

[DOI]10.12016/j.issn.2096-1456.2023.03.010

· 综述 ·

# 基于细胞移植的牙髓再生动物体内模型的研究进展

刘健鑫, 叶玲, 汪成林

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体牙髓科, 四川 成都 (610041)

**【摘要】** 牙髓再生基础研究需要动物体内模型进行实验验证, 笔者在 Pubmed 网站对“pulp regeneration”、“stem cell”、“animal model”等关键词进行检索, 根据文献内容将基于细胞移植的牙髓再生动物体内模型分为异位再生模型、半原位再生模型和原位再生模型, 并对其优缺点与临床意义进行综述。根据文献综述结果, 目前研究支持: 异位再生模型使用最多, 操作简单, 但不能模拟临床情况; 半原位再生模型是异位再生模型的创新, 可以简单营造出更为真实的再生环境; 原位再生模型可以真实模拟临床相关流程及操作, 但因为操作难度大、周期长, 少有使用。以上三种动物模型在实验不同阶段有不同的应用价值: 异位再生模型适合实验初期测试外植入体安全性和是否具备再生能力; 半原位再生模型适合对有再生能力的外植入体进行深入的再生效果评价; 原位再生模型适合在临床研究之前对有明确再生能力的外植入体进行符合临床应用的再生效果和实用性评价。

**【关键词】** 牙髓疾病; 再生性牙髓治疗; 干细胞移植; 组织工程; 动物模型; 异位再生模型; 半原位再生模型; 原位再生模型

**【中图分类号】** R78 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 2096-1456(2023)03-0212-06

**【引用著录格式】** 刘健鑫, 叶玲, 汪成林. 基于细胞移植的牙髓再生动物体内模型的研究进展[J]. 口腔疾病防治, 2023, 31(3): 212-216. doi:10.12016/j.issn.2096-1456.2023.03.010.

**Research progress on *in vivo* models for stem cell-based pulp regeneration** LIU Jianxin, YE Ling, WANG Chenglin. State Key Laboratory of Oral Diseases & National Clinical Research Center for Oral Diseases & Department of Endodontics in West China Hospital of Stomatology, Sichuan University, Chengdu 610041, China  
Corresponding author: WANG Chenglin, Email: wxonet@163.com, Tel: 86-28-85503584

**【Abstract】** Basic research on pulp regeneration requires *in vivo* experiments. The PubMed database was searched for *in vivo* models of stem cell-based pulp regeneration using the following keywords: "pulp regeneration", "stem cell" and "animal model". The retrieved models were classified into ectopic, semiorthotopic and orthotopic regeneration models and their characteristics and clinical values were reviewed. This literature review indicated that the ectopic regeneration model is the most widely used model for the simple steps. However, this model does not accurately capture clinical situations. The semiorthotopic regeneration model, which is an improvement of the ectopic regeneration model, can create a more realistic regeneration environment. The orthotopic regeneration model can simulate clinical procedures that more closely resemble application, but it is less commonly used for difficult operations and long experimental periods. The applicability of the above three animal models depend on the stage of the animal experiment: the ectopic regeneration model is suitable to test the regenerative effect and biocompatibility of the implant complex; the semiorthotopic regeneration model is suitable to more persuasively evaluate the regeneration effect of the implant complex; and the orthotopic regeneration model is suitable to confirm the regeneration effect and practicability of the regenerative implant complex prior to clinical study.

**【收稿日期】** 2021-11-07; **【修回日期】** 2022-02-13

**【基金项目】** 四川省科技计划项目(2019YFS0035); 四川大学华西口腔医院探索与研发项目(LCYJ2019-18)

**【作者简介】** 刘健鑫, 本科, Email: 378626947@qq.com

**【通信作者】** 汪成林, 副教授, 博士, Email: wxonet@163.com, Tel: 86-28-85503584



微信公众号

**【Key words】** dental pulp diseases; regenerative endodontics; stem cell transplantation; tissue engineering; animal model; ectopic regeneration model; semiorthotopic regeneration model; orthotopic regeneration model

**J Prev Treat Stomatol Dis, 2023, 31(3): 212-216.**

**【Competing interests】** The authors declare no competing interests.

This study was supported by the grants from the Scientific-Plan Program of Sichuan Province (No. 2019YFS0035); Research and Development Program, West China Hospital of Stomatology Sichuan University (No. LCYJ2019-18).

