

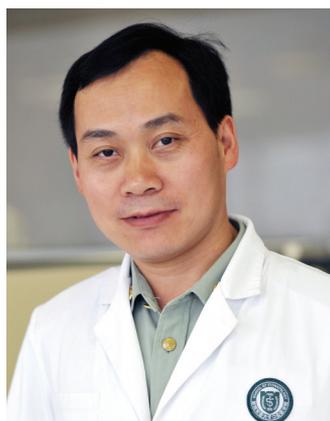
[DOI]10.12016/j.issn.2096-1456.2019.01.003

· 专家论坛 ·

## 牙周再生治疗现状和进展

陈发明, 高丽娜, 陈芳

军事口腔医学国家重点实验室, 国家口腔疾病临床医学研究中心, 陕西省口腔生物工程技术研究中心, 第四军医大学口腔医院牙周科, 陕西 西安(710032)



**【通信作者简介】** 陈发明,男,1972年出生,医学博士,旅英学者,教育部长江学者特聘教授(口腔临床医学),现为空军军医大学(第四军医大学)口腔医学院牙周病科教授、主任医师、科室主任,博士研究生导师。长期从事牙周组织再生的基础和临床研究,在生长因子控释技术、生物材料仿生设计促进牙周组织再生研究和牙周内源性再生原理与策略等方面取得重要研究进展。以第一作者及通信作者在组织工程、再生医学、生物材料和牙周病学等学术期刊上发表SCI论文60余篇,总影响因子超过400,单篇最高影响因子25.799;发表论文他引超过2000次,单篇最高他引317,入选2017中国高被引学者(Most Cited Chinese Researchers)医学榜单。担任中华口腔医学会牙周专业委员会常委、陕西省口腔医学会牙周专业委员会副主任委员。主持国家自然科学基金项目5项(含重点项目1项);入选2012年度教育部新世纪优秀人才支持计划、总后科技新星、陕西省中青年科技创新领军人才,是陕西省重点科技创新团队——牙周组织工程与再生团队带头人,获陕西省科学技术一等奖1项、中华口腔医学会科技一等奖1项。参编国际专著2部、原卫生部首版口腔研究生统编教材2部。

**【摘要】** 牙周炎是人类最常见的口腔疾病,严重影响口颌系统功能,是成年人失牙的最主要原因。此外,作为长期持续性感染源,牙周炎还可引发人体慢性炎症和免疫反应,对全身系统性健康也有着重要影响。传统牙周炎治疗聚焦炎症控制,虽可阻止或延缓疾病进程,却难以获得满意的牙周病损组织再生。随着引导组织再生术、骨移植术、生长因子和生物材料等新技术、新材料引入牙周炎治疗,牙周组织再生的方法愈加丰富,临床效果也得到极大提高。展望未来,干细胞移植、内源性再生策略有望成为牙周病损组织生理性、功能性再生的重要方法。本文从以上方面对牙周组织再生的基础研究和临床应用现状简要回顾,并对未来该领域的发展前景和机遇进行展望。

**【关键词】** 牙周炎; 引导组织再生术; 生长因子; 干细胞移植; 内源性再生; 牙周再生

**【中图分类号】** R781.4 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 2096-1456(2019)01-0009-08

**【引用著录格式】** 陈发明,高丽娜,陈芳. 牙周再生治疗现状和进展[J]. 口腔疾病防治, 2019, 27(1): 9-16.

**Current status and progress of periodontal regeneration therapy** CHEN Faming, GAO Lina, CHEN Fang. State Key Laboratory of Military Stomatology & National Clinical Research Center for Oral Diseases & Shaanxi Engineering Research Center for Dental Materials and Advanced Manufacture, Department of Periodontology, School of Stomatology, The Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China

Corresponding author: CHEN Faming, Email: cfmsunhh@fmmu.edu.cn, Tel: 0086-29-84776089

**【Abstract】** Periodontitis is the most common oral disease and has a high incidence in humans. Periodontitis seriously affects the function of the oral and maxillofacial systems and is the most important cause of tooth loss in adults. In addi-

