

基于骨稳态调控理念认识牙周生物材料及对骨形成的影响

<https://doi.org/10.12307/2022.469>

李茂雪, 丁一, 郭淑娟

投稿日期: 2021-03-27

采用日期: 2021-05-09

修回日期: 2021-05-28

在线日期: 2021-08-04

中图分类号:

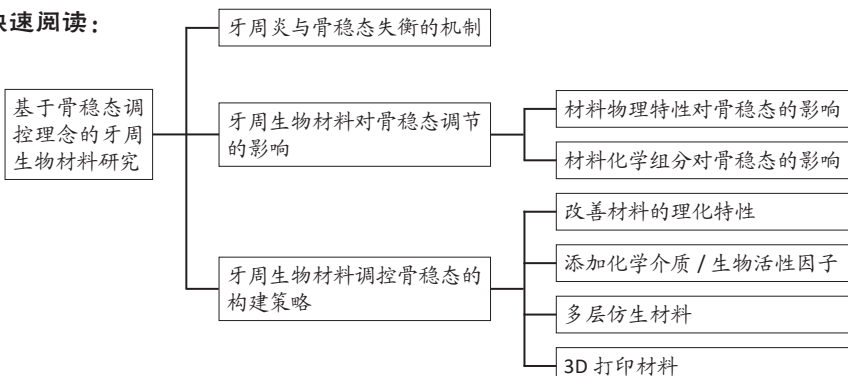
R459.9; R394.2; R686.5

文章编号:

2095-4344(2022)34-05562-07

文献标识码: A

文章快速阅读:



文题释义:

骨稳态: 对于健康成年人, 由于其体内的破骨细胞、成骨细胞和骨细胞一直进行着协调代谢活动, 使得新骨形成和破骨重建始终处于一个动态平衡状态, 维持骨骼系统行使功能并调控体内矿物质稳态, 这个动态的过程称为骨稳态。

牙周组织稳态: 牙周组织中的骨质和牙骨质的形成与吸收在正常咀嚼、发音和正畸移动过程中, 始终处于一个活跃的代谢平衡状态, 维持着牙齿正常的生理移动和咀嚼等功能的发挥, 称为牙周组织稳态。在细菌和炎症等病理状态下, 这种牙周组织稳态会失衡, 会造成骨质的丢失和破坏。

摘要

背景: 牙周炎会导致牙槽骨破坏, 是导致成年人失牙的主要口腔疾病之一。为了能够提高再生效果, 近年来有学者通过修饰材料的可控性能, 主动引导牙周局部骨稳态向有利于牙槽骨再生的方向发展, 为牙周再生材料的研发提供了新方向。

目的: 文章就目前牙周炎局部骨稳态失衡的研究现状和基于调控骨稳态理念的牙周生物材料修饰策略作一综述, 并探讨当前策略应用于牙周再生领域的前景和挑战。

方法: 在Web of Science、PubMed、中国知网和万方数据库中进行文献检索。中文关键词: “骨、牙周组织、稳态、生物材料、再生”, 英文关键词: “Bone, Periodontal Tissue, Homeostasis, Biomaterials, Regeneration”, 文献发表时间限定为2000年1月至2020年12月, 根据主题选择与综述内容相关的文献, 排除与文章内容无关的文章, 最终纳入61篇文章进行综述。

结果和结论: ①口腔微生物及其产物、炎症因子会导致牙周微环境中成骨调控和破骨代谢失衡, 是牙周炎骨破坏的主要原因之一。②生物材料物理化学性能的改变会影响到局部骨稳态平衡, 因此可通过改变材料的理化性能来调节局部骨稳态, 主要方式包括修饰材料的物理特性、传递生物活性分、调节炎症反应和抑制破骨细胞生成。③基于骨稳态调控理念被应用于牙周生物材料的开发中, 可提高牙周生物材料的成骨效果, 促进牙周组织工程材料的发展和临床牙周组织再生。

关键词: 骨; 牙周组织; 稳态; 再生; 间充质干细胞; 破骨细胞; 炎症; 生物材料

Understanding of periodontal biomaterials based on the concept of bone homeostasis control and the effects on bone formation

Li Maoxue, Ding Yi, Guo Shujuan

State Key Laboratory of Oral Diseases & National Clinical Research Center for Oral Diseases & Department of Periodontics, West China Hospital of Stomatology, Sichuan University, Chengdu 610041, Sichuan Province, China

Li Maoxue, Master candidate, State Key Laboratory of Oral Diseases & National Clinical Research Center for Oral Diseases & Department of Periodontics, West China Hospital of Stomatology, Sichuan University, Chengdu 610041, Sichuan Province, China

Corresponding author: Guo Shujuan, MD, Associate professor, State Key Laboratory of Oral Diseases & National Clinical Research Center for Oral Diseases & Department of Periodontics, West China Hospital of Stomatology, Sichuan University, Chengdu 610041, Sichuan Province, China

Abstract

BACKGROUND: Periodontitis is one of main diseases that cause destruction of alveolar bone and tooth loss in adults. To improve the regeneration effect, regulating bone homeostasis in periodontal tissue through modifying controllable properties of materials can effectively improve the effect of alveolar bone regeneration, which provides a popular development direction of periodontal biomaterials.

OBJECTIVE: To summarize the current research status of local bone homeostasis imbalance in periodontitis and periodontal biomaterial modification strategies based on the concept of regulating bone homeostasis, and to discuss the prospects and challenges of current strategies in periodontal regeneration.

口腔疾病研究国家重点实验室, 国家口腔疾病临床医学研究中心, 四川大学华西口腔医院牙周病科, 四川省成都市 610041

第一作者: 李茂雪, 女, 1996年生, 重庆市人, 汉族, 四川大学华西口腔医学院在读硕士。

通讯作者: 郭淑娟, 博士, 副教授, 口腔疾病研究国家重点实验室, 国家口腔疾病临床医学研究中心, 四川大学华西口腔医院牙周病科四川省成都市 610041

<https://orcid.org/0000-0002-4822-6530> (李茂雪)

基金资助: 四川省科技厅应用基础研究项目 (2020YJ0242), 项目负责人: 丁一

引用本文: 李茂雪, 丁一, 郭淑娟. 基于骨稳态调控理念认识牙周生物材料及对骨形成的影响 [J]. 中国组织工程研究, 2022, 26(34):5562-5568.



METHODS: The articles were searched on Web of Science, PubMed, CNKI, and Wanfang databases. The Chinese and English key words were “bone, periodontal tissue, homeostasis, biomaterials, regeneration”. The publication time was limited from January 2000 to December 2020. The articles that were associated with the review content were selected according to the topic. Sixty-one articles were included for the final analysis after excluding the articles that were not related to the content of the article.

RESULTS AND CONCLUSION: (1) Oral microflora, its products and inflammation destroy the dynamic balance of osteogenesis and osteoclast metabolism in the periodontal tissue. (2) Physical and chemical properties of biomaterials may affect the dynamic balance of bone homeostasis of periodontal tissue. Therefore, the local bone homeostasis can be adjusted by changing the physical and chemical properties of the material. The main methods include: modifying the physical properties of the material, transmitting biological activity, adjusting inflammatory response, and inhibiting osteoclast production. (3) The concept of regulating bone homeostasis is applied to the development of periodontal biomaterials, which improves the osteogenic effect of periodontal biomaterials, and promotes the development of periodontal tissue engineering materials and clinical periodontal regeneration.