基于细胞移植的牙髓再生属于组织工程技术,使用的外植入体一般包括外源性干细胞、支架和生长因子三个部分。虽然部分前瞻性临床研究提示基于细胞移植的牙髓再生能获得稳定理想的临床效果<sup>[1-2]</sup>,但目前技术并不成熟,大多数研究尚停留在体内实验阶段。动物模型的选择对体内实验结果影响巨大。生物医学实验常选用异位模型和原位模型,而因为牙髓再生环境的特殊,延伸出了一种新的动物模型——半原位模型。另外,因各模型构建难度、检测手段并不相同,研究者对动物模型的选择逐渐从单一的动物模型过渡到分阶段使用多种动物模型综合评价。本文从基于细胞移植的牙髓再生技术需求出发,在Pubmed网站对“pulp regeneration”、“stem cell”、“animal model”等关键词进行检索,收集了基于细胞移植的牙髓再生实验动物体内模型相关内容,将已建立的动物体内模型,根据诱导牙髓再生的环境不同分为异位再生模型、半原位再生模型、原位再生模型进行综述,旨在为研究者在牙髓再生实验中合理应用各类动物模型提供参考。

## 1 异位再生模型

异位再生模型是指外植入体诱导的牙髓再生发生位置不在牙齿根管内的免疫缺陷动物模型。异位再生模型只需将消毒后的外植入体植入免疫缺陷鼠的皮下或肾被膜下,操作简便。该模型使用小鼠或大鼠,在实验成本、实验周期、分析测试手段等方面拥有明显优势<sup>[3]</sup>。

皮下移植空间大、操作最方便,但由于存在植入体易移位、再生环境复杂等缺点会影响实验结果<sup>[4]</sup>。肾被膜下区域血运丰富、免疫反应弱、无内源性干细胞影响<sup>[5]</sup>,但该区域操作难度大,且组织易破裂使外植入体游离于腹腔造成实验失败。异位再生模型只是验证外植入体再生效果的简单模型,更侧重操作的简便性,目前主要采用皮下异位再生模型。

异位再生模型非常适合实验初步验证外植入

体的再生效果及安全性。如Chang等<sup>[6]</sup>用高温高压处理的人预处理牙本质基质(human treated dentin matrix, hTDM)搭载牙髓干细胞(dental pulp stem cell, DPSC)植入小鼠皮下,第6周观察到了比未处理hTDM组更多的成牙本质细胞和牙本质样组织,同时观察到了釉质结构,该阳性结果指导Chang等设计了之后的原位再生实验<sup>[6]</sup>。Atalayin等<sup>[7]</sup>将添加了重组人骨形态发生蛋白-2(recombinant human bone morphogenetic protein-2, rhBMP-2)的羟基磷灰石/ $\beta$ -磷酸三钙复合支架、D,L-丙交酯支架和L-丙交酯与D,L-丙交酯共聚材料支架分别搭载hDPSC植入免疫缺陷小鼠皮下,第6周和第12周均检测到牙本质涎磷蛋白(dentin sialophosphoprotein, DSPP)、牙本质基质蛋白-1(dentin matrix protein-1, DMP-1)等牙本质发生相关蛋白表达水平明显高于不含rhBMP-2的对照组,初步证明了rhBMP-2可作为基于细胞移植的牙髓再生实验的外源性生长因子使用。这些在异位再生模型上得到的结果为后续实验奠定了基础。

