by prolonged transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1) administration suppresses osteoblast differentiation. *J Biol Chem.* 2012;287(27):22654-22661.
- [55] Qin Z, Fang Z, Zhao L, et al. High dose of TNF- α suppressed osteogenic differentiation of human dental pulp stem cells by activating the Wnt/ β -catenin signaling. *J Mol Histol.* 2015;46(4-5):409-420.
- [56] Feng X, Shen S, Cao P, et al. The role of oncostatin M regulates osteoblastic differentiation of dental pulp stem cells through STAT3 pathway. *Cytotechnology.* 2016;68(6):2699-2709.
- [57] Page-McCaw A, Ewald AJ, Werb Z. Matrix metalloproteinases and the regulation of tissue remodelling. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2007;8(3):221-233.
- [58] Rifas L, Arackal S, Weitzmann MN. Inflammatory T cells rapidly induce differentiation of human bone marrow stromal cells into mature osteoblasts. *J Cell Biochem.* 2003;88(4):650-659.
- [59] Fu Y, Karbaat L, Wu L, et al. Trophic Effects of Mesenchymal Stem Cells in Tissue Regeneration. *Tissue Eng Part B Rev.* 2017;23(6):515-528.
- [60] Aliotta JM, Sanchez-Guijo FM, Dooner GJ, et al. Alteration of marrow cell gene expression, protein production, and engraftment into lung by lung-derived microvesicles: a novel mechanism for phenotype modulation. *Stem Cells.* 2007;25(9):2245-2256.
- [61] Han H, Hu J, Yan Q, et al. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells rescue injured H9c2 cells via transferring intact mitochondria through tunneling nanotubes in an in vitro simulated ischemia/reperfusion model. *Mol Med Rep.* 2016;13(2):1517-1524.