**【收稿日期】** 2018-07-05; **【修回日期】** 2018-08-26

**【基金项目】** 国家自然科学基金项目(81471791, 81530050)

**【通信作者】** 陈发明,教授,博士, Email: cfmsunhh@fmmu.edu.cn, Tel: 0086-29-84776089

tion, as a long-term and persistent source of infection, periodontitis can not only trigger chronic inflammation and immune responses but also has an important impact on systemic health. Traditional periodontitis treatment focuses on inflammation control, and although this can prevent or delay the progression of the disease, satisfactory periodontal lesion tissue regeneration is difficult to obtain. With the introduction of new technologies and new materials such as guided tissue regeneration, bone grafting, growth factors and biological materials for the treatment of periodontitis, the method of periodontal tissue regeneration is more abundant, and the clinical effect has been greatly improved. In the future, stem cell transplantation and endogenous regeneration strategies are expected to become important methods for physiological and functional regeneration of periodontal lesions. This article briefly reviews the basic research and clinical application of periodontal tissue regeneration and forecasts the future development prospects and opportunities in this field.

**【Key words】** Periodontitis; Guided tissue regeneration; Growth factors; Stem cell transplantation; Endogenous regeneration; Periodontal regeneration

牙周炎发病率极高,危害极大,是导致成年人牙齿缺失的最主要原因,严重影响人类的生活质量。不仅如此,牙周炎与全身多种疾病具有相关性,已经证实牙周炎是糖尿病的第六并发症<sup>[1]</sup>。控制牙周疾病发展、修复牙周组织缺损是牙周病临床治疗的最终目标。然而,传统牙周炎治疗聚焦炎症控制,阻止或延缓疾病进程,难以获得满意的牙周组织再生。由此可见,寻求有效、稳定的牙周组织再生技术具有重要的临床意义<sup>[2-3]</sup>。目前临床常用的牙周组织再生技术包括引导组织再生术(guided tissue regeneration, GTR)、植骨术、生长因子的应用等。这些再生方法单独或联合应用,大大丰富了牙周缺损修复手段、提高了牙周病治疗的临床效果。但是,这些技术仍存在一定的局限性,如可预期性差、适应证有限等。实际上,目前的再生技术主要应用于窄而深的骨下袋缺损,当牙周缺损较大时,往往无法获得满意的牙周组织再生。随着研究的进一步深入,干细胞移植、内源性再生等策略有望成为未来牙周病组织再生的重要方法,为牙周生理性、功能性重建提供了新的机遇。本文对牙周组织再生的基础研究和临床应用现状做一简要回顾,并对该领域的发展前景和挑战进行展望。

## 1 传统牙周治疗

牙周炎是一种慢性感染性疾病,菌斑是其始动因子。因此,传统的牙周治疗以去除菌斑、控制感染为主要目的,主要技术包括龈上洁治术、龈下刮治术和根面平整术及牙周翻瓣术等。随着新器械、新设备的涌现(口腔显微内窥镜、Vector治疗仪、激光、龈下喷砂机、光动力仪等)<sup>[4-6]</sup>,牙周治疗朝着可视化、精细化、微创化的方向发展,既提高

了菌斑的清除效果、缩短了治疗时间,又减少了治疗过程中产生的疼痛、不适及继发损伤。可以说,目前的牙周传统治疗质量和效果,已经可以满足绝大多数牙周炎患者的治疗需求,达到延缓或阻止疾病进一步发展的目的。但是,对于已经造成牙周缺损的牙周炎患者,传统牙周治疗后无法获得缺损组织理想的修复和再生。

## 2 牙周再生治疗

为进一步提升牙周炎治疗效果,特别是一些骨下袋牙周缺损患者,在菌斑控制的基础上获得牙周缺损组织的再生,是治疗所希望达到的理想目标。实现牙周组织再生,可以彻底消除骨下袋及其所带来的再感染风险,重建牙周组织对患牙的支撑功能,意义重大、影响深远。第一代牙周组织再生技术起源于上世纪八十年代末、九十年代初,以GTR技术引入牙周炎治疗为标志,后来伴随多种骨材料的问世,GTR与植骨术联合应用已经成为目前常用的临床再生治疗方法;第二代牙周组织再生技术是伴随着蛋白工程等生长因子重组技术的发展而建立起来的,以生长因子的临床应用为主要手段(其中也包含自体来源的内源性生长因子的应用);第三代牙周组织再生技术是基于组织工程、干细胞治疗的再生新策略,通过进一步基础和临床转化研究,有望获得高效、可预期的牙周组织再生。