异位再生模型的缺点在于再生环境与真实情况相去甚远,实验结论准确性不高,因此通常作为牙髓再生体内实验的第一步,之后需要其他再生模型进一步验证。

## 2 半原位再生模型

半原位再生模型是指外植入体诱导的牙髓再生发生在真实的牙齿片段根管内,但该牙齿片段经过体外处理并移植于动物体内非牙齿生理所在位置的免疫缺陷动物模型。该模型相对于异位再生模型难度大、操作要求高,但具有如下优势:提供干细胞与牙齿硬组织的接触界面,能有效诱导各类干细胞分化为成牙本质细胞<sup>[8]</sup>;提供贴近生理情况的三维再生环境;限制了外植入体的血供和植入位置本身的干扰<sup>[9]</sup>。另外,由于仍可使用小鼠或大鼠建立模型,成本低、周期短和分析检测容易的优势仍然存在。

半原位再生模型可分为牙薄片模型和牙片段

模型两种,植入部位通常也选择在皮下或肾被膜下。

### 2.1 牙薄片模型

牙薄片模型是在垂直于牙体长轴方向上切取牙根颈部薄片,将牙髓组织去净后,填入合适的支架和干细胞并植入小鼠皮下或大鼠肾被膜下。牙薄片模型增加了外植入体与牙本质的接触界面,用牙本质诱导成牙本质细胞向分化、促进牙髓再生<sup>[8]</sup>。同时,牙本质界面的存在对再生组织的功能层次有指示定位的作用。该模型能初步检验外植入体的功能性牙髓牙本质复合体组织再生能力,另外由于能诱导多能干细胞向成牙本质细胞向分化,牙薄片模型非常适合在非牙源性干细胞的牙髓再生实验中作为动物实验的第一步<sup>[10]</sup>。

由于两端开放的结构特点,填充的支架材料需要一定的刚性和可塑性以防脱出,可聚合的左旋聚乳酸(poly L-lactic acid, PLLA)使用较多<sup>[11]</sup>。有研究将基于PLLA的牙薄片搭载hDPSC后植入免疫缺陷小鼠皮下<sup>[12]</sup>,2周至1个月后观察到实验组高分泌活性细胞的出现,DMP-1、DSPP等成牙本质细胞分化标志基因表达明显高于仅含PLLA支架的对照组,体现了牙薄片模型中牙本质对于成牙本质细胞分化的诱导作用。

除PLLA外,还有一些使用其他方法或支架构建的牙薄片模型。Lei等<sup>[10]</sup>将人骨髓间充质干细胞(human bone marrow mesenchymal stem cell, hBMMSC)细胞聚集体接种到2 mm厚的牙薄片内并植入大鼠肾被膜下,6周后在牙本质内壁上观察到类成牙本质细胞层,而不含细胞的牙薄片和仅含细胞团的异位再生对照组均未发现类成牙本质细胞。该实验证明了hBMMSC的成牙本质潜能和牙本质壁对hBMMSC的诱导作用。Tan等<sup>[13]</sup>将交联的透明质酸凝胶与牙胚来源的间充质干细胞混合注射到1 mm厚的牙薄片内并植入裸小鼠皮下,10周后观察到沿牙本质内壁排列的柱状类牙本质细胞和管状牙本质的形成。该模型比基于PLLA的牙薄片模型更容易构建,且由于该凝胶的可注射性,具有临床转化价值。

牙薄片半原位再生模型环境血供丰富,且不需要进行根管预备等临床操作,但对牙髓再生真实环境的模拟相对有限,目前仅作为一种验证外植入体功能性再生能力的简单模型。

### 2.2 牙片段模型

由于牙片段模型是在保留根尖的基础上切取牙根方一定长度的牙片段,根管预备消毒后填入

合适的外植入体,冠方封闭并植入动物相应部位。牙片段模型的根管长度接近实际牙根,并且根管内部营养供给只能由根方进入,贴近真实血供情况。另外,实验对牙片段的处理技术可为临床操作提供参考。