Key Words: bone; periodontal tissue; homeostasis; regeneration; mesenchymal stem cells; osteoclast; inflammation; biomaterial

Funding: Applied Basic Research Project of Sichuan Science and Technology Department, No. 2020YJ0242 (to DY)

How to cite this article: LI MX, DING Y, GUO SJ. Understanding of periodontal biomaterials based on the concept of bone homeostasis control and the effects on bone formation. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2022;26(34):5562-5568.

0 引言 Introduction

生理条件下,健康成年人的骨代谢受到全身激素水平与局部因素的调节,使新骨形成与破骨吸收处于平衡状态,维持着正常骨生长、骨重建与血清钙水平的稳定,称为骨稳态^[1]。牙周组织是代谢最为活跃的人体组织之一,牙周组织中基质降解和骨吸收的速率与新基质形成和新骨沉积的速率在健康状态下也处于平衡状态,即牙周组织稳态^[2]。然而,细菌、炎症等环境因素可打破牙周组织稳态,尤其是牙周组织的骨稳态,引起牙周组织“成骨-破骨”代谢平衡被破坏,进而导致牙周炎性骨吸收,影响牙周组织的修复再生以及骨重建^[3]。传统的牙周治疗主要方式为控制微生物感染以降低炎症引起的组织破坏,然而控制住牙周炎症后,如何再生修复受损的牙周组织仍然是一大难题^[4]。目前临床上实现牙周组织再生的方式有引导组织再生术和植骨术等,但这些技术有相应的适应证和技术敏感性,再生效果有限^[5]。

生物材料作为一种外源性的植入物,可激活机体产生“异物信号级联免疫反应”,反应过度会使得宿主对异物产生排斥,造成组织修复再生失败^[6],所以传统的牙周生物材料强调低免疫原性。随着骨生物学、免疫学和材料学的发展,学者们逐渐认识到材料在体内并不是单纯为细胞和生长因子提供附着的支架,材料的物理化学特性会影响到宿主反应,从而影响组织再生效果。牙周组织结构复杂,由牙周膜以纤维组织形式连接于牙骨质与牙槽骨,保持牙齿稳定,为纤维结缔组织和骨组织共同构成的复合体。牙周组织再生过程涉及骨骼、免疫和循环等多个系统、信号通路和分子的协同参与^[7],单一成分或者结构的材料难以适应整个再生过程中的宿主反应。牙周组织所处的特殊环境也使得其骨再生不同于身体其他部位,口腔是一个开放有菌的系统,微生物及其毒性产物和炎症反应会影响到牙周组织稳态与再生修复。如果只注重牙周生物材料的成骨性能,而忽略了材料对于宿主“成骨-破骨”状态的调控,牙周组织常难以恢复稳态并影响损伤修复。

近年来随着对牙周骨稳态调控机制研究的逐步深入,生物材料对牙周骨稳态的影响也受到重视。通过修饰材料的可控性能,主动调节牙周局部骨稳态向成骨分化方向发展,可有效提高材料诱导牙周硬组织的再生效果,推动牙周组织工程材料和牙周炎临床治疗技术的发展。因此,文章就近年来牙周炎与骨稳态失衡的机制及研究进展进行总结,并对基于骨稳态调控理念的牙周生物材料开发策略进行分析,对其应用前景和挑战进行展望,以期对牙周组织工程生物材料的开发提供新思路。

1 资料和方法 Data and methods

1.1 资料来源

1.1.1 检索人及检索时间 由第一作者在2020年12月进行检索。

1.1.2 检索文献时限 检索文献时间限制为2000年1月至2020年12月。

1.1.3 检索数据库 在Web of Science, PubMed、中国知网和万方数据库进行检索。

1.1.4 检索词 中文检索词:“骨、牙周组织、稳态、生物材料、牙周再生”,英文检索词:“Bones, Homeostasis, Periodontal Tissue, Biomaterials, Periodontal regeneration”。

1.1.5 检索文献类型 研究原著、综述、述评、经验交流、病例报告和荟萃分析。

1.1.6 手工检索情况 无。

1.1.7 检索策略 以PubMed检索策略为例,见图1。检索后全部导入EndNote文献管理软件,并初步剔除重复性研究。

```
#1 Bones [Title/Abstract]
#2 Periodontal Tissue [Title/Abstract]
#3 Homeostasis [Title/Abstract]
#4 (#1 OR #2) AND #3
#5 Biomaterials [Title/Abstract]
#6 Regeneration [Title/Abstract]
#7 #4 AND (#5 OR #6)
```

图1 | PubMed数据库检索策略

1.1.8 检索文献量 各数据库初步共检索文献1367篇。

1.2 入组标准

1.2.1 纳入标准 与所选综述主题“牙周生物材料调控骨稳态”相关性大,发表时间在2000年1月至2020年12月的SCI或中文核心期刊文献的文章。

1.2.2 排除标准 文献质量低、研究内容与综述内容无关,或重复陈旧的研究。

1.3 质量评估 计算机最初共搜到1367篇文献,根据题目、摘要初步筛选出符合综述主题的文献,并进一步精读文献,根据纳入标准选择观点明确,论据可靠、可信度高的文献,排除陈旧、与内容无关的文献,最终纳入61篇文献^[1-61]。文献筛选流程,图2。

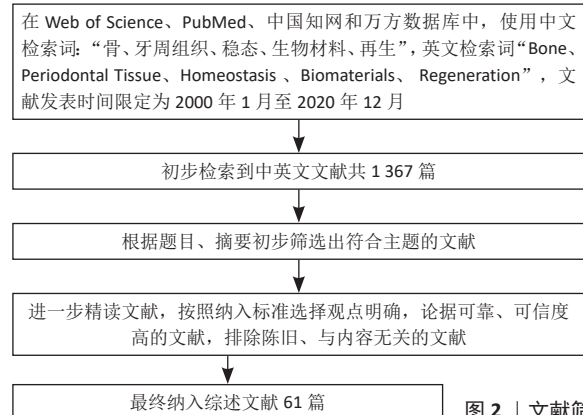
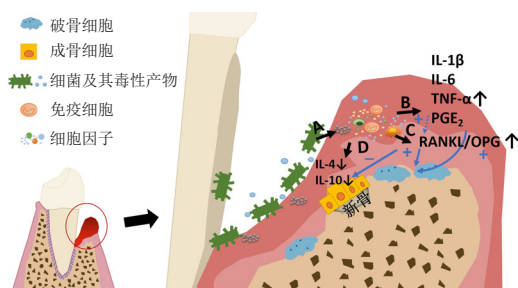


