细胞支架复合体在牙周软组织增量中的特点及效果

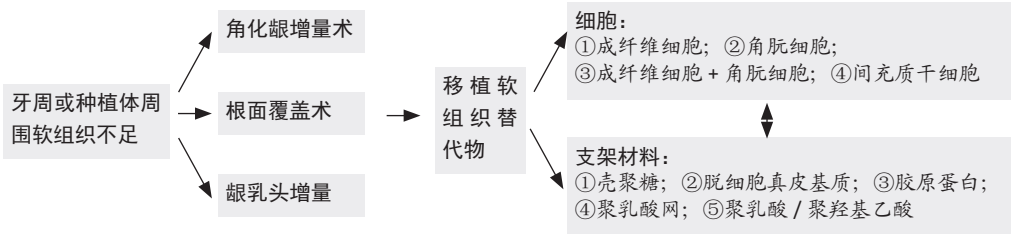
https://doi.org/10.3969/j.issn.2095-4344.3119
投稿日期：2020-07-15
送审日期：2020-07-17
采用日期：2020-08-15
在线日期：2020-10-15
中图分类号：
R459.9；R318.08；R-1
文章编号：
2095-4344(2021)16-02582-07
文献标识码：A

毕浩然，罗雅馨，陈晓旭，杨 琨

文章快速阅读：

文章特点—

△ 就不同细胞结合支架材料在牙周损伤愈合和再生领域的应用，总结其当前的研究进展；
△ 重点关注成纤维细胞联合多种支架在牙周软组织增量术中所取得的效果；
△ 单一细胞结合支架在牙周软组织增量中取得一定疗效，但活细胞构体在临床应用上取得满意效果，提示两种及以上的细胞移植未来将成为治疗牙周软组织不足的新趋势。



文题释义：

细胞支架复合体：将细胞在体外培养后接种于支架材料上，用于构建人工器官或组织已取得了卓越的进展。当前研究多为单一细胞类型或单一培养环境的单相支架，从组织内结构的角度看来，三维支架可能更好地模拟下方包括基底膜在内的复杂内部结构，但仍面临难度大、成本高、耗时长的困难。

牙周软组织增量：是一种改善牙龈及周围黏膜的美学异常、修复体或种植体周围软组织高度与厚度不足的手术，包括冠向复位、侧向复位的根面覆盖术及游离龈移植、双层技术等结缔组织移植。

摘要

背景：牙周软组织量不足带来天然牙及修复体的红白美学问题，导致牙龈炎、种植体周围炎等疾病发生。不同细胞及材料组合的细胞支架复合体可以促进牙周软组织再生，有望取代自体移植物。

目的：综述自体或同种异体成纤维细胞、角质细胞、间充质干细胞结合支架材料应用于牙周软组织增量的研究进展及突破。

方法：在 PubMed、CNKI、万方、Sciencedirect、Medline数据库中进行相关文献检索，以“牙龈退缩，软组织增量，根面覆盖术，上皮下结缔组织移植物”及“gingival recession，soft tissue augmentation，root coverage，subepithelial connective graft”为关键词进行搜索，阅读摘要、结论进行初步筛选，排除与文章主题无关的研究及试验，最后纳入61篇文献进行结果分析。

结果与结论：间充质干细胞在龈乳头增量方面展现出不小的潜力。单纯的成纤维细胞或角质细胞联合胶原蛋白、壳聚糖、脱细胞真皮基质等支架移植在软组织增量上未能取得预期角化龈增量，尽管两种细胞联合胶原蛋白基质表现出更为乐观的结果且当前的支架材料具有良好可塑性、生物相容性，然而成纤维细胞及角质细胞的共培养费时且成本高昂，加上支架材料的构象较为单一，如何解决这些问题仍是一段漫长的过程。

关键词：材料；口腔；支架；牙龈退缩；牙周再生医学；软组织移植物；组织工程学；综述

Characteristics and effects of cell-scaffold composite for periodontal soft tissue augmentation

Bi Haoran, Luo Yaxin, Chen Xiaoxu, Yang Kun
Department of Periodontology, Hospital of Stomatology, Zunyi Medical University, Zunyi 563000, Guizhou Province, China
Bi Haoran, Master candidate, Department of Periodontology, Hospital of Stomatology, Zunyi Medical University, Zunyi 563000, Guizhou Province, China
Corresponding author: Yang Kun, MD, Associate professor, Department of Periodontology, Hospital of Stomatology, Zunyi Medical University, Zunyi 563000, Guizhou Province, China

Abstract

BACKGROUND: Insufficient amount of periodontal soft tissue always brings red-and-white aesthetic problems of natural teeth and restorations, leads to

遵义医科大学附属口腔医院牙周科，贵州省遵义市 563000
第一作者：毕浩然，男，1995 年生，贵州省贵阳市人，汉族，遵义医科大学在读硕士，主要从事牙周组织再生方面的研究。
通讯作者：杨琨，博士，副教授，遵义医科大学附属口腔医院牙周科，贵州省遵义市 563000
https://orcid.org/0000-0001-9274-1954 (毕浩然)
基金资助：国家自然科学基金 (81760199)，项目负责人：杨琨；贵州省科学技术基金计划 (黔科合基础 [2018]1185，黔科合基础 [2020]1Y328)，项目负责人：杨琨
引用本文：毕浩然，罗雅馨，陈晓旭，杨琨 . 细胞支架复合体在牙周软组织增量中的特点及效果 [J]. 中国组织工程研究，2021，25(16):2582-2588.