### 2.1 第一代牙周组织再生技术

2.1.1 引导组织再生 GTR技术是指在牙周手术中利用膜性材料作为屏障,阻挡牙龈上皮在愈合过程中沿根面生长,避免牙龈结缔组织与根面接触,同时提供一定的空间,引导具有形成新附着力的牙周膜细胞优先占据根面,从而在已暴露于

牙周袋内的根面上形成新的牙骨质,并有牙周膜纤维埋入,形成牙周组织的再生,即形成新附着性愈合。因此,屏障膜的选择是该技术的关键因素。屏障膜包括不可吸收膜和可吸收膜两大类。不可吸收膜主要以聚四氟乙烯为代表,具有良好的生物相容性和力学性能,临床中可单独使用。由于需要二次手术取出,不可吸收膜临床应用仅局限于一些特定的病例。可吸收膜以胶原膜为代表(如Bio-Gide等),具有良好的生物相容性,表面利于细胞生长、参与组织修复。但可吸收膜力学性能差,往往需要与植骨材料联合使用,主要适用于垂直型骨缺损(Ⅱ壁或Ⅲ壁)、根分叉病变和个别牙根面裸露的治疗,也可用于种植术所需的牙槽嵴增高等。虽然GTR联合植骨术已经成为临床牙周治疗中针对上述情况的常用方法,且临床效果比单纯翻瓣术好<sup>[7]</sup>,但也有研究表明,GTR联合植骨术,并不一定可以获得比单纯植骨术更好的临床效果<sup>[8]</sup>。因此,牙周植骨术是否一定需要联合GTR,有待进一步临床试验研究去证实。

**2.1.2 植骨材料的研究和应用** 牙周植骨术是采用骨或骨组织替代品等移植材料来修复因牙周病造成的牙槽骨缺失的一种方法。目的在于通过移植材料促进新骨形成,修复骨缺损,恢复牙槽骨的解剖形态,从而达到理想的骨再生和新附着性愈合。理想的牙周植骨材料应具有良好的生物相容性、生物安全性、生物活性(骨诱导)及生物力学性能等特性。植骨材料按照来源分类,分为自体骨、异体骨、异种骨和骨替代品,各自优缺点见(表1)。

表1 植骨材料的分类和特性

Table 1 Classification and characteristics of bone graft materials

分类	来源	特性	缺点
自体骨	口腔内部	骨引导	可利用材料有限
	口腔外部	骨诱导 骨生成	可能需要二阶段手术
同种异体骨	新鲜冷冻骨	骨引导	不能完全排除传播疾病的可能性
	冻干骨	骨诱导	
	脱矿冻干骨		
异种骨	牛骨	骨引导	所有产品均不能排除传播疾病的可能性
	珊瑚		吸收缓慢
骨替代品	聚合物	骨引导	吸收能力不同
	生物陶瓷		
	磷酸三钙		
	羟基磷灰石 生物活性玻璃		

研究表明,不同来源植骨材料在修复牙周垂直型骨缺损时其愈合方式不尽相同。自体骨、异体骨、异种骨移植后常见愈合方式包括:完全牙周组织再生,部分牙周组织再生伴长结合上皮形成,完全的长结合上皮形成。骨替代品移植后未观察到完全的牙周组织再生,仅有部分牙周组织再生伴长结合上皮形成或完全的长结合上皮愈合,骨替代移植材料常常被纤维组织包裹。不同愈合方式的出现可能与植骨材料的颗粒大小、吸收率、牙龈生物型等因素有关<sup>[9]</sup>。

Bio-Oss<sup>®</sup>是一种天然的具有骨引导作用的多孔的骨移植材料,它有助于牙周和颌骨缺损处的骨生长。它是通过特殊工艺加工,将所有的有机成分从牛的松质骨中彻底去除,而精细的骨小梁结构和内部空隙被保存下来,为成骨细胞的长入提供了支架,并保证了凝血块的稳定和血管的再生。Bio-Oss<sup>®</sup>联合Bio-Gide<sup>®</sup>为目前临床较常用的再生方式。Bio-Oss Collagen是在Bio-Oss<sup>®</sup>骨粉的基础上加入猪胶原蛋白制成的,它较Bio-Oss<sup>®</sup>操作简便、稳定性好、适应范围更广<sup>[10-11]</sup>,因此,在临床中也得到广泛应用。