图2 | 文献筛选流程图

1.4 数据的提取 文献筛选和质量评估由第一作者独立分析并确认, 筛选的文献包括研究原著、综述和荟萃分析。

2 结果 Results

2.1 牙周炎与骨稳态失衡的机制 牙周炎是一种以不可逆性的牙周支持组织损害为特征的慢性感染性疾病, 会引起牙槽骨丢失及牙齿松动脱落, 影响患者的美观与功能^[4]。健康状态下的牙周组织“成骨-破骨”代谢处于平衡状态以适应组织重塑和正常生理功能的发挥, 而牙周炎患者由于细菌、毒素和炎症的刺激, 使牙周组织的合成代谢与分解代谢平衡失调, 进而引起牙周组织的破坏, 表现为牙槽骨吸收活性增加, 新骨形成减少^[8], 见图3。



图注: 图中 A 为牙周袋内的细菌和毒性物质引起牙龈的局部炎症, 通过级联放大反应激活大量促炎因子分泌, 招募并激活免疫细胞。图中 B 为免疫细胞分泌促炎因子白细胞介素 1 β (IL-1 β)、白细胞介素 6(IL-6)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、前列腺素 E2(PGE2) 等, 图中 C, D 为上调 RANKL/ 骨保护素(OPG) 激活破骨发生(C), 并抑制释放抗炎因子白细胞介素 4(IL-4) 及白细胞介素 10(IL-10) 等(D), 导致骨稳态失衡, 引起组织破坏股保护素

图 3 | 牙周炎和骨稳态失衡的过程

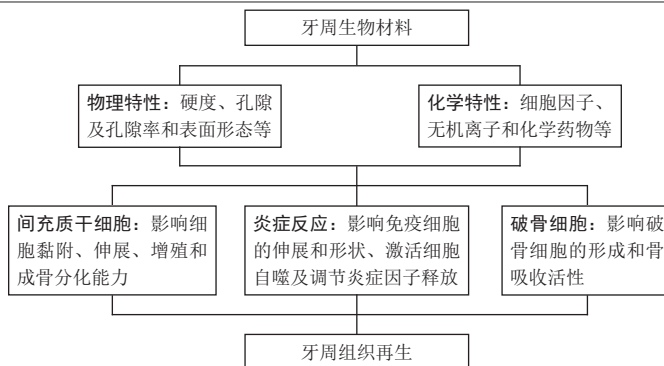
此图为牙周炎骨稳态失衡的过程, 局部存在的致病微生物引起牙龈的局部炎症, 从而过度激活免疫反应, 触发组织破坏。

当疾病进展时, 宿主和微生物会释放多种蛋白酶裂解蛋白质, 并通过级联放大反应激活宿主体内免疫细胞产生大量细胞因子如白细胞介素 1 β 、白细胞介素 6、前列腺素 E2 和肿瘤坏死因子 α 等, 它们可以通过调节 RANKL/RANK/ 骨保护素轴, 直接或间接地促进破骨细胞形成, 刺激骨吸收, 并抑制抗炎因子释放, 使得成骨细胞的分化也受到抑制, 导致最后的骨破坏^[9-10]。RANKL/RANK/ 骨保护素轴是骨代谢过程中重要的调节途径之一, RANKL 相对表达的增加或骨保护素的减少可以使骨稳态平衡向破骨方向发生倾斜^[11]。与牙周健康者相比, RANKL 在牙周炎患者中的表达上调, 而骨保护素表达下调, 导致 RANKL/ 骨保护素比值升高, 且此比例的异常在糖尿病患者和吸烟者中更为明显^[12-13]。而研究证据表明, 降低炎症和破骨细胞的活性有利于治疗牙周炎并恢复牙周组织稳态, 促进骨形成^[14]。

2.2 牙周生物材料对骨稳态调节的影响 临床上用于牙周组织再生治疗的材料主要是屏障膜和骨移植植物, 起着屏障与支架的作用, 为具有再生能力的细胞提供一个相对稳定的空间, 但诱导骨再生的能力有限^[5], 理解牙周生物材料影响骨稳态调节的机制, 有助于开发新一代牙周再生材料。生物材料与机体的相互作用较为复杂, 材料自身的物理结构、化学组分及机械性能等特性不仅对细胞黏附、增殖与分化行为产生作用, 还可能影响着局部细胞因子释放和信号通路的激活, 并引起机体骨稳态调节的变化^[15-16], 见图 4。

2.2.1 材料物理特性与结构的作用

材料物理特性与结构对间充质干细胞的影响: 骨再生过程中, 生物材料的硬度、孔径与孔隙率及表面形貌等物理特征会对细胞的生物学功能和组织生成产生影响^[17]。一般来说, 间充



图注: 生物材料的物理特性及化学组成等可以通过影响间充质干细胞成骨、影响炎症反应和影响破骨细胞来影响牙周组织再生

图 4 | 牙周生物材料影响骨稳态的机制

质干细胞倾向于在硬度相近的材料上黏附、增殖与分化为特定表型^[18], LIU 等^[19]的实验发现在 6-135 kPa 范围内, 牙周膜干细胞的增殖与成骨分化能力随基质硬度的增加而增加, Notch 途径或许是基质硬度影响牙周膜。材料的孔径大小影响长入材料的细胞类型, 小孔径不利于骨细胞长入^[20]; 高孔隙率有利于营养交换及生物活性因子吸附, 但会牺牲材料的力学性能影响成骨^[21]。此外, 材料的表面形态也可以调节间充质干细胞黏附、增殖和细胞形态, 例如在亚微米尺度, 随着钛种植体表面粗糙度增加, 成骨细胞的分化能力增强^[22], 在排列整齐的纤维表面, 细胞可以呈现出沿纤维排列方向的拉长形状, 在无序的纤维表面细胞呈不规则的细胞形态, 目前已经证明纤维的取向可以有效调节细胞反应, 模拟骨骼的各向异性组织结构^[23]。有学者利用等离子体电解氧化技术在钛表面沉积富含钙、磷、银的二氧化钛涂层^[24], 在保持正常生物功能的同时提高钛表面的多孔性、润湿性、粗糙度、显微硬度和摩擦系数, 此材料表现出良好的生物相容性和骨整合能力。

材料物理特性与结构对炎症反应的影响: 生物材料的物理特性不仅可以直接影响间充质干细胞的黏附、伸展与增殖, 还可以通过诱导局部免疫反应调控炎症来影响骨再生^[22, 25]。比如说材料孔径大小影响巨噬细胞的伸展和形状, 进而激活细胞自噬, 调节炎症反应并释放成骨因子^[25]; 材料的表面粗糙度也影响着巨噬细胞反应, 并调节细胞因子(如肿瘤坏死因子 α 、白细胞介素 6、白细胞介素 4 及白细胞介素 10)的释放, 随着表面粗糙度的增加, 巨噬细胞有向 M1 表型极化的趋势^[22]。Bio-Gide 胶原膜是临床上引导组织再生术常用的屏障膜, 生物相容性好, 陈泽涛课题组发现 Bio-Gide 胶原膜的光滑面与粗糙面在植入体内表现出不同的应答效果^[26], 与光滑表面相比, BioGide 胶原膜的粗糙面对促炎因子的上调作用更明显, 这可能与 WNT5a/Ca²⁺ 途径的激活有关, 而这种促炎作用不利于骨再生。