牙片段模型截取的根管长度和预备后的根方直径直接影响血供,能否实现全长根管内的牙髓再生是评价外植入体再生效果和应用条件的重要指标。Huang等<sup>[14]</sup>通过预备得到根管长5~6 mm、根方直径1~2.5 mm的牙片段,经消毒清洗后用聚-D,L-丙交酯-乙交酯(poly-D,L-lactide and glycolide, PLG)支架搭载hDPSC置入牙片段内并植入免疫缺陷小鼠皮下,3个月后观察到再生组织充满整个根管腔,有类似天然牙髓的细胞密度、血管化的髓样组织及类牙本质。该研究团队在同样实验条件下更换成根尖孔较小(1 mm)、根管较长(6~10 mm)的牙片段模型,发现牙髓再生仅发生在根尖部分<sup>[15]</sup>。该结果提示该外植入体成牙本质能力虽强,但血管生成能力不足,临床上很难保证全长根管内血供充足。

为了保障外植入体的血供,牙片段模型被用来测试不同的支架或生长因子的效果。可注射、生物降解性好的载细胞微球系统拥有允许营养快速扩散的巨大表面积,以基于PLLA的微球系统最具代表性<sup>[16]</sup>。有研究用牙片段模型探究搭载hDPSC的基于PLLA的纳米纤维海绵微球。预备牙片段的根尖孔直径为1.5~2 mm、根长为6 mm。结果发现,仿细胞外基质多孔结构能促进hDPSC的附着、增殖,并实现牙片段全长范围内的牙髓-牙本质样组织再生<sup>[17]</sup>。Li等<sup>[18]</sup>预备13 mm长、根尖直径1 mm的牙片段,把包裹有血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的PLLA微球系统搭载hDPSC置于其中,植入裸小鼠皮下9周后观察到全长范围内富含血管的牙髓样组织和类牙本质以及与牙本质小管对齐排列的成牙本质样细胞层。该结果提示牙片段根尖直径应预备至1 mm以上。

牙片段模型构建复杂,但对牙髓再生环境的模拟较全面,可综合探究外植入体的功能性牙髓牙本质复合体的组织再生能力。另外,牙片段处理技术和临床操作相关,对于后续研究及临床转化有参考价值。

## 3 原位再生模型

异位再生模型、半原位再生模型易于控制和

研究,但与实际临床情况仍有以下不同:植入部位的血供与根尖周组织有一定差异;消毒、牙体预备等处理程序是体外操作;使用动物是免疫缺陷动物。而原位再生模型是指外植入体诱导的牙髓再生发生在生理位置死髓牙根管内的动物模型,该模型高度还原真实情况,其实验结果是临床转化的重要依据。另外,在原位再生模型上能将应用于临床的基于细胞归巢的牙髓再生技术作为对照组使用,实验结果更有说服力。目前常用的有雪貂、狗、小型猪三种原位再生动物模型。

### 3.1 雪貂模型

雪貂动物模型的根管解剖结构类似人类。雄性雪貂未发育完全的尖牙长约15~17 mm,足以使用临床牙科设备进行根管内操作,雪貂发育较快,50~90日龄即可用于实验,因此雪貂在牙体牙髓领域实验中应用很多,特别是基于细胞归巢的牙髓再生实验<sup>[19]</sup>。

目前的原位再生模型需要使用该动物的同种异体干细胞或自体细胞以避免强烈的免疫排斥反应。2016年 Homayounfar 等<sup>[20]</sup>从雪貂尖牙中分离鉴定了雪貂牙髓干细胞(ferret dental pulp stem cell, fDPSC)。Verma 等<sup>[21]</sup>用藻酸盐/纤维蛋白凝胶支架搭载 fDPSC 植入感染的雪貂尖牙根管内,在实验组中发现了牙本质样矿化组织的沉积。虽然和基于细胞归巢的牙髓再生方法对比无明显差异,但这项研究首次在雪貂原位模型上尝试基于细胞移植的牙髓再生实验,展现了雪貂原位再生模型的可操作性。