植骨材料在口腔临床中不仅用于治疗牙周垂直性骨缺损(Ⅱ壁或Ⅲ壁骨下袋)、根分叉病变,而且还用于种植术所需的骨增量和颌面外科中。随着蛋白工程等生长因子重组技术的发展,在植骨材料中复合生长因子来诱导骨形成,有望加速骨的愈合,增强骨的修复能力,从而提高临床治疗效果<sup>[12]</sup>。

## 2.2 第二代牙周组织再生技术

**2.2.1 重组人生长因子的应用** 生长因子是一类生物活性因子,能够与靶细胞上的相应受体结合,调控细胞的增殖、分化、代谢、免疫应答等。目前发现与牙周组织再生密切相关的生长因子有成纤维生长因子2(fibroblast growth factor-2, FGF-2)、血小板源性生长因子(platelet derived growth factor, PDGF)、生长分化因子5(growth differentiation factor-5, GDF-5)、骨形态发生蛋白(bone morphogenetic protein, BMP)等。这些生长因子在许多动物实验及临床试验中已被证实能够促进牙周组织再生<sup>[13-15]</sup>。值得注意的是,目前重组人生长因子的临床使用方法仍不明确,如:一种重组人生长因子是否可以同时促进牙周软硬组织生成、不同患者群体是否需要使用不同的生长因子等。有学者采用Meta分析,评估了rhFGF-2和rhPDGF-BB的治疗效

果,结果表明,0.3%的rhFGF-2和0.3 mg/mL的rhPDGF-BB显示出最强的牙周组织再生能力,但在单纯牙龈退缩的病例中,应用rhPDGF-BB并未展现出明显优势<sup>[16]</sup>。因此,大量的基础研究和临床试验仍在进一步推进中。BMPs在骨改建中起着重要的作用,它可以诱导基质矿化和骨形成。BMP-2和BMP-7是BMP家族中研究最多的。其中,rhBMP-2是目前唯一通过测试并被FDA批准作为一种可选择的骨引导骨移植材料。与其它材料相比,rhBMP-2具有更多的一级临床证据<sup>[17]</sup>。另外,重组生长因子在骨缺损区发挥作用需要维持一定的浓度,因此,选择合适的载体尤为重要。常用的载体有:胶原海绵、明胶、纤维蛋白、各种植骨材料等<sup>[18-19]</sup>。未来的研究将着眼于设计具有缓释/控释功能的载体系统来有序的、可控的释放生长因子,从而更有效的促进牙周组织再生。

**2.2.2 釉基质蛋白衍生物的应用** Emdogain是通过乙酸法、纯化层析法从猪恒牙胚提取获得一种生物活性材料,其主要成分是釉基质蛋白衍生物(enamel matrix derivative, EMD)。在过去二十年的研究中,釉基质蛋白衍生物显示出良好的牙周缺损修复效果,不仅能促进无细胞性牙骨质再生,促进牙周膜细胞的增殖和分化,而且能够在组织学上呈现出真正的牙周组织再生<sup>[20-21]</sup>。临床应用中,无论单独使用釉基质蛋白衍生物,还是釉基质蛋白衍生物联合GTR或植骨材料都可以有效促进牙周组织再生,但值得注意的是,釉基质蛋白衍生物在有些研究中并未展现出明显优势,其原因可能与试验中组织缺损高度的异质性、植骨材料的特性<sup>[22]</sup>、外科手术是否微创<sup>[23]</sup>等因素有关。因此,大规模、多中心的临床试验还需进一步开展。釉基质蛋白衍生物目前在临床上主要应用于垂直骨缺损<sup>[24]</sup>、根分叉病变<sup>[25]</sup>、牙龈退缩<sup>[26]</sup>等的修复治疗。釉基质蛋白衍生物如何解决水平骨缺损、种植体周围炎、种植体周围牙龈退缩等问题在未来将会被进一步深入研究。