材料物理特性与结构对破骨发生的影响: 骨再生过程中, 破骨发生对骨重建起着至关重要作用。牙周组织工程中, 关于生物材料与破骨发生的研究相对较少, 而在骨组织工程研究中发现生物材料的组成、结晶度、粗糙度及表面特性等对破骨细胞有显著影响^[27-28]。例如, 纳米级羟基磷灰石与羟基磷灰石相比, 可以延迟破骨样细胞的形成, 并抑制其活性。介孔生物活性玻璃与传统的溶胶-凝胶生物活性玻璃相比, 具有高度有序的介孔结构、高孔隙率和高比表面积, 能与外界快速地进行离子交换, 具有良好的生物相容性和抑制破骨发生的能力, 有研究发现在介孔生物活性玻璃粉末质量浓度达到 1 g/L 时, 成骨肉瘤细胞的形态和细胞周期都没有显著的改变, 虽然不抑制破骨细胞的形成, 但破骨细胞的骨吸收能力降低^[29]。

然而,材料的理化特性对于间充质干细胞、炎症反应和破骨发生的影响是动态变化的,例如高硬度的谷氨酰胺转氨酶交联凝胶可以促进间充质细胞的成骨向分化,但同时也会引起巨噬细胞向 M1 型极化,影响最终的成骨效果^[30]。BioGide 胶原膜的粗糙面可增强骨髓间充质干细胞的成骨分化,但粗糙面同时具有较高的促炎作用,其介导的骨免疫微环境不利于成骨细胞分化,会影响最终的成骨效果^[26]。

2.2.2 材料化学组分对骨稳态调节的影响 材料的生物化学组分是另一项影响骨再生的关键因素,牙周硬组织再生和矿化过程中,某些细胞因子、无机离子和化学药物等不仅可以直接促进牙周矿化组织的形成,还能影响局部免疫炎症和破骨形成。

细胞因子:在牙周硬组织再生与矿化过程中,细胞因子参与了调控细胞增殖、分化、免疫应答及细胞间的相互作用等事件。据报道,与牙周硬组织再生关系密切的生长因子有骨形态发生蛋白、成纤维细胞生长因子、内皮细胞生长因子等,它们可诱导基质矿化,参与骨形成与骨重建,体外实验和动物实验均已被证明具有很好的效果^[31]。大量数据还支持炎症也是骨再生的重要组成部分,抗炎细胞因子如白细胞介素 4、白细胞介素 10 及碱性成纤维细胞生长因子等具有调节炎症或抗破骨细胞形成的功能,利用其修饰材料可以减轻材料的异物反应、降低破骨细胞形成,达到促进骨再生的目的^[32-33]。而其他细胞因子如白细胞介素 1、白细胞介素 6 及肿瘤坏死因子 α 等与过度炎症浸润、较高的 RANKL/骨保护素比值及异常活跃的破骨细胞有关,抑制这些炎症因子的释放也是减轻炎症与抑制破骨生成的有效方法^[7]。此外, P 物质、基质衍生因子 1 α 、粒细胞集落刺激因子等生物活性因子被报道有招募“内源性干细胞归巢”的作用,可以吸引干细胞到达目的位置发挥特定的生物功能,也可以修饰材料改善成骨效果^[34]。

无机离子:无机离子可以显著改善材料的机械性能与抗菌活性^[35],可以直接促进间充质细胞分化为成骨细胞^[36],促进成骨相关蛋白的表达与生物矿化^[37],释放到环境中还会影响到局部免疫炎症反应和破骨形成,可作为生物活性离子修饰材料。例如,钛金属是口腔中应用最为广泛的金属材料之一,具有出色的骨整合能力^[24];锌离子可以增加抗炎细胞因子白细胞介素 10 的释放,减少肿瘤坏死因子 α 和白细胞介素 1 β 的表达^[38];钙离子参与非经典 Wnt 信号通路 Wnt5A/Ca²⁺,从而调节免疫反应^[39];锶离子可以抑制破骨细胞形成与成熟,有利于骨再生^[40]。但无机离子对细胞具有一定的毒性,因此还需要大量实验研究如何选择合适的负载方式、离子浓度和缓释类型,以提高无机离子的生物安全性和生物相容性。

化学药物:化学药物也是促进骨再生的常见介质,目前与牙周硬组织形成相关研究较多的药物有四环素族抗生素、他汀类药物、抗血小板类药物、双膦酸盐及促炎症消退介质等,它们已被证明通过不同的机制调节成骨细胞分化,还具有调节宿主免疫炎症反应和破骨细胞形成的能力,可以抑制骨丧失,促进牙周硬组织再生^[14, 41-42]。四环素族抗生素是牙周治疗中常用抗生素之一,具有抗菌和免疫调节的作用,系统评价证明局部应用于四环素族抗生素,不仅可以辅助治疗牙周炎,还可以抑制骨丧失和促进骨形成^[43]。促炎症消退介质是一类抑制炎症细胞募集、干扰巨噬细胞吞噬、同时促进巨噬细胞 M2 型极化的内源性分子。研究发现促炎症消退介质可以降低 RANKL 的生成,维持 RANKL/骨保护素的比值有利于骨生成,并促进牙周炎小动物模型的骨再生^[14, 44]。

2.3 调控骨稳态牙周生物材料的构建策略 理想的牙周再生材料不仅要求具有良好的生物相容性,还应能调控人体骨稳态平衡,促进硬组织再生。技术的发展使得控制生物材料的理化特性主动调节细胞行为已成为可能,一些学者从调控牙周组织骨稳态方向着手设计骨修复材料以提高材料的骨再生效果^[45-54]。主要方式有改良生物材料物理特性和生化组分,激活成骨细胞和牙周膜干细胞成骨向分化,并调控牙周局部炎症与抑制破骨细胞形成来提高材料的成骨效果,见表 1。

表 1 | 调控骨稳态牙周生物材料的构建策略 (按研究时间排序)

研究者 / 发表年	材料	影响因素	修饰策略	机制
PARK 等 ^[52] , 2015	聚己内酯-聚乙醇酸支架	空间结构	3D 打印制备仿生支架	利用 3D 打印技术制备具有骨室及牙周膜室的双相纤维引导支架
MEDIERO 等 ^[42] , 2016	三磷酸钙/ 羟基磷灰石支架	化学组分	添加抗血小板药物	增加腺苷水平和刺激腺苷受体来抑制破骨细胞形成
SOWMYA 等 ^[49] , 2017	纳米复合水凝胶	空间结构	多层仿生支架	支架具有类似牙周复合体“三明治”的结构, 并包裹促进成骨、成纤维的生物活性因子
KOWAL 等 ^[45] , 2018	生物活性玻璃	孔隙及孔隙率	增加孔隙率	增加比表面积, 提高离子交换速率
CHEN 等 ^[26] , 2018	胶原膜	表面特性	Ca ₂ ZnSi ₂ O ₇ 涂层	钙离子、锌离子和硅离子会缓慢释放于环境中, 具有免疫调节作用
VARONI 等 ^[50] , 2018	多层壳聚糖海绵支架	机械性能	多层仿生支架	支架各层结构与牙周软硬组织的解剖厚度、机械性能与降解速率相匹配; 上调 RANKL/ 骨保护素比值, 抑制破骨
HE 等 ^[33] , 2019	高硬度转谷氨酰胺酶交联凝胶	化学组分	加载白细胞介素 4	基质细胞衍生因子 1 α 是内源性干细胞招募因子, 可促进骨髓间与基质细胞充质干细胞招募于受植区域; 白细胞介素 4 具有抗炎作用
JIA 等 ^[46] , 2019	生物活性玻璃	化学组分	通过雷奈酸锶释放锶离子	锶离子可以预防破骨细胞活化、促进成骨细胞分化
DING 等 ^[54] , 2020	聚(L- 乳酸) / 聚乳酸- 羟基乙酸共聚物纤维支架	化学组分	同轴电纺技术, 顺序释放生物因子	碱性成纤维细胞生长因子与骨形态发生蛋白 2 有促进血管再生和骨再生等作用