gingivitis and peri-implant inflammation. Cell scaffold complexes with different cell and material combinations can promote periodontal soft tissue regeneration, which is expected to replace autogenous grafts.
OBJECTIVE: To review the research progress and breakthrough in the application of autologous or allogeneic fibroblasts, keratinocytes, and mesenchymal stem cells in periodontal soft tissue increment.
METHODS: Literature retrieval was conducted in PubMed, CNKI, Wanfang, Sciencedirect, and Medline databases. The key words were "gingival recession, soft tissue augmentation, root coverage, subepithelial connective graft" in English and Chinese. Abstracts were read; conclusions were preliminarily screened; and studies and experiments unrelated to the topic of this paper were excluded. Finally, 61 articles were included for result analysis.
RESULTS AND CONCLUSION: Mesenchymal stem cells show great potential in gingival papilla increment. Transplanting only fibroblasts or keratinocytes combined with collagen, chitosan, acellular dermal matrix and other scaffolds in soft tissue could not achieve the expected keratinized gingival increment. Although the combination of two kinds of cells and collagen matrix showed more optimistic results and the current scaffold materials had good plasticity and biocompatibility, co-culture of fibroblasts and keratinocytes is time-consuming and expensive, and the conformation of scaffold material is relatively single. How to solve these problems will be a long process.
Key words: materials; oral cavity; scaffold; gingival recession; periodontal regenerative medicine; soft tissue graft; tissue engineering; review

Funding: *the National Natural Science Foundation of China, No. 81760199 (to YK); the Science and Technology Fund of Guizhou Province, No. [2018]1185, and No. [2020]1Y328 (to YK)*
How to cite this article: *BI HR, LUO YX, CHEN XX, YANG K. Characteristics and effects of cell-scaffold composite for periodontal soft tissue augmentation. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2021;25(16):2582-2588.*

0 引言 Introduction

牙周软组织量不足一直是牙周及种植领域着重解决的问题之一，患者常由于创伤性刷牙、不当的龈下修复体和牙周炎等原因导致牙周软组织退缩，未及时治疗将会导致暴露根面敏感、美学问题和退缩进一步加重[1]。种植体周围的软组织量直接关系种植体能否抵御菌斑堆积，同时足够的角化龈与种植体紧密结合能够减少种植体周围炎的发生，预防种植体的松动[2]。目前，牙周手术中用于软组织增量的手术主要为：角化龈增量包括自体结缔组织移植瓣、游离龈移植、根面覆盖术及应用较少的龈乳头增量等技术[3]。自体结缔组织移植通常从腭部供区切取一定大小深度的移植物，而第二术区的增加意味着手术时间增加、患者术后疼痛不适，尤其是缺损累及多个牙位时和缺损范围大时腭部供区的组织量有限难以满足手术需要，当供区延伸至腭侧第一磨牙时有可能触及腭大动脉[4]；并且术后增量的角化龈保留了原有供区的特点，患者往往反映与周围软组织颜色、质地不匹配。近年来脱细胞真皮基质、釉基质蛋白等生物材料或制剂的使用可提高软组织获得量，但是自体结缔组织移植仍然是获得更多角化龈的首选[5]。

组织工程结构是为修复或再生损伤组织或器官功能及结构提供的"替换零件"，组织工程学通过将材料学、工程学、生命科学相互结合已在不同的医学领域得到飞速发展，并在代替软骨、骨、血管、肝脏和脊髓得到广泛研究[6]。理想的口腔组织工程结构应具有良好的可塑性，以保证手术中的方便应用及对抗肌肉的牵拉，具有良好的相容性及表面活性，还需确保其优良的生物降解性以避免免疫排斥反应，而多孔性及三维立体结构为种子细胞的更好植入及黏附带来了先决条件[7]。多项研究已证明，不同细胞及材料组合的细胞支架复合体可以促进牙周软组织再生，有望取代自体移植物。该文就不同细胞构成的组织工程结构角度对近年来组织工程学应用于牙周软组织增量中的特点及效果进行综述，并对其将来前景作出讨论。

1 资料和方法 Data and methods

1.1 **文献检索** 应用计算机检索PubMed、CNKI、万方、Sciencedirect、Medline数据库，检索时间设置为1997至2020年。中文检索词为"牙龈退缩，软组织增量，根面覆盖术，上皮下结缔组织移植物"，英文检索词为"gingival recession，soft tissue augmentation，root coverage，shubepithelial connective graft"。

1.2 **文献筛选标准**

纳入标准：①与成纤维细胞、角朊细胞、间充质干细胞相关的文献；②与牙周软组织增量、根面覆盖术相关的临床研究、荟萃分析和系统综述。

排除标准：①与该文主题不相干的文章；②重复性研究；③较为陈旧的文章。

1.3 **质量评估及数据的提取** 共检索到735篇文献，通过阅读文章标题及摘要进行初步筛选，资料收集者共同评估相关文献的重复性、非相关性、陈旧性；通读全文内容后，将61篇文献纳入并进行综述。文献检索流程见**图1**。

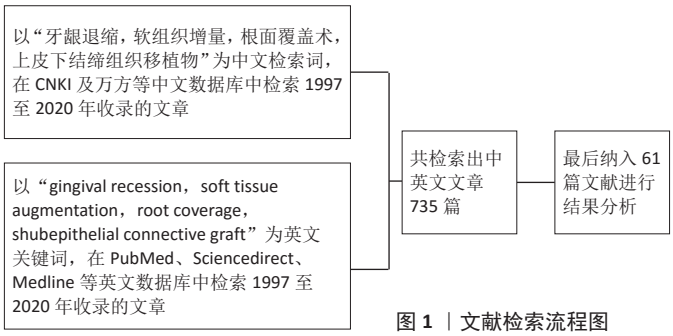


图1 | 文献检索流程图

2 结果 Results

2.1 **成纤维细胞复合体** 不同部位的成纤维细胞具有功能异质性，最早将自体或同种异体成纤维细胞、角质细胞结合透明质酸移植用于治疗大面积烧伤、糖尿病溃疡等[8]。牙龈上皮的特异性分化主要源自于下方结缔组织的原有分化模式[9]，同时牙龈成纤维细胞在细胞外基质中的生态位[10]、发育起源诱导血管生成及重塑细胞外基质作用决定了其在牙周软组织中独特的作用[11-12]。将成纤维细胞结合支架材料在移植部位产生一个代谢活跃的区域，各种材料的支架对邻近细胞在该区域的定植、血管生成和再上皮化产生影响。随着支架消失，成纤维细胞自身分泌的生长因子[13](如：血管内皮生长因子、转