**2.2.3 血小板浓缩提取制品的应用** 血小板浓缩提取制品是患者自体外周血制备的材料。富血小板血浆(platelet rich plasma, PRP)是第一代血小板浓缩提取制品,其在采血和制备时需加入外源性添加剂,故其生物安全性欠佳。富血小板纤维蛋白(platelet rich fibrin, PRF)作为第二代血小板浓缩提取制品,其制备技术简化、无需添加外源性制剂,具有更好的生物安全性。浓缩生长因子(con-

centrate growth factors, CGF)是新一代的血小板浓缩提取制品,它延续了富血小板纤维蛋白的安全性,形成了更多、更致密的纤维团块。由于CD34阳性细胞的存在,CGF还有利于血管的形成<sup>[27]</sup>。PRF和CGF与PRP相比,富含更多的生长因子<sup>[28]</sup>。血小板浓缩提取制品由于具有操作简单、成本低、良好的生物安全性等特点,因此已被广泛应用于临床治疗如:牙周缺损再生、拔牙窝位点保存、牙槽嵴增量、上颌窦提升、牙龈退缩等<sup>[29]</sup>。

PRP、PRF、CGF在临床应用中既可单独使用,也可与骨移植材料联合使用提高其活性,还可以制备成膜片用于诱导组织再生。研究表明,将PRP、PRF应用于Ⅱ度根分叉病变、垂直型骨缺损治疗中,术后探诊深度、附着丧失水平、牙槽骨的再生量均得到改善<sup>[30-33]</sup>。CGF在牙周再生中的应用研究刚刚起步。Qiao等<sup>[34]</sup>设计随机临床对照试验,观察CGF治疗牙周骨下袋的临床效果,试验分为2组,其中试验组CGF联合牛多孔骨矿物质(bovine porous bone mineral, BPBM)植入骨缺损区,对照组仅植入BPBM骨粉。术后1年,从探诊深度的下降、附着水平的升高以及骨缺损区硬组织的充填情况三方面评估,两组相对于基线都有明显的好转,CGF联合BPBM组探诊深度的降低和附着水平的提高上明显高于BPBM组,且有统计学意义。CGF联合BPBM组虽然有更好的骨充填结果,但与BPBM组相比,无明显差异。为了更好地了解CGF在临床上对牙周组织再生的影响,还需大量的临床摸索。

### 2.3 第三代牙周组织再生技术

**2.3.1 干细胞与牙周组织再生** 引导组织再生术、植骨术、生长因子的应用等虽然可以促进牙周组织再生,但其可预期性差,且具有一定的局限性,当牙周缺损较大时,牙周组织再生受限,原因可能与牙周组织中干细胞数量减少、剩余干细胞功能受损有关。随着组织工程技术和干细胞治疗技术的发展,通过干细胞移植促进牙周组织再生,成为新的研究方向<sup>[35]</sup>。

**2.3.1.1 牙周再生相关干细胞和细胞移植** 目前应用于牙齿再生和牙周修复的干细胞包括:牙髓干细胞(dental pulp stem cells, DPSCs)、人脱落乳牙干细胞(stem cells from human exfoliated deciduous teeth, SHED)、根尖牙乳头干细胞(stem cells from apical papilla, SCAPs)、牙囊祖细胞(dental follicle progenitor cells, DFCs)、牙周膜干细胞(periodontal

ligament stem cells, PDLSCs)、口腔上皮干细胞(dental epithelial stem cells, DESCs)、骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BMMSCs)、脂肪干细胞(adipose-derived stem cells, ADSCs)、胚胎干细胞(embryonic stem cells, ESCs)和诱导多功能干细胞(induced pluripotent stem cells, iPSCs)等。不同的干细胞对于牙周组织再生的效果也不尽相同,研究表明,牙源性干细胞优于非牙源性干细胞,牙髓干细胞与牙周膜干细胞效果相当<sup>[36]</sup>。大量的动物实验及临床病例报告表明,利用上述干细胞移植来修复牙周组织缺损均取得了良好的效果<sup>[37-46]</sup>。

干细胞不仅可以促进牙周组织再生,而且还具有免疫调节能力。用同种异体PDLSCs处理大鼠的骨缺损,术后21天,形成大量的骨充填,并且产生与牙骨质和牙周膜相似的结构<sup>[47]</sup>。将自体 and 异体PDLSCs移植到手术建立的小型猪牙周缺损区,结果显示两种PDLSCs均能够再生出牙周组织<sup>[48-49]</sup>。把异体PDLSCs置于胶原支架中移植到羊体内建造的牙周缺损模型中,治疗后4周观察到新的牙槽骨形成<sup>[50]</sup>。观察异体来源的SHED修复小型猪中建立的牙周缺损,结果发现SHED可有效修复牙周炎引起的硬组织和软组织的缺失,且无不良影响<sup>[43]</sup>。研究表明,这些细胞具有低免疫原性和明显的免疫抑制作用,一方面是通过分泌前列腺素E2(prostaglandin E2, PGE2),导致PGE2诱导的T细胞失去效能<sup>[48, 51]</sup>;另一方面,通过程序化细胞凋亡蛋白1和程序化细胞凋亡蛋白配体1结合,使得细胞-细胞发生接触,抑制B细胞激活<sup>[52]</sup>。