研究者 / 发表年	再生效果	不良反应
PARK 等 ^[52] , 2015	促进体内“三明治”结构样牙周复合体形成, 有类牙周膜纤维形成	未见明显不良反应
MEDIERO 等 ^[42] , 2016	抑制破骨分化, 促进骨再生	未见明显不良反应
SOWMYA 等 ^[49] , 2017	促进人牙囊干细胞的成骨、成纤维和成骨分化; 有新牙骨质、新牙周膜纤维和新牙槽骨形成	未见明显不良反应
KOWAL 等 ^[45] , 2018	促进小鼠胚胎成骨细胞前体细胞黏附、增殖和成骨分化; 诱导骨髓造血干细胞分化为破骨细胞; 参与骨重建	未见明显不良反应
CHEN 等 ^[26] , 2018	促进间充质干细胞成骨分化; 抑制了粗糙面的炎症反应; 促进巨噬细胞 M2 型极化	未见明显不良反应
VARONI 等 ^[50] , 2018	促进人牙周膜细胞黏附、增殖和分化; 促进血管生成; 异位植入实验可见骨样和牙本质样基质沉积	未见明显不良反应
HE 等 ^[33] , 2019	促进巨噬细胞向抗炎 M2 型极化; 抑制破骨细胞形成; 提高了支架牙周再生效果	未见明显不良反应
JIA 等 ^[46] , 2019	促进健康及骨质疏松大鼠牙周膜细胞黏附、增殖和成骨分化	未见明显不良反应
DING 等 ^[54] , 2020	促进人牙周膜细胞黏附、增殖和成骨分化; 促进血管再生和神经再生; 促进体内新骨、新牙骨质和牙周纤维形成	未见明显不良反应

2.3.1 修饰材料的理化特性 由于生物材料自身的组成、结构等特点会直接影响到细胞行为和组织形成,所以最常见的调控骨稳态生物材料的构建策略即优化材料的理化特性。为解决传统生物活性玻璃孔隙少、细胞渗透率低等问题, KOWAL 等^[45]学者开发了一种由 70% 的二氧化硅与 30% 的氧化钙混合组成的新一代生物活性玻璃,这种材料具有高度多孔的特点,孔隙大小从

纳米到微米级不等,不仅提高了材料的比表面积,促进物质交换,还为细胞植入提供了良好的环境,体外实验结果显示多孔支架对成骨细胞分化和破骨细胞形成均具有一定作用,表明这种材料可以支持骨再生过程中的动态修复。

材料的表面修饰和涂层可以改善材料的表面结构和理化成分,调节不同的受体结合与信号传导,为细胞黏附、生长和功能稳定提供良好的微环境,从而调控细胞反应和局部炎症。为了改善 BioGide 胶原膜粗糙面较高的炎症反应对骨再生的不利影响,陈泽涛课题组利用脉冲激光沉积技术在 BioGide 胶原膜粗糙面上涂布了一层 $\text{Ca}_2\text{ZnSi}_2\text{O}_7$ 涂层^[26],实验结果证明涂层不仅增强了间充质干细胞的成骨分化,其中的钙离子、锌离子和硅离子在巨噬细胞和膜相互作用期间还以缓慢释放的方式释放到周围环境中,改变了局部炎症细胞因子表达谱并上调成骨因子的表达,抑制促炎因子释放,成功地调节了粗糙面所介导的免疫微环境,提高了 Bio-Gide 胶原膜的骨再生效果。因此,可以优化材料的理化性能,促进骨髓间充质干细胞成骨分化,调控炎症反应并抑制破骨发生,来提高成骨效果。

2.3.2 添加化学介质/生物活性因子 与单纯应用材料相比,添加了化学介质/生物活性因子的材料表现出更好的骨稳态调节能力,可获得更好的骨再生效果。例如,为解决高硬度的谷氨酰胺转氨酶交联凝胶引起巨噬细胞向 M1 型极化不利于硬组织再生的问题,有研究引入白细胞介素 4 和基质细胞衍生因子 1 α 在高硬度谷氨酰胺转氨酶交联凝胶调节巨噬细胞极化并促进内源性干细胞募集^[33],组织学结果显示同时含有白细胞介素 4 和基质细胞衍生因子 1 α 的谷氨酰胺转氨酶交联凝胶在附着获得、骨、牙周膜和牙骨质再生方面均获得了更满意的效果。抗血小板药物氯吡格雷是通过二磷酸腺苷受体产生抑制血小板激活的作用,有实验报道二磷酸腺苷受体在破骨细胞的分化和功能发挥中起着关键作用, MEDIERO 等^[42]将抗血小板药物氯吡格雷和替格瑞洛添加入 3D 打印可吸收三磷酸钙/羟基磷灰石支架时,结果表明其促进骨再生的能力明显强于支架本身,并与生长因子骨形态发生蛋白 2 相似。镉离子对预防破骨细胞活化和促进成骨细胞分化具有直接作用, JIA 等^[46]开发了一种可以释放镉离子的介孔生物活性玻璃支架,实验证明了与单独的介孔生物活性玻璃支架相比,镉离子的介孔生物活性玻璃支架具有促进牙周再生的能力。由此可见,添加化学介质/生物活性因子可以作为抑制破骨吸收和促进骨形成新方法,改善材料的骨稳态调节能力并促进牙周再生。

然而,牙周组织再生过程是一个由多种因子参与的多时相多序列事件,单一的组分或许难以取得良好的效果,缓释/控释系统或许更贴近于牙周硬组织形成过程。有研究证明与单独应用碱性成纤维细胞生长因子、骨形态发生蛋白 2 或同时应用碱性成纤维细胞生长因子和骨形态发生蛋白 2 相比,顺序释放碱性成纤维细胞生长因子与骨形态发生蛋白 2 可以显著促进牙周膜干细胞的成骨分化^[47]。有研究进而利用同轴电纺超组装技术制备了一种具有核/壳结构的聚(L-乳酸)/聚乳酸-羟基乙酸共聚物纤维支架^[47],它可以按顺序快速释放碱性成纤维细胞生长因子与缓慢释放骨形态发生蛋白 2,实验结果显示该支架能有效触发干细胞向缺损部位的募集,促进牙槽骨的形成、牙周膜和牙骨质的再生。因此,未来的研究可以多注重于缓释/控释系统的开发,以合理有效地释放细胞因子和药物,更有效地促进牙周硬组织再生。