化生长因子、角质细胞生长因子) 和其他蛋白质 (包括：纤维连接蛋白、糖胺聚糖和细胞因子等) 与遗留下的细胞外基质一同帮助重塑细胞外基质。目前已经研究用于成纤维细胞传递的支架材料，包括胶原蛋白支架、透明质酸、聚乳酸网、脱细胞真皮基质和壳聚糖等材料。

2.1.1 自体成纤维细胞的应用 PINI PRATO 等 [14] 将人自体牙龈成纤维细胞在苄基酯化透明质酸上培养，应用于 1 例需要角化龈增量的患者，并取得一定效果。2003 年该作者再次将相同的技术用于 5 例患者上，3 个月后移植部位角化龈数量平均获得了 1.5−2.5 mm，但是移植物需要完全覆盖在受植床上，因此仅适用于无需根面覆盖的软组织增量手术 [15]。数项研究发现，成纤维细胞联合胶原支架材料对细胞增殖、分化及迁移起一定积极作用，而且对伤口的早期愈合起到保护作用 [16-17]。同时 Ⅰ 型胶原组成的支架的抗原性低，当与 3D 打印、涂层及预处理等技术相结合时更能便于细胞黏附和生长 [18]。MOHAMMADI 等 [19] 将人自体牙龈成纤维细胞种植于胶原蛋白支架上应用于 9 例患者进行角化龈增量的自身随机对照试验，分为骨膜开窗术的对照组与加入组织工程结构的试验组，3 个月随访，试验组角化龈获得量 (2.8 mm) 与对照组 (1.9 mm) 差异显著，且对 4 例患者行组织活检后发现试验组与对照组的组织学结果均一致：除单核细胞浸润的纤维血管组织外，角化上皮由致密的结缔组织支撑。KÖSEOĞLU 等 [20] 将自体牙龈成纤维细胞培养于胶原蛋白膜上，与单纯使用胶原蛋白膜作比较得到较好的根面覆盖率。MILINKOVIC 等 [21] 同样采取了自身分口对照的设计，将自体牙龈成纤维细胞移植于脱细胞真皮基质上应用于 18 例拟行根面覆盖术的患者，同自体结缔组织移植瓣作比较，1 年后随访显示，实验部位与对照部位间除角化龈增量上有差异 [(2.79±0.17)，(3.37±0.22) mm] 外，平均根面覆盖率 (89.9%，91.3%)、美学评分等均没有差异，表明了该组织工程结构可能替代自体结缔组织移植瓣。

2.1.2 同种异体成纤维细胞的应用 相对于自体细胞来说，异体成纤维细胞无需术前组织活检获取，同时异体人成纤维细胞的植入免疫反应较弱，并且来源容易获得，当建立稳定的细胞系后将促进后续临床试验及应用的商业化 [22]。由新生儿包皮来源的成纤维细胞株和可水解三维聚乳酸网组成的人成纤维细胞真皮替代物 (HF-DDS)，被广泛用于治疗糖尿病足溃疡。与皮肤移植、伤口敷料或应用生长因子比较发现，HF-DDS 愈合更快、伤口完全愈合概率更高，不良反应发生率也并不显著。MCGUIRE 等 [23] 首次将 HF-DDS 应用于包含 22 例角化龈不足患者的随机对照试验，12 个月随访发现游离龈移植术组 (2.57 mm) 高于 HF-DDS 组 (1.26 mm)，软组织收缩率试验组 (45.5%) 高于对照组 (21.8%)，该作者推测 HF-DDS 的较高收缩率、较低的角化龈增量可能与直接将其暴露于口腔环境有关系；在与周围组织的牙龈质地匹配度 (90.9%，27.3%) 和颜色匹配度 (90.9%，22.7%) 上，HF-DDS 组优于游离龈移植术组。考虑到 HF-DDS 的厚度平均为 250 μm，MCGUIRE 等分别对 17 例患者进行了不同厚度的干预，发现使用三四层的 HF-DDS 比使用单层 HF-DDS 的角化龈增量要高，提示 HF-DDS 的疗效与其层数有关；此外，作者未观察到任何的不良反应。在另一项研究 HF-DDS 研究中，WILSON 等 [24] 通过自身对照分口设计将 HF-DDS 与自体结缔组织移植瓣应用于冠向复位瓣术中进行比较，发现实验部位与对照部位之间退缩深度的减少、角化龈增加、探诊深度、临床附着水平无明显差异，平均根面覆盖率也没有差异，分别为 56.7% 与 64.4%。该研究还将 5 例使用双层移植物与 5 例单层移植物的患者进行比较，发现双层组覆盖值 (2.5 mm) 比单层组 (1.75 mm) 效果更好，再一次证明 HF-DDS 的治疗效果与材料厚度有关。在成纤维细胞的动物实验中，壳聚糖可作为良好的成纤维细胞及生长因子移植负载支架 [25]，壳聚糖是天然甲壳素脱乙酰化的衍生物，其生物相容性良好、可塑性强、多孔结构益于细胞附着，有诱导骨形成、抑制牙周微生物的作用 [26]，并在牙周组织再生的研究中取得良好结果 [27]。LOFFI 等 [28] 将犬自体牙龈成纤维细胞负载于壳聚糖体上评价犬角化龈增加量的效果，术后各组角化牙龈平均宽度均增加，单纯壳聚糖对照组和壳聚糖复合体实验组之间没有差异；组织学结果显示，在愈合阶段两组上皮均正常角化，且细胞层数、上皮细胞或炎性细胞浸润均无统计学差异，两组均无不良反应，这与 NOVAES 等 [29] 对脱细胞真皮基质植入牙龈成纤维细胞后的组织学评价相一致。在动物实验中，陈欣戡等 [30] 将碱性成纤维细胞生长因子转染的牙龈成纤维细胞接种于脱细胞真皮基质，然后应用在比格犬中也获得了角化龈增加。