干细胞促进组织再生依赖于能够准确到达病损处发挥功能,因此,细胞移植方式至关重要。细胞的移植方式主要分为支架承载型和无支架型。支架承载型主要为干细胞结合支架材料,但支架材料的降解过程可能引起局部炎症反应,影响再生微环境使其推广受限。无支架型包括细胞注射和细胞膜片两种技术。细胞注射技术在干细胞介导组织工程中应用普遍<sup>[53]</sup>。局部注射DPSCs或PDLSCs治疗牙周组织缺损,可以有效再生牙周组织<sup>[54]</sup>。局部注射BMMSCs悬液于大鼠牙周炎模型上,观察到牙周组织再生<sup>[44]</sup>。但由于细胞悬液的流动性,直接注射后细胞容易丢失,导致发挥作用的细胞量很少,因此,细胞注射技术虽然可以有效促进牙周组织再生,但还不能实现牙周组织的完全再生。细胞膜片是通过在维生素C上培养细

胞<sup>[55]</sup>或者应用温度反应细胞培养皿培养细胞<sup>[56]</sup>形成的。细胞膜片能够保存细胞外基质和细胞之间连接,这些结构可以被蛋白水解酶如胰蛋白酶和/或裂解酶分解掉。细胞膜片技术在牙周组织缺损修复、眼角膜重建、肝脏再生等多种疾病治疗中均显示出积极的效果<sup>[57-61]</sup>。因此,将细胞膜片技术引入到牙周组织工程将是牙周组织再生、重建的一个方向,但细胞膜片容易挛缩,外源性载体可能会干扰组织的代谢及改建,深入探讨细胞和细胞外基质的生物学机制以及优化膜片制备的方式<sup>[62-63]</sup>,充分保证有效的膜片强度并避免种子细胞的不利分化将是未来研究的重点。

2.3.1.2 干细胞治疗牙周炎的临床应用研究 将基于干细胞的牙周治疗从动物研究转移到人体临床试验的时代已经到来。应用PDLSCs、BMMSCs和牙龈来源细胞或骨膜来源细胞进行牙周组织再生已经进入临床试验阶段<sup>[64]</sup>。目前,一些牙髓和牙周组织再生的临床试验已经注册运行<sup>[65]</sup>,其中包括两个牙周组织再生的临床试验,一是在35例患者中利用自体PDLSCs修复牙周骨下壁缺损的研究,主要评价其安全性和有效性(NCT01357785)。二是笔者课题组的一项单中心随机试验研究,同样是关于细胞安全性和有效性的研究(NCT01082822)<sup>[66]</sup>。该课题组采用自体PDLSCs与Bio-Oss骨移植材料治疗牙周垂直骨缺损。纳入的患者被随机分配到细胞组(Bio-Oss复合PDLSCs细胞膜片+GTR)或对照组(Bio-Oss联合GTR)。在为期12个月的追踪研究中,笔者评估了不良事件的发生率及牙槽骨的再生量等指标。研究结果显示,PDLSCs临床安全性高,患者均无不良反应;每组均显示牙槽骨高度(骨缺损高度下降)较术前显著增加( $P < 0.001$ )。然而,在细胞组和对照组之间差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。基于干细胞的牙周治疗疗效仍需通过多中心、大样本量、随机对照研究来进一步验证。此外,另两个试验组正在招募自愿者,一组是慢性牙周炎患者接受同种异体人DPSCs局部注射,观察其再生牙周组织的能力(NCT02523651)。另一组是评价应用BMMSCs结合富含纤维蛋白凝胶的胶原支架,修复牙槽骨缺损的安全性和有效性的随机对照试验研究(NCT02449005)。

2.3.2 内源性再生技术 干细胞治疗是组织工程和再生医学领域目前研究的热点,并日益成为转化医学的研究核心。然而,当前巨大的研究投入并未真正惠及更多的临床患者,绝大多数研究还