2.3.3 多层仿生材料 牙周组织是牙骨质-牙周膜-牙槽骨 3 种组织在结构与功能上形成的多层复合体,每种组织的特性差异

较大,有学者根据牙周复合体各层次的特性,设计了模拟牙周复合体“三明治”结构的多层仿生支架,并结合特定的生物活性因子促进牙周膜干细胞成骨分化与抑制破骨形成,取得了更有效的骨再生效果^[48-50]。SOWMYA 等^[49]构建了类似牙骨质-牙周膜-牙槽骨结构的纳米多层复合水凝胶仿生支架材料,将生物活性分子包裹在支架的不同层次,分别诱导组织再生,释药曲线表明生长因子释放持续时间长达 14 d,体内外实验也均表现出良好的成牙本质、成纤维和成骨分化潜力。VARONI 等^[50]以不同分子量壳聚糖为原料制作与牙周软硬组织的解剖厚度、机械性能与降解速率相匹配的多层仿生支架。该支架由 3 部分组成,分别是厚而坚硬的多孔骨层,薄且柔软的多孔牙龈层及纤维定向排列的微通道牙周膜层。体外实验表明该支架可促进牙周膜干细胞成骨向分化,表现为碱性磷酸酶活性增强、钙沉积增强和骨钙素表达上调;而接种成骨细胞的支架部分表现为高水平的骨保护素,接种人牙周膜成纤维细胞的部分表现为高水平 RANKL,提示支架可能通过 RANK/RANKL/骨保护素途径调节牙周组织各部分新骨形成与破骨发生。

2.3.4 3D 打印材料 3D 打印技术可以设计具有特定空间结构的支架材料,为特异性地调节细胞行为和炎症发展提供了必要的基础。依据牙骨质-牙周膜-牙槽骨的“三明治”结构,利用 3D 打印技术将细胞、材料及生长因子等按照各自的空间排列进行打印,可以促进牙周软硬组织的再生^[51]。PARK 等^[52]制作了 3D 打印聚己内酯-聚乙醇酸双相纤维引导支架,分别对应牙周组织的骨室与牙周膜室,并模拟了牙周组织微环境,将支架与人牙本质片结合植入裸鼠皮下异位培养中,实验观察到了成功的骨再生和牙周复合体再生,尤其是形成了与牙本质切片垂直或倾斜的纤维组织。3D 打印材料应用于临床上牙周局部骨缺损的案例也有报道,RASPERINI 等^[53]通过锥束 CT 扫描患者的局部缺损后,利用 3D 打印技术制造具有高适应性(适合率为 82%-87%)的可吸收纤维引导支架,虽然首例 3D 打印材料的临床试验结果在 14 个月时出现了材料暴露等问题,但其意义仍然值得肯定。目前 3D 打印材料的开发也多注重材料的成骨性能,对骨稳态调控的研究相对较少。未来研究可利用 3D 打印技术精确控制材料的物理性能、细胞排列和活性因子的释放,设计不仅与患者牙周缺损的结构相相匹配,还能精确调控骨稳态平衡的再生材料,促进个性化医疗发展,从而更好地促进牙周组织再生。

3 总结与展望 Summary and prospects

牙周组织再生是个复杂而又精密的过程,目前研究已经注意到生物材料组成、结构的部分改变会对整个再生过程产生重要的影响。但是在牙周组织工程技术发展过程中,主要集中于对生物材料本身的成骨效能进行探究,而较少关注生物材料对骨免疫反应的影响和调控。在牙周组织这种特殊的环境中,生物材料对骨稳态代谢的平衡关系尚不明确,如何优化材料调控骨稳态也还没有统一的定论,这就提示加深对牙周生物材料与骨稳态关系的理解具有重要的理论价值和临床意义。

在基于骨稳态调节策略开发材料时,应当首先结合材料自身的特点和牙周组织特殊环境而进行选择,例如胶原、明胶和壳聚糖等天然材料具有良好的生物相容性,但纯天然材料存在机械强度低和降解速率快等缺点,常常需进行交联或结合其他材料进行优化^[55-56]。聚己内酯和聚乳酸-乙醇酸等工合成高分子材料可以显著提高材料的物理性能,但生物相容性相对较差,部分合成材料的降解产物还可能对机体和环境具有不利影响^[57]。有研究者着手于将天然材料合成材料结合制备复合材料,可成

为构建材料时的新选择^[23, 58]。例如有研究利用有序静电纺丝技术制备了多功能梯度纳米纤维膜^[9], 该膜的表层是由有序的明胶纳米纤维组成, 可提高生物相容性并增强骨骼再生, 芯层为随机取向的PCL纳米纤维(可提供膜各向同性的机械强度)组成, 结果表明, 所制备的功能梯度膜同时满足生物相容性、空间保持能力和骨传导性的多个标准。

其次是选择合适的技术和策略对材料进行加工, 目前, 一些新型的纳米材料在牙周组织再生中的应用也是当前的研究热点, 为研究者们提供了更多的选择。静电纺丝技术可以制备纳米级的纤维, 模拟细胞外基质结构, 促进细胞发挥功能^[59-60], GURBUZ等^[60]采用静电纺丝和溶剂浇铸/颗粒浸出相结合的方法制备了模拟牙周复合体结构和复杂的细胞外基质环境的可降解多功能生物膜, 在牙周组织再生应用中表现出巨大潜力。介孔二氧化硅纳米颗粒具有比表面积大、尺寸可控等优点, 可作为细胞因子及药物的载体参与骨稳态调控^[59, 61]。

由于牙周组织、口腔环境和炎症条件的复杂性, 单一的组分与功能常难以满足临床需求, 牙周再生材料的研发也朝着多功能、多样化、多技术联合发展, 以期赋予材料抗菌、促血管生成、促成骨以及免疫调节与骨稳态调节等多种生物特性, 改善组织再生效果。牙周组织处于一个有菌的环境中, 牙周微生物和炎症反应对牙周组织再生过程中骨稳态的影响也较为模糊, 而同时具备抗菌、成骨和免疫调节等特性的生物材料尚处于动物实验阶段, 临床转化研究相对较少。如何选择合适材料、技术和方法构建牙周再生生物材料, 还需要研究者们结合牙周组织的特殊环境, 不断地探寻并找出性能及效果俱佳的牙周再生材料。

总之, 基于骨稳态调控理念的牙周生物材料研发策略包括修饰材料的物理特性、传递生物活性分子(如药物、介质和离子)来引导细胞行为、调节炎症和抑制破骨细胞生成, 直接或间接促成骨。但种种局限使得临床上尚未有重建牙周骨稳态的修复材料, 生物活性因子的加入还受到安全、伦理的质疑, 如何构建性能俱佳的材料或是精确调控材料相关参数以适合骨再生是当前材料开发的主要挑战。未来生物材料也更加强调智能化及多功能, 因此研发应用安全有效的牙周再生生物材料, 仍需要进行大量的基础与临床实验进行探究。