成纤维细胞复合体在软组织增量手术上获得了一定的效果。CARIO 等 [31] 系统回顾发现冠向复位技术 + 脱细胞真皮基质联合自体牙龈成纤维细胞可能成为根面覆盖术中最佳选择的手术方式之一。但是衡量成纤维细胞复合体在软组织增量中的益处，还需增加适当的干预措施，如单独使用支架或只是单纯伤口敷料作为对照及开展大样本多中心的临床研究。同时不同组织来源的成纤维细胞可减少丝裂原和干扰素 γ 的产生及抑制异体抗原刺激的 T 细胞增殖 [32]，提示了异体成纤维细胞的在将来牙周软组织增量中的良好应用前景。

2.2 角质细胞复合体 按部位及功能的不同口腔上皮分为角化或非角化的复层鳞状上皮，主要由角质细胞 (又可称为角质形成细胞) 组成，角化龈表面的角质细胞则分为 4 层：基底层、棘层、颗粒层、角化层，其中角化龈的更新迭代与完整性主要通过角质深层角质干细胞的分化、更新向表面迁移维持。在伤口愈合过程中，角质细胞释放细胞因子和生长因子 (如血管内皮生长因子、转化生长因子 α、表皮生长因子家族的双调蛋白和内皮细胞生长因子样因子) 促血管再生、再上皮化、伤口愈合及减轻炎症。口腔黏膜上皮细胞片也被用于眼表重建，用于治疗食管溃疡及膀胱重建 [33]。角质细胞培养在 1975 年以前一直是个困扰，直到将其与小鼠胚胎 3T3 共培养后发现角质细胞的生长良好，同时为预防 3T3 细胞系过度生长 [34]，使用辐射消除其有丝分裂能力而保留代谢活性。

为解决种植体周围软组织不足的问题，UEDA 等 [35] 将自

体角质细胞与 3T3-J2 细胞在含有胎牛血清的细胞培养基中共培养取得角质细胞上皮片，然而在对 12 例患者的应用中观察到该移植物机械性能不良及难以固定，并且部分移植部位 1 周仍出现渗出、红斑、出血。随后，IZUMI 等 [36] 把自体角质细胞结合脱细胞真皮基质浸泡在必要的信号分子中得到体外制备口腔黏膜替代物，对 5 例参试者进行了牙周软组织增量，固定口腔黏膜替代物于骨膜床分别在 30，90，180 d 随访，试验过程中没有观察到任何受试者出现并发症或不良反应，角化牙龈宽度平均增加 3.0–4.0 mm，角化牙龈厚度平均增加 1.0–2.0 mm，表明口腔黏膜替代物在口腔内使用是安全的并有能力增加牙周软组织量。

NAKANISHI 等 [37-38] 发现口腔黏膜替代物通过释放多种细胞因子和生长因子促进了血管的初始形成，促进了移植后角质形成细胞从伤口边缘的迁移，提示了口腔黏膜替代物中角质细胞起到原位生物反应器的作用。需要注意的是，口腔黏膜替代物中移植细胞的代谢及活力决定了疗效的好坏，使用无创性方法对细胞活力进行检测是必不可少的，如葡萄糖消耗率的检测 [39]、通过观察拉曼光谱指标确定口腔黏膜替代物的热应力或定量血管内皮生长因子 [40]、白细胞介素 8、人 β–防御素 1 及金属肽酶抑制剂 1、2 的释放 [41]，来排除不符合标准的移植物，以提高组织工程结构在制造过程中的质量控制及移植后的作用。未来尚需进一步研究确定口腔黏膜替代物角质细胞表达的特异性细胞因子，以及异体角质细胞构成的口腔黏膜替代物在牙周软组织增量中的应用。

2.3 成纤维细胞 – 角质细胞复合体 成纤维细胞和角质形成细胞是组织愈合过程中的两种主要细胞类型。角质形成细胞和成纤维细胞通过双旁分泌信号环 (称为串扰或动态相互作用) 相互沟通来调节上皮间的动态平衡，协调恢复细胞外基质，促进伤口愈合 [42]，尤其是成纤维细胞释放血管生成因子及刺激内皮细胞的生长确保了移植物的存活 [43]。活细胞构体最早用于治疗糖尿病足溃疡，主要由三维牛胶原基质、角质细胞和人类新生儿包皮来源真皮成纤维细胞组成的双层结构，活细胞构体中成纤维细胞负责细胞外基质的稳态，确保角质细胞的生长和分化，反过来角质细胞形成外部上皮层并提供屏障效应。

MCGUIRE 等 [44] 应用活细胞构体于牙周软组织增量手术中，将 25 例受试者 50 个位点随机分为：活细胞构体实验组和游离龈移植术对照组，3，6 个月后对角化龈增量、质地、颜色进行评价和测量，结果发现游离龈移植术组 (4.5–0.8 mm) 的角化龈增量大于活细胞构体组 (2.4–1.02 mm)，但是活细胞构体组较游离龈移植术组的质地、颜色明显改善 ($P < 0.001$)，患者更偏向于选择活细胞构体 (P=0.041)。MCGUIRE 等 [45] 进一步通过包括 96 例患者的多中心随机对照试验对活细胞构体的效果与游离龈移植术进行比对，6 个月时，游离龈移植术比活细胞构体产生更多的角化牙龈 (分别为 4.6–1.0 mm、3.2–1.1 mm)，但活细胞构体组新生角化龈与相邻牙龈的颜色和质地相匹配。SCHEYER 等 [46] 对上述两项研究的组织学与图像数据分析得出同样结果：与游离龈移植术相比，活细胞构体组的膜龈联合位置更协调、邻近软组织颜色更匹配，且不会形成瘢痕。随后 NEVINS[47] 也证明了其在安全性和角化组织再生方面的相似结果。因此活细胞构体是一种安全有效的角化龈增量方法。