### 3.2 狗模型

狗牙发育时间在4~6月龄,狗尖牙和前磨牙的解剖结构和牙发育过程与人类相似。其中,比格犬体型和牙齿大小类似人类、性格温顺,常用于构建狗的牙髓原位再生模型。

Ashiry 等<sup>[22]</sup>把是否搭载自体 DPSC 作为变量,将加入了 VEGF 等生长因子的壳聚糖水凝胶支架植入狗前牙根管内。结果发现搭载自体狗牙髓干细胞(dog dental pulp stem cell, dDPSC)的实验组根管内形成牙髓样组织和管状类牙本质,而未搭载干细胞的对照组中未观察到明显的牙髓样组织再生。该动物模型展现了这种使用自体干细胞的外植入体的临床前景,值得进一步探究。

Iohara 等<sup>[23]</sup>通过粒细胞集落刺激因子(granulocyte colony-stimulating factor, G-CSF)在体外刺激同种异体 dDPSC 得到大量干细胞后,用胶原支架搭载并植入狗右上第二切牙和右下第三切牙根管

内,在第12周的免疫组化结果中观察到了再生至釉牙骨质界的牙髓样组织形成,再生组织的血管化及神经化水平显著高于未动员 dDPSC 对照组。证明了 G-CSF 干细胞动员法能提高干细胞分离培养效率,并有助于牙髓再生。

Huang 等<sup>[24]</sup>认为牙髓组织集干细胞、支架、生长因子于一体,是天然的组织工程材料。他们将狗自体乳牙牙髓组织整体取出后植入自身前牙根管内,以基于细胞归巢的牙髓再生方法为对照组,结果显示实验组沿管壁形成管状牙本质样结构,提示自体乳牙牙髓组织可直接作为完整的外植入体用于基于细胞移植的牙髓再生。

### 3.3 小型猪模型

小型猪因为解剖学、病理生理学或遗传学上与人类的高度相似性,是口腔组织再生实验如骨再生、牙周组织再生最常用的大型动物研究模型<sup>[25]</sup>,但目前在基于细胞移植的牙髓再生领域仅少量研究涉及。

Kodonas 等<sup>[26]</sup>首次使用了小型猪原位再生模型,使用胶原或 PLGA 搭载异体猪牙髓干细胞(swine dental pulp stem cell, sDPSC)植入小型猪上下前牙根管内,术后10周观察到新生牙本质样结构沉积并有类成牙本质细胞沿壁有序排列,免疫组化结果显示新生矿化组织 DMP-1、骨唾液酸蛋白-II(bone sialophosphoprotein- II, BSP- II)抗体呈阳性。而不含细胞或支架的对照组出现了牙根吸收。Xuan 等<sup>[1]</sup>同样使用了单根管的小型猪原位再生模型,将分离的小型猪自体脱落乳牙牙髓干细胞细胞聚集体植入下颌切牙根管中,3个月后的免疫组化分析显示再生出了具有血管和神经的功能性牙髓牙本质复合体,而仅植入氢氧化钙的对照组无再生组织出现。此外,多根管牙的牙髓再生也在小型猪原位再生模型中报道实现。Zhu 等<sup>[15]</sup>用羟基磷灰石/ $\beta$ -磷酸三钙支架搭载异体和自体 sDPSC 植入小型猪第三前磨牙根管内,在多根管中均成功再生出全长范围内富含血管的牙髓样组织和新生牙本质样结构。这些实验结果提示了同种异体干细胞在小型猪模型中是安全有效的。同时,小型猪多根管牙牙髓再生的成功也拓展了小型猪模型在牙髓再生技术的应用范围。