致谢: 感谢参与综述设计、撰写和修改过程中各位老师和同学的帮助。

作者贡献: 郭淑娟和李茂雪负责文章设计。李茂雪负责资料收集以及论文撰写。郭淑娟和丁一负责文章审校。李茂雪、丁一和郭淑娟对文章负责。

经费支持: 该文章接受了“四川省科技厅应用基础研究项目(2020YJ0242)”的资助。所有作者声明, 该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] SIDDQUI JA, PARTRIDGE NC. Physiological bone remodeling: systemic regulation and growth factor involvement. *Physiology*. 2016;31(3): 233-245.
- [2] DIEKWISCH TGH. Periodontal homeostasis: from vienna to texas-a century of periodontal research in the spirit of bernhard gottlieb. *Stem Cells Dev*. 2019;28(15):961-962.
- [3] LUAN X, ZHOU X, TROMBETTA-ESILVA J, et al. MicroRNAs and periodontal homeostasis. *J Dent Res*. 2017;96(5):491-500.
- [4] SLOTS J. Periodontitis: facts, fallacies and the future. *Periodontol* 2000. 2017;75(1):7-23.
- [5] SALLUM EA, RIBEIRO FV, RUIZ KS, et al. Experimental and clinical studies on regenerative periodontal therapy. *Periodontol* 2000. 2019;79(1): 22-55.
- [6] KLOPFLEISCH R, JUNG F. The pathology of the foreign body reaction against biomaterials. *J. Biomed Mater Res A*. 2017;105(3):927-940.
- [7] GRUBER R. Osteoimmunology: inflammatory osteolysis and regeneration of the alveolar bone. *J Clin Periodontol*. 2019;46 Suppl 21:52-69.
- [8] GRAVES DT, LI J, COCHRAN DL. Inflammation and uncoupling as mechanisms of periodontal bone loss. *J. Dent. Res*. 2011;90(2):143-153.
- [9] HIENZ SA, PALIWAL S, IVANOVSKI S. Mechanisms of bone resorption in periodontitis. *J Immunol Res*. 2015;2015:615486.
- [10] KATO H, TAGUCHI Y, TOMINAGA K, et al. Porphyromonas gingivalis LPS inhibits osteoblastic differentiation and promotes pro-inflammatory cytokine production in human periodontal ligament stem cells. *Arch Oral Biol*. 2014;59(2):167-175.
- [11] UDAGAWA N, KOIDE M, NAKAMURA M, et al. Osteoclast differentiation by RANKL and OPG signaling pathways. *J Bone Miner Metab*. 2021; 39(1):19-26.
- [12] MOGI M, OTOGOTO J, OTA N, et al. Differential expression of RANKL and osteoprotegerin in gingival crevicular fluid of patients with periodontitis. *J Dent Res*. 2004;83(2):166-169.
- [13] POLAK D, SHAPIRA L. An update on the evidence for pathogenic mechanisms that may link periodontitis and diabetes. *J Clin Periodontol*. 2018;45(2):150-166.
- [14] HASTURK H, KANTARCI A, GOGUET-SURMENIAN E, et al. Resolvin E1 regulates inflammation at the cellular and tissue level and restores tissue homeostasis in vivo. *J Immunol*. 2007;179(10):7021-7029.
- [15] CHEN ZT, KLEIN T, MURRAY RZ, et al. Osteoimmunomodulation for the development of advanced bone biomaterials. *Mater Today*. 2016; 19(6):304-321.
- [16] LI Y, XIAO Y, LIU C. The horizon of materiobiology: a perspective on material-guided cell behaviors and tissue engineering. *Chem Rev*. 2017; 117(5):4376-4421.
- [17] XIAO D, ZHANG J, ZHANG C, et al. The role of calcium phosphate surface structure in osteogenesis and the mechanisms involved. *Acta Biomater*. 2020;106:22-33.
- [18] ENGLER AJ, SEN S, SWEENEY HL, et al. Matrix elasticity directs stem cell lineage specification. *Cell*. 2006;126(4):677-689.
- [19] LIU N, ZHOU M, ZHANG Q, et al. Effect of substrate stiffness on proliferation and differentiation of periodontal ligament stem cells. *Cell Prolif*. 2018;51(5):e12478.
- [20] PAMULA E, BACAKOVA L, FILOVA E, et al. The influence of pore size on colonization of poly (L-lactide-glycolide) scaffolds with human osteoblast-like MG 63 cells in vitro. *J Mater Sci Mater Med*. 2008;19(1): 425-435.
- [21] OKAMOTO M, DOHI Y, OHGUSHI H, et al. Influence of the porosity of hydroxyapatite ceramics on in vitro and in vivo bone formation by cultured rat bone marrow stromal cells. *J Mater Sci Mater Med*. 2006; 17(4):327-336.
- [22] LI X, HUANG Q, ELKHOOBY TA, et al. Effects of titanium surface roughness on the mediation of osteogenesis via modulating the immune response of macrophages. *Biomed Mater*. 2018;13(4):045013.