理想的替代移植物材料应该能够再生至少 2 mm 角化龈 [48]，而新增角化龈的美学评价 (包括质地、颜色、外形) 同样至关重要。所以相较游离龈移植术而言，牙周软组织增量中活细胞构体的临床研究取得了突破性进展。2012 年 3 月，使用相同平台技术生产的活细胞构体衍生物 GINTUIT® 获得美国食品及药物管理局批准，成为首个口腔软组织增量的上市产品 [49]。活细胞构体的主要优点是角质细胞和成纤维细胞之间的旁分泌信号 (或称串扰) 在伤口愈合过程中起着关键作用。NEVINS[47] 经过对活细胞构体在移植部位的 DNA 持续性分析，7 周后没有显示活细胞构体在该部位的存在，证明了活细胞构体作为局部伤口愈合剂引导患者自身细胞发育出与周围牙龈相匹配的新组织，而并非单纯的组织移植。事实上，WOJTOWICZ 等 [50] 观察到活细胞构体调节细胞因子和生长因子的表达，包括骨形态发生蛋白、成纤维细胞生长因子、胰岛素样生长因子 1、血小板衍生生长因子和血管内皮生长因子，这与只包括单一细胞类型的组织工程结构都不同，提示上皮再生应同时包括角质细胞和成纤维细胞。值得一提的是，目前的研究多集中于只负载一种细胞类型或单一培养环境的单相支架，从仿生学角度出发，双相和多相或梯度支架可能更好地模拟了下方包括基底膜在内的复杂内部结构 [51]。猪胶原蛋白制成的 Mucograft® 具有独特的三维结构 [52]，由致密的宏观结构和底层的海绵状微观结构组成，这可能为种子细胞提供一个合适的环境。

2.4 间充质干细胞复合体 目前，间充质干细胞来源获取稳定、自我复制能力强，在组织再生领域应用广泛。已有研究报道了骨髓来源间充质干细胞通过分化为成纤维细胞、成骨细胞和成牙本质细胞促进牙周组织再生的特性 [53]，而脐带来源间充质干细胞拥有高频率的成纤维细胞集落形成单位且迅速分化为骨结节促进骨形成 [54]，这为以干细胞为主的组织工程结构临床应用提供了先决条件。

透明质酸普遍存在于结缔组织、皮肤及细胞外基质当中，并具有天然降解性、生物相容性及亲水性，因此被广泛作为细胞移植载体。OKABE 等 [55] 通过动物实验发现，将骨髓间充质干细胞结合透明质酸支架加入富血小板血浆构建的组织工程结构注射到大鼠皮下，可以维持注射部位的外形，注射的细胞产生Ⅰ型胶原并从注射细胞中衍生出新的胶原纤维束，且所有注射大鼠均无严重的不良反应如感染、溃疡或红斑等。YAMADA 等 [56] 将骨髓间充质干细胞应用于 3 例龈乳头增量的患者中 (其中包括一名外伤后种植的患者)，用于改善牙龈“黑三角”问题，发现黑三角均得到明显改善，且 2–5 年的随访发现龈乳头增量体积稳定，无萎缩。

在根面覆盖术方面，ZANWAR 等 [57-58] 通过两项随机对

照试验研究了脐带间充质干细胞负载于聚乳酸 / 聚羟基乙酸支架用于牙龈退缩的治疗，在与自体结缔组织移植瓣对照研究当中 [57]，6 个月随访时，虽然实验组的平均根面覆盖率 (72.4±13.6)% 低于对照组的 (82.1±11.0)%，但是角化龈获得量上两组未见明显差异；另一项与单独聚乳酸 / 聚羟基乙酸支架比较的研究中 [58]，实验组的平均根面覆盖率 (66.3±27.0)% 优于单纯支架组 (57.4±15.6)%，表明脐带间充质干细胞在根面覆盖术中的积极作用。

间充质干细胞在干细胞移植疗法中的应用，操作方便、疼痛少、增量龈乳头的保持效果良好。在根面覆盖术中的应用表明了间充质干细胞在牙周软组织增量中的效果，然而，有必要进行大样本、多中心的临床研究，从统计学上证实该方法实用性与疗效。

各细胞支架复合体在角化龈增量、根面覆盖术和龈乳头增量术中的效果及临床特点，见**表 1**。

3 总结与展望 Conclusions and prospects

健康的牙周软组织是牙种植、修复和正畸治疗的重要前提。以活细胞构体为代表的组织工程结构证明了其在角化组织增量的安全性和有效性，与自体结缔组织移植相比，患者往往更乐于选择这种更加美观、疼痛更低的软组织增量方式。当前，细胞联合支架应用于牙周软组织增量中趋近成熟，未来将成纤维细胞的低免疫原特性结合基因改造创立标准细胞系仍是组织工程结构量产的研究热点。需要重视的是，血供对移植物的存活及活性至关重要，尽管组织工程结构可以重建血运，但是血管生成速度过慢将导致预后不佳，未来或许可以通过将自体内皮细胞结合组织工程结构或通过低氧预处理的方法解决 [59]。值得指出的是，组织工程结构应用于种植体周围组织不足的研究甚少，随着种植技术不断成熟与应用，组织工程结构与种植体相关研究未来具有很高的实用性。最后，基于干细胞的组织工程在牙周软硬组织再生中应用的相关研究越来越多 [60-61]，随着细胞膜片技术的引入，该文所提到的间充质干细胞复合体这种自源性支架的移植用于牙周组织再生展现出巨大的潜力。

致谢：感谢遵义医科大学附属口腔医院杨琨副教授对文章修改提出的宝贵意见和无私帮助。

作者贡献：文章全部作者均参与了文章的撰写和评估。

经费支持：该文章接受了“国家自然科学基金 (81760199)、贵州省科学技术基金计划 (黔科合基础 [2018]1185，黔科合基础 [2020]1Y328)”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。