## 4 展 望

牙髓再生动物模型中,异位再生模型适合实验初期用于测试干细胞、支架和生长因子的安全性和是否具备再生能力,半原位再生模型通过简

单还原部分真实情况对有再生能力的外植入体进行深入的再生效果评价,而原位再生模型适合在临床研究之前对有再生能力的外植入体进行最终的再生效果和实用性评价。希望研究者们能设计完整的实验方案,合理使用各类动物模型,为后来者提供模型构建经验,为构建的外植入体提供更充分的临床前证据,最终推进临床试验的开展<sup>[2-4]</sup>。

#### 参考文献

- [1] Xuan K, Li B, Guo H, et al. Deciduous autologous tooth stem cells regenerate dental pulp after implantation into injured teeth[J]. *Sci Transl Med*, 2018, 10(455): eaaf3227. doi: 10.1126/scitranslmed.aaf3227.
- [2] Brizuela C, Meza G, Urrejola D, et al. Cell-based regenerative endodontics for treatment of periapical lesions: a randomized, controlled phase I/II clinical trial[J]. *J Dent Res*, 2020, 99(5): 523-529. doi: 10.1177/0022034520913242.
- [3] Babb RC, Chandrasekaran D, Zaugg LK, et al. A mouse model to study reparative dentinogenesis[J]. *Methods Mol Biol*, 2019, 1922: 111-119. doi: 10.1007/978-1-4939-9012-2\_11.
- [4] Scott MA, Levi B, Askarinam A, et al. Brief review of models of ectopic bone formation[J]. *Stem Cells Dev*, 2012, 21(5): 655-667. doi: 10.1089/scd.2011.0517.
- [5] Slater BJ, Lenton KA, James A, et al. *Ex vivo* model of cranial suture morphogenesis and fate[J]. *Cells Tissues Organs*, 2009, 190(6): 336-346. doi: 10.1159/000228157.
- [6] Chang CC, Lin T, Wu SY, et al. Regeneration of tooth with allogeneous, autoclaved treated dentin matrix with dental pulpal stem cells: an *in vivo* study[J]. *J Endod*, 2020, 46(9): 1256-1264. doi: 10.1016/j.joen.2020.05.016.
- [7] Atalayin C, Tezel H, Dageci T, et al. *In vivo* performance of different scaffolds for dental pulp stem cells induced for odontogenic differentiation[J]. *Braz Oral Res*, 2016, 30(1): e120. doi: 10.1590/1807-3107BOR-2016.vol30.0120.
- [8] Huang CC, Narayanan R, Warshawsky N, et al. Dual ECM biomimetic scaffolds for dental pulp regenerative applications[J]. *Front Physiol*, 2018, 9: 495. doi: 10.3389/fphys.2018.00495.
- [9] Piva E, Tarlé SA, Nör JE, et al. Dental pulp tissue regeneration using dental pulp stem cells isolated and expanded in human serum[J]. *J Endod*, 2017, 43(4): 568-574. doi: 10.1016/j.joen.2016.11.018.
- [10] Lei G, Yu Y, Jiang Y, et al. Differentiation of BMMSCs into odontoblast-like cells induced by natural dentine matrix[J]. *Arch Oral Biol*, 2013, 58(7): 862-870. doi: 10.1016/j.archoralbio.2013.01.002.
- [11] Nakashima M, Iohara K, Bottino MC, et al. Animal models for stem cell-based pulp regeneration: foundation for human clinical applications[J]. *Tissue Eng Part B Rev*, 2019, 25(2): 100-113. doi: 10.1089/ten.TEB.2018.0194.
- [12] Demarco FF, Casagrande L, Zhang Z, et al. Effects of morphogen and scaffold porogen on the differentiation of dental pulp stem cells[J]. *J Endod*, 2010, 36(11): 1805-1811. doi: 10.1016/j.joen.2010.08.031.
- [13] Tan LH, Jun W, Shuo Y, et al. Regeneration of dentin-pulp-like tissue using an injectable tissue engineering technique[J]. *RSC Adv*, 2015, 5(73): 59723-59737. doi: 10.1039/c5ra06481c.