- [23] HE M, WANG Q, XIE L, et al. Hierarchically multi-functionalized graded membrane with enhanced bone regeneration and self-defensive antibacterial characteristics for guided bone regeneration. *Chem Eng J*. 2020. doi: 10.1016/j.cej.2020.125542.
- [24] THUKKARAM M, CORYN R, ASADIAN M, et al. Fabrication of microporous coatings on titanium implants with improved mechanical, antibacterial, and cell-interactive properties. *ACS Appl Mater Interfaces*. 2020;12(27):30155-30169.
- [25] CHEN Z, NI S, HAN S, et al. Nanoporous microstructures mediate osteogenesis by modulating the osteo-immune response of macrophages. *Nanoscale*. 2017;9(2):706-718.
- [26] CHEN Z, CHEN L, LIU R, et al. The osteoimmunomodulatory property of a barrier collagen membrane and its manipulation via coating nanometer-sized bioactive glass to improve guided bone regeneration. *Biomater Sci*. 2018;6(5):1007-1019.
- [27] DETSCH R, BOCCACCINI AR. The role of osteoclasts in bone tissue engineering. *J Tissue Eng Regen Med*. 2015;9(10):1133-1149.
- [28] GERMAINI MM, DETSCH R, GRUNEWALD A, et al. Osteoblast and osteoclast responses to A/B type carbonate-substituted hydroxyapatite ceramics for bone regeneration. *Biomed Mater*. 2017;12(3):035008.
- [29] GOMEZ-CEREZO N, CASARRUBIOS L, MORALES I, et al. Effects of a mesoporous bioactive glass on osteoblasts, osteoclasts and macrophages. *J Colloid Interface Sci*. 2018;528:309-320.
- [30] HE XT, WU RX, XU XY, et al. Macrophage involvement affects matrix stiffness-related influences on cell osteogenesis under three-dimensional culture conditions. *Acta Biomater*. 2018;71:132-147.
- [31] GIANNIBILE WV, BERGLUNDH T, AL-NAWAS B, et al. Biological factors involved in alveolar bone regeneration: consensus report of working group 1 of the 15(th) european workshop on periodontology on bone regeneration. *J Clin Periodontol*. 2019;46 Suppl 21:6-11.
- [32] FUJIHARA C, KANAI Y, MASUMOTO R, et al. Fibroblast growth factor-2 inhibits CD40-mediated periodontal inflammation. *J Cell Physiol*. 2019; 234(5):7149-7160.
- [33] HE XT, LI X, XIA Y, et al. Building capacity for macrophage modulation and stem cell recruitment in high-stiffness hydrogels for complex periodontal regeneration: experimental studies in vitro and in rats. *Acta Biomater*. 2019;88:162-180.
- [34] PACELLI S, BASU S, WHITLOW J, et al. Strategies to develop endogenous stem cell-recruiting bioactive materials for tissue repair and regeneration. *Adv Drug Deliv Rev*. 2017;120:50-70.
- [35] SEHGAL RR, CARVALHO E, BANERJEE R. Mechanically stiff, zinc cross-linked nanocomposite scaffolds with improved osteostimulation and antibacterial properties. *ACS Appl Mater Interfaces*. 2016;8(22): 13735-13747.
- [36] URIBE P, JOHANSSON A, JUGDAOHSINGH R, et al. Soluble silica stimulates osteogenic differentiation and gap junction communication in human dental follicle cells. *Sci Rep*. 2020;10(1):9923.
- [37] LIU X, HE X, JIN D, et al. A biodegradable multifunctional nanofibrous membrane for periodontal tissue regeneration. *Acta Biomater*. 2020; 108:207-222.
- [38] VON BULOW V, RINK L, HAASE H. Zinc-mediated inhibition of cyclic nucleotide phosphodiesterase activity and expression suppresses TNF- α and IL-1 β production in monocytes by elevation of guanosine 3',5'-cyclic monophosphate. *J Immunol*. 2005;175(7):4697-4705.
- [39] DE A. Wnt/Ca²⁺ signaling pathway: a brief overview. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*. 2011;43(10):745-756.
- [40] LOURENCO AH, TORRES AL, VASCONCELOS DP, et al. Osteogenic, anti-osteoclastogenic and immunomodulatory properties of a strontium-releasing hybrid scaffold for bone repair. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2019;99:1289-1303.
- [41] ZOHAR R, NEMCOVSKY CE, KEBUDI E, et al. Tetracycline impregnation delays collagen membrane degradation in vivo. *J Periodontol*. 2004; 75(8):1096-1101.
- [42] MEDIERO A, WILDER T, REDDY VS, et al. Ticagrelor regulates osteoblast and osteoclast function and promotes bone formation in vivo via an adenosine-dependent mechanism. *FASEB J*. 2016;30(11):3887-3900.
- [43] WANG B, SHAO J, FU J, et al. Topical host-modulating therapy for periodontal regeneration: a systematic review and meta-analysis. *Tissue Eng Part B Rev*. 2019;25(6):526-543.
- [44] EL KHOLY K, FREIRE M, CHEN T, et al. Resolvin E1 promotes bone preservation under inflammatory conditions. *Front Immunol*. 2018;9: 1300.
- [45] KOWAL TJ, HAHN NC, EIDER S, et al. New bioactive glass scaffolds with exceptional qualities for bone tissue regeneration: response of osteoblasts and osteoclasts. *Biomed Mater*. 2018;13(2):025005.
- [46] JIA X, MIRON RJ, YIN C, et al. HnRNPL inhibits the osteogenic differentiation of PDLCS stimulated by SrCl₂ through repressing Setd2. *J Cell Mol Med*. 2019;23(4):2667-2677.
- [47] KANG W, LIANG Q, DU L, et al. Sequential application of bFGF and BMP-2 facilitates osteogenic differentiation of human periodontal ligament stem cells. *J Periodontol Res*. 2019;54(4):424-434.
- [48] SHAH AT, ZAHID S, IKRAM F, et al. Tri-layered functionally graded membrane for potential application in periodontal regeneration. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2019;103:109812.
- [49] SOWMYA S, MONY U, JAYACHANDRAN P, et al. Tri-Layered Nanocomposite Hydrogel Scaffold for the Concurrent Regeneration of Cementum, Periodontal Ligament, and Alveolar Bone. *Adv Healthc Mater*. 2017. doi: 10.1002/adhm.201601251.
- [50] VARONI EM, VIJAYAKUMAR S, CINCIANI E, et al. Chitosan-based trilayer scaffold for multitissue periodontal regeneration. *J Dent Res*. 2018;97(3):303-311.
- [51] 田卫东. 基于干细胞的牙功能组织模块用于牙及其支持组织再生[J]. *中华口腔医学杂志*, 2017,52(10):588-593.
- [52] PARK C, KIM K, LEE Y, et al. 3-D printing fabrication for periodontal complex regeneration; bone-pdl-cementum regeneration platform developments. *Tissue Eng Pt A*. 2015;21:S341-S342.
- [53] RASPERINI G, PILIPCHUK SP, FLANAGAN CL, et al. 3D-printed bioresorbable scaffold for periodontal repair. *J Dent Res*. 2015;94 (9 Suppl):153S-157S.
- [54] DING T, LI J, ZHANG X, et al. Super-assembled core/shell fibrous frameworks with dual growth factors for in situ cementum-ligament-bone complex regeneration. *Biomater Sci*. 2020;8(9):2459-2471.
- [55] GAIHRE B, JAYASURIYA AC. Comparative investigation of porous nano-hydroxyapatite/chitosan, nano-zirconia/chitosan and novel nano-calcium zirconate/chitosan composite scaffolds for their potential applications in bone regeneration. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2018;91:330-339.
- [56] LAUSCH AJ, CHONG LC, ULUDAG H, et al. Multiphasic collagen scaffolds for engineered tissue interfaces. *Adv Funct Mater*. 2018. doi: 10.1002/adfm.201804730.
- [57] GUNATILLAKE PA, ADHIKARI R. Biodegradable synthetic polymers for tissue engineering. *Eur Cell Mater*. 2003;5:1-16.
- [58] SAWADKAR P, MOHANAKRISHNAN J, RAJASEKAR P, et al. A Synergistic relationship between polycaprolactone and natural polymers enhances the physical properties and biological activity of scaffolds. *ACS Appl Mater Interfaces*. 2020;12(12):13587-13597.
- [59] LIAN M, SUN B, QIAO Z, et al. Bi-layered electrospun nanofibrous membrane with osteogenic and antibacterial properties for guided bone regeneration. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2019;176:219-229.
- [60] GURBUZ S, DEMIRTAS TT, YUKSEL E, et al. Multi-layered functional membranes for periodontal regeneration: preparation and characterization. *Mater Lett*. 2016;178:256-259.
- [61] HU Y, CAI K, LUO Z, et al. Layer-by-layer assembly of beta-estradiol loaded mesoporous silica nanoparticles on titanium substrates and its implication for bone homeostasis. *Adv Mater*. 2010;22(37):4146-4150.

(责任编辑: WJ, ZN, ZJP)