表 1 | 细胞支架复合体在角化龈增量、根面覆盖术和龈乳头增量术中的效果及临床特点

研究目的	研究类型	细胞种类及来源	支架材料	实验组 (实验部位数)	对照组 (对照部位数)	主要结果及指标	随访时间	参考文献
角化龈增量	病例汇报	自体牙龈成纤维细胞	苄基酯化壳聚糖	自体牙龈成纤维细胞 + 壳聚糖支架 (7)	无	角化龈宽度获得量 (2.4±0.4)mm	3 个月	PINI PRATO 等 [14]
	自身随机临床对照试验	自体牙龈成纤维细胞	胶原蛋白基质	支架细胞复合体 + 骨膜开窗术 (9)	骨膜开窗术 (9)	角化龈宽度获得量，实验组 2.8 mm，对照组 1.9 mm	3 个月	MOHAMMADI 等 [19]
	自身随机临床对照试验	异体成纤维细胞 (新生儿包皮来源)	聚乳酸网	人成纤维细胞真皮替代物 (25)	游离龈移植 (25)	角化龈宽度获得量，实验组 1.26 mm，对照组 2.57 mm	1 年	MCGUIRE 等 [21]
	病例汇报	自体硬腭成纤维细胞	脱细胞真皮基质	体外制备口腔粘膜替代物 (5)	无	角化龈宽度获得量 实验组：3 mm	6 个月	IZUMI 等 [36]
	自身随机临床对照试验	异体成纤维细胞 + 角朊细胞	胶原蛋白基质	活细胞构体 (25)	游离龈移植 (25)	角化龈宽度获得量，实验组 2.4−1.02 mm，对照组 4.5−0.8 mm	6 个月	MCGUIRE 等 [44]
	自身随机临床对照试验	异体成纤维细胞 + 角朊细胞	胶原蛋白基质	活细胞构体 (85)	游离龈移植 (85)	角化龈宽度获得量 实验组：3.2−1.1mm	6 个月	MCGUIRE 等 [45]
根面覆盖术	自身随机临床对照试验	自体牙龈成纤维细胞	胶原蛋白基质	人自体牙龈成纤维细胞 + 胶原蛋白基质 (11)	胶原蛋白基质 (11)	平均根面覆盖率，实验组 (69.60±29.31)%，对照组 (38.30±32.64)%	1 年	KOSEOGLU 等 [20]
	自身随机临床对照试验	自体硬腭成纤维细胞	胶原蛋白基质	支架细胞复合体 + 胶原蛋白基质 (18)	结缔组织移植 (18)	平均根面覆盖率，实验组 89.9%，对照组 91.3%；角化龈宽度获得量，实验组 1.74 mm，对照组 2.26 mm	1 年	MILINKOVIC 等 [21]
	自身随机临床对照试验	异体成纤维细胞 (新生儿包皮来源)	聚乳酸网	人成纤维细胞真皮替代物 (13)	自体结缔组织移植瓣 (13)	平均根面覆盖率，实验组 (56.7±27.8)%，对照组 (64.4±31.9)%	6 个月	WILSON 等 [25]
	随机临床对照试验	异体脐带间充质干细胞	聚乳酸 / 聚羟基乙酸	聚乳酸 / 聚羟基乙酸 + 脐带间充质干细胞 (12)	自体结缔组织移植瓣 (12)	平均根面覆盖率，实验组 (72.4±13.6)%，对照组 (82.1±11.0)%；角化龈宽度获得量，实验组 (0.9±0.7) mm，对照组 (1.4±0.8) mm	6 个月	ZANWAR 等 [57]
	随机临床对照试验	异体脐带间充质干细胞	聚乳酸 / 聚羟基乙酸	聚乳酸 / 聚羟基乙酸 + 脐带间充质干细胞 (7)	单独聚乳酸 / 聚羟基乙酸	平均根面覆盖率，实验组 (66.3±27.0)%，对照组 (57.4±15.6)%；角化龈宽度获得量，实验组：(0.7±0.8) mm，对照组：(0.8±0.6) mm	6 个月	ZANWAR 等 [58]
龈乳头增量	病例汇报	异体脐带间充质干细胞	聚乳酸 / 聚羟基乙酸	支架细胞复合体 (3)	无	龈乳头高度增加量 (2.55±0.89) mm	2−5 年	YAMADA 等 [56]

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] CHAMBRONE L, SALINAS ORTEGA MA, SUKEKAVA F, et al. Root coverage procedures for treating localised and multiple recession-type defects. Cochrane Database Syst Rev. 2018;10:CD007161.

[2] WU Q, QU Y, GONG P, et al. Evaluation of the efficacy of keratinized mucosa augmentation techniques around dental implants: a systematic review. J Prosthet Dent. 2015;113(5):383-390.

[3] ZUCCHELLI G, MAZZOTTI C, MOUNSSIF I, et al. Esthetic treatment of peri-implant soft tissue defects: a case report of a modified surgical-prosthetic approach. Int J Periodontics Restorative Dent. 2013;33(3):327-335.

[4] 毛尔加 . 牙周膜龈手术的临床应用Ⅱ：异体材料的应用 [J]. 华西口腔医学杂志 ,2018,36(2):117-122.

[5] CAIRO F, NIERI M, PAGLIARO U. Efficacy of periodontal plastic surgery procedures in the treatment of localized facial gingival recessions. A systematic review. J Clin Periodontol. 2014;41 Suppl 15:S44-S62.

[6] LANGER R, VACANTI J. Advances in tissue engineering. J Pediatr Surg. 2016;51(1):8-12.

[7] 钟泉 , 李艳芬 , 闫福华 , 等 . 基因修饰牙龈成纤维细胞及脱细胞真皮基质制备牙周组织工程复合物 [J]. 中国组织工程研究 ,2015, 19(43):6906-6912.

[8] NAAHIDI S, JAFARI M, LOGAN M, et al. Biocompatibility of hydrogel-based scaffolds for tissue engineering applications. Biotechnol Adv. 2017;35(5):530-544.