- [14] Huang GT, Yamaza T, Shea LD, et al. Stem/progenitor cell-mediated de novo regeneration of dental pulp with newly deposited continuous layer of dentin in an *in vivo* model[J]. *Tissue Eng Part A*, 2010, 16(2): 605-615. doi: 10.1089/ten.TEA.2009.0518.
- [15] Zhu X, Liu J, Yu Z, et al. A miniature swine model for stem cell-based de novo regeneration of dental pulp and dentin-like tissue[J]. *Tissue Eng Part C Methods*, 2018, 24(2): 108-120. doi: 10.1089/ten.tec.2017.0342.
- [16] Kuang R, Zhang ZP, Jin XB, et al. Nanofibrous spongy microspheres for the delivery of hypoxia-primed human dental pulp stem cells to regenerate vascularized dental pulp[J]. *Acta Biomater*, 2016, 33: 225-234. doi: 10.1016/j.actbio.2016.01.032.
- [17] He Q, Zhang J, Liao Y, et al. Current advances in microsphere based cell culture and tissue engineering[J]. *Biotechnol Adv*, 2020, 39: 107459. doi: 10.1016/j.biotechadv.2019.107459.
- [18] Li X, Ma C, Xie X, et al. Pulp regeneration in a full-length human tooth root using a hierarchical nanofibrous microsphere system[J]. *Acta Biomater*, 2016, 35: 57-67. doi: 10.1016/j.actbio.2016.02.040.
- [19] Alexander A, Torabinejad M, Vahdati SA, et al. Regenerative endodontic treatment in immature noninfected ferret teeth using blood clot or synoss putty as scaffolds[J]. *J Endod*, 2020, 46(2): 209-215. doi: 10.1016/j.joen.2019.10.029.
- [20] Homayounfar N, Verma P, Nosrat A, et al. Isolation, characterization, and differentiation of dental pulp stem cells in ferrets[J]. *J Endod*, 2016, 42(3): 418-424. doi: 10.1016/j.joen.2015.12.002.
- [21] Verma P, Nosrat A, Kim JR, et al. Effect of residual bacteria on the outcome of pulp regeneration *in vivo*[J]. *J Dent Res*, 2017, 96(1): 100-106. doi: 10.1177/0022034516671499.
- [22] El Ashiry EA, Alamoudi NM, El AM, et al. Tissue engineering of necrotic dental pulp of immature teeth with apical periodontitis in dogs: radiographic and histological evaluation[J]. *J Clin Pediatr Dent*, 2018, 42(5): 373-382. doi: 10.17796/1053-4625-42.5.9.
- [23] Iohara K, Utsunomiya S, Kohara S, et al. Allogeneic transplantation of mobilized dental pulp stem cells with the mismatched dog leukocyte antigen type is safe and efficacious for total pulp regeneration[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2018, 9(1): 116. doi: 10.1186/s13287-018-0855-8.
- [24] Huang Y, Tang X, Cehreli ZC, et al. Autologous transplantation of deciduous tooth pulp into necrotic young permanent teeth for pulp regeneration in a dog model[J]. *J Int Med Res*, 2019, 47(10): 5094-5105. doi: 10.1177/0300060519862094.
- [25] Mangione F, Salmon B, Ezeldeen M, et al. Characteristics of large animal models for current cell-based oral tissue regeneration[J]. *Tissue Eng Part B Rev*, 2022, 28(3): 489-505. doi: 10.1089/ten.TEB.2020.0384
- [26] Kodonas K, Gogos C, Papadimitriou S, et al. Experimental formation of dentin-like structure in the root canal implant model using cryopreserved swine dental pulp progenitor cells[J]. *J Endod*, 2012, 38(7): 913-919. doi: 10.1016/j.joen.2012.02.005.

(编辑 张琳)



官网