仅停留在实验室研究阶段,临床转化面临严峻的困难和挑战。这不仅是因为目前干细胞治疗和组织工程技术在治疗非致死性疾病中的临床应用前景饱受争议,还体现在“风险”、效益评估过程中,无论从社会、医师还是患者的角度,应用一种高投入、高风险的技术治疗目前已有相应替代治疗方法(如拔牙后行牙种植术和义齿修复)的疾病时,很难评估其竞争力和生命力。在再生牙科学研究领域,内源性再生策略将为目前处于困境的牙髓、牙周组织再生带来一种全新的治疗理念。利用生物技术募集机体内源性干细胞作为牙周组织再生的“工具”,称为“牙周内源性再生”<sup>[2]</sup>。所谓“内源性”仅针对细胞来源而言,并不排除其它治疗干预措施。内源性再生策略避开了组织工程中涉及的复杂过程,减少了时间成本,尽管代表了临床上最可行的方法,但内源性再生成为患者治疗的可靠和有效途径之前,必须更好地理解 and 实质性解决三个问题:一是如何使干细胞找到“回家”的路,主要策略为通过释放生物活性因子如P物质、基质衍生因子-1a(stromal-derived factor 1a, SDF-1a)、干细胞因子、粒细胞集落刺激因子(granulocyte colony-stimulating factor, G-CSF)和单核细胞趋化蛋白(monocyte chemoattractant proteins, MCPs)等作为信号分子,招募吸引干细胞“回家”;二是如何将归巢的干细胞“留”下来,主要应用仿生生物材料设计模拟细胞再生微环境来留住细胞;三是如何使留下来的干细胞更好的发挥再生功能,主要方式是通过设计可以激活免疫反应的生物材料来调节免疫应答,从而刺激和增强机体干细胞自我修复创伤的能力,虽然调节免疫应答对于组织再生至关重要,但使生物材料精确地调控先天免疫和适应性免疫应答的方法仍处于研究的早期阶段。此外,我们还不知道如何在特定的再生环境中控制免疫刺激和免疫抑制之间的平衡。因此,未来研究将致力于开发可以募集细胞、调控细胞的仿生生物材料来促进内源性组织再生<sup>[67-68]</sup>。此外,体内追踪干细胞运动的研究,以及旨在确定干细胞“招募”机制的进一步研究,将为生物材料设计领域的研究开辟新的途径。

### 3 前景与展望

长期以来,人们一直寻求一种理想的方法来实现牙周组织的完全再生。但是,无论使用哪种技术或是几种技术的联合使用,都存在许多问题

亟待解决。提高治疗预期性,修复水平骨缺损或复杂骨缺损,加快细胞治疗临床转化等是今后研究的重点。因此,未来还需要更多的多中心、长期、大样本量的临床随机对照试验开展来提高牙周组织再生技术的可预期性。另外,随着3D打印技术的发展,有望解决水平骨缺损或复杂骨缺损的难题。而内源性再生技术利用内源性干细胞归巢促进组织再生,可以避免细胞培养、细胞储存等问题,有望加快临床转化,但相关的技术研究仍处在基础研究阶段。

值得注意的是,牙周组织再生临床治疗效果不能尽如人意,重要原因之一就是人群对疾病的认知不足,忽略菌斑控制的重要性,防病于未然意识薄弱。所有的牙周组织再生治疗结果均离不开患者自身良好的菌斑控制。因此,需要在树立人群口腔健康意识、加强医生和患者相互配合、加快医疗体制改革等各方面努力,才能从根本上改善和提高牙周健康状况,提高临床治疗疗效。

### 参考文献

- [1] Pihlstrom BL, Michalowicz BS, Johnson NW. Periodontal diseases[J]. Lancet, 2005, 366(9499): 1809-1820.
- [2] Chen FM, Zhang J, Zhang M, et al. A review on endogenous regenerative technology in periodontal regenerative medicine[J]. Biomaterials, 2010, 31(31): 7892-7927.
- [3] Larsson L, Decker AM, Nibali L, et al. Regenerative medicine for periodontal and peri-implant diseases[J]. J Dent Res, 2016, 95(3): 255-266.
- [4] Kuang YC, Hu B, Chen J, et al. Effects of periodontal endoscopy on the treatment of periodontitis: a systematic review and meta-analysis[J]. J Am Dent Assoc, 