[9] SCULEAN A, GRUBER R, BOSSHARDT DD. Soft tissue wound healing around teeth and dental implants. J Clin Periodontol. 2014;41 suppl 15:s6-22.

[10] HÄKKINEN L, LARJAVA H, FOURNIER BP. Distinct phenotype and therapeutic potential of gingival fibroblasts. Cytotherapy. 2014;16(9): 1171-1186.

[11] UM MIN ALLAH N, BERAHIM Z, AHMAD A, et al. Biological Interaction Between Human Gingival Fibroblasts and Vascular Endothelial Cells for Angiogenesis: A Co-culture Perspective. Tissue Eng Regen Med. 2017;14(5):495-505.

[12] KALTSCHMIDT B, KALTSCHMIDT C, WIDERA D. Adult craniofacial stem cells: sources and relation to the neural crest.Stem Cell Rev Rep. 2012;8(3):658-671.

[13] CHIQUET M, KATSAROS C, KLETSAS D. Multiple functions of gingival and mucoperiosteal fibroblasts in oral wound healing and repair. Periodontol 2000. 2015;68(1):21-40.

[14] PINI PRATO GP, ROTUNDO R, MAGNANI C, et al. Tissue engineering technology for gingival augmentation procedures: a case report. Int J Periodontics Restorative Dent. 2000;20(6):552-559.

[15] PPINI RATO GP, ROTUNDO R, MAGNANI C, et al. An autologous cell hyaluronic acid graft technique for gingival augmentation: a case series. J Periodontol. 2003;74(2):262-267.

[16] BACAKOVA M, PAJOROVA J, BROZ A, et al. A two-layer skin construct consisting of a collagen hydrogel reinforced by a fibrin-coated polylactide nanofibrous membrane. Int J Nanomedicine. 2019;14:5033-5050.

[17] WILLERSHAUSEN I, BARBECK M, BOEHM N, et al. Non-cross-linked collagen type I/III materials enhance cell proliferation: in vitro and in vivo evidence.J Appl Oral Sci. 2014;22(1):29-37.

[18] HE Y, LIU W, GUAN L, et al. A 3D-Printed PLCL Scaffold Coated with Collagen Type I and Its Biocompatibility. Biomed Res Int. 2018;2018: 5147156.

[19] MOHAMMADI M, SHOKRGOZAR MA, MOFID R. Culture of human gingival fibroblasts on a biodegradable scaffold and evaluation of its effect on attached gingiva: a randomized, controlled pilot study. J Periodontol. 2007;78(10):1897-1903.

[20] KÖSEOĞLU S, DURAN İ, SAĞLAM M, et al. Efficacy of collagen membrane seeded with autologous gingival fibroblasts in gingival recession treatment: a randomized, controlled pilot study. J Periodontol. 2013;84(10):1416-1424.

[21] MILINKOVIC I, ALEKSIC Z, JANKOVIC S, et al. Clinical application of autologous fibroblast cell culture in gingival recession treatment. J Periodontal Res. 2015;50(3):363-370.

[22] ABBASALIZADEH S, PAKZAD M, CABRAL JMS, et al. Allogeneic cell therapy manufacturing: process development technologies and facility design options. Expert Opin Biol Ther. 2017;17(10):1201-1219.

[23] MCGUIRE MK, NUNN ME. Evaluation of the safety and efficacy of periodontal applications of a living tissue-engineered human fibroblast-derived dermal substitute. I. Comparison to the gingival autograft: a randomized controlled pilot study. J Periodontol. 2005; 76(6):867-880.

[24] WILSON TG JR, MCGUIRE MK, NUNN ME. Evaluation of the safety and efficacy of periodontal applications of a living tissue-engineered human fibroblast-derived dermal substitute. II. Comparison to the subepithelial connective tissue graft: a randomized controlled feasibility study. J Periodontol. 2005;76(6):881-889.

[25] INTINI C, ELVIRI L, CABRAL J, et al. 3D-printed chitosan-based scaffolds: An in vitro study of human skin cell growth and an in-vivo wound healing evaluation in experimental diabetes in rats. Carbohydr Polym. 2018;199:593-602.

[26] WIECKIEWICZ M, BOENING KW, GRYCHOWSKA N, et al. Clinical Application of Chitosan in Dental Specialities. Mini Rev Med Chem. 2017;17(5):401-409.

[27] AMIR LR, SOEROSO Y, FATMA D, et al. Periodontal Ligament Cell Sheets and RGD-Modified Chitosan Improved Regeneration in the Horizontal Periodontal Defect Model. Eur J Dent. 2020;14(2):306-314.

[28] LOTFI G, SHOKRGOZAR MA, MOFID R, et al. A clinical and histologic evaluation of gingival fibroblasts seeding on a chitosan-based scaffold and its effect on the width of keratinized gingiva in dogs. J Periodontol. 2011;82(9):1367-1375.

[29] NOVAES AB JR, MARCHESAN JT, MACEDO GO, et al. Effect of in vitro gingival fibroblast seeding on the in vivo incorporation of acellular dermal matrix allografts in dogs. J Periodontol. 2007; 78(2):296-303.

[30] 陈欣戬 , 钟泉 , 赵欣 , 等 . 碱性成纤维细胞生长因子基因修饰的组织工程化复合物促进牙龈组织再生实验研究 [J]. 中国实用口腔科杂志 ,2011,4(10):602-605.

[31] CAIRO F, PAGLIARO U, BUTI J, et al. Root coverage procedures improve patient aesthetics. A systematic review and Bayesian network meta-analysis. J Clin Periodontol. 2016; 43(11):965-975.

[32] HANIFFA MA, COLLIN MP, BUCKLEY CD, et al. Mesenchymal stem cells: the fibroblasts' new clothes Haematologica. 2009;94(2):258-263.

[33] KINIKOGLU B, DAMOUR O, HASIRCI V. Tissue engineering of oral mucosa: a shared concept with skin. J Artif Organs. 2015;18(1):8-19.

[34] VRANCKX JJ, HONDT MD. Tissue engineering and surgery: from translational studies to human trials. Innov Surg Sci. 2017;2(4): 189-202.

[35] UEDA M, HATA KI, SUMI Y, et al. Peri-implant soft tissue management through use of cultured mucosal epithelium. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 1998;86(4):393-400.
[36] IZUMI K, NEIVA RF, FEINBERG SE. Intraoral grafting of tissue-engineered human oral mucosa. Int J Oral Maxillofac Implants. 2013;28(5): e295-303.
[37] NAKANISHI Y, IZUMI K, YOSHIZAWA M, et al. The expression and production of vascular endothelial growth factor in oral mucosa equivalents. Int J Oral Maxillofac Surg. 2007;36(10):928-933.
[38] XU Q, IZUMI K, TOBITA T, et al. Constitutive release of cytokines by human oral keratinocytes in an organotypic culture. J Oral Maxillofac Surg. 2009;67(6):1256-1264.
[39] KENJI I. Tissue engineered oral mucosa. Stem Cell Biology and Tissue Engineering in Dental Sciences, 2015:721-731.
[40] KHMALADZE A, KUO S, KIM RY, et al. Human oral mucosa tissue-engineered constructs monitored by Raman fiber-optic probe. Tissue Eng Part C Methods. 2015;21(1):46-51.
[41] KUO S, ZHOU Y, KIM HM, et al. Biochemical indicators of implantation success of tissue-engineered oral mucosa. J Dent Res. 2015;94(1): 78-84.
[42] SCHULTZ GS, DAVIDSON JM, KIRSNER RS, et al. Dynamic reciprocity in the wound microenvironment. Wound Repair Regen. 2011;19(2): 134-148.
[43] GOODARZI P, FALAHZADEH K, NEMATIZADEH M, et al. Tissue Engineered Skin Substitutes. Adv Exp Med Biol. 2018;1107:143-188.
[44] MCGUIRE MK, SCHEYER ET, NUNN ME, et al. A pilot study to evaluate a tissue-engineered bilayered cell therapy as an alternative to tissue from the palate. J Periodontol. 2008;79(10):1847-1856.
[45] MCGUIRE MK, SCHEYER ET, NEVINS ML, et al. Living cellular construct for increasing the width of keratinized gingiva: results from a randomized, within-patient, controlled trial. J Periodontol. 2011;82(10): 1414-1423.
[46] SCHEYER ET, NEVINS ML, NEIVA R, et al. Generation of site-appropriate tissue by a living cellular sheet in the treatment of mucogingival defects.J Periodontol. 2014;85(4):e57-e64.
[47] NEVINS ML. Tissue-engineered bilayered cell therapy for the treatment of oral mucosal defects: a case series. Int J Periodontics Restorative Dent. 2010;30(1):31-39.
[48] MCGUIRE MK, SCHEYER ET, GWALTNEY C. Commentary: Incorporating Patient-Reported Outcomes in Periodontal Clinical Trials. J Periodontol. 2014;85(10):1313-1319.
[49] SCHMIDT C. Gintuit cell therapy approval signals shift at US regulator. Nat Biotechnol. 2012;30(6):479-479.
[50] WOJTOWICZ AM, OLIVEIRA S, CARLSON MW, et al. The importance of both fibroblasts and keratinocytes in a bilayered living cellular construct used in wound healing. Wound Repair Regen. 2014;22(2):246-255.
[51] 康嘉宇 , 吕建伟 , 赵志虎 , 等 . 骨软骨组织工程分层支架的研究进展 [J]. 中华骨科杂志 ,2019,39(22):1413-1420.
[52] SHI Y, ZHANG H, ZHANG X, et al. A comparative study of two porous sponge scaffolds prepared by collagen derived from porcine skin and fish scales as burn wound dressings in a rabbit model. Regen Biomater. 2020;7(1):63-70.
[53] MASHIMO T, SATO Y, AKITA D, et al. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells enhance bone marrow regeneration in dental extraction sockets. J Oral Sci. 2019;61(2):284-293.
[54] MCGUIRE MK, TAVELLI L, FEINBERG SE, et al. Living cell-based regenerative medicine technologies for periodontal soft tissue augmentation. J Periodontol. 2020;91(2):155-164.
[55] OKABE K, YAMADA Y, ITO K, et al. Injectable soft-tissue augmentation by tissue engineering and regenerative medicine with human mesenchymal stromal cells, platelet-rich plasma and hyaluronic acid scaffolds.Cytotherapy. 2009;11(3):307-316.
[56] YAMADA Y, NAKAMURA S, UEDA M, et al. Papilla regeneration by injectable stem cell therapy with regenerative medicine: long-term clinical prognosis.J Tissue Eng Regen Med. 2015;9(3):305-309.
[57] ZANWAR K, LAXMANRAO BHONGADE M, KUMAR GANJI K, et al. Comparative evaluation of efficacy of stem cells in combination with PLA/PGA membrane versus sub-epithelial connective tissue for the treatment of multiple gingival recession defects: a clinical study. J Stem Cells. 2014;9(4):253-267.
[58] ZANWAR K, KUMAR GANJI K, BHONGADE ML. Efficacy of Human Umbilical Stem Cells Cultured on Polylactic/ Polyglycolic Acid Membrane in the Treatment of Multiple Gingival Recession Defects: a Randomized Controlled Clinical Study. J Dent (Shiraz). 2017;18(2): 95-103.
[59] HEß V, KASIM M, MATHIA S, et al. Episodic Hypoxia Promotes Defence Against Cellular Stress. Cell Physiol Biochem. 2019;52(5):1075-1091.
[60] 陈发明 . 牙周组织工程与再生 [J]. 中华口腔医学杂志 ,2017,52(10): 610-614.
[61] CHOI EJ, KIL IS, CHO EG. Extracellular Vesicles Derived from Senescent Fibroblasts Attenuate the Dermal Effect on Keratinocyte Differentiation. Int J Mol Sci. 2020;21(3):1022.

(责任编辑：GW，ZN，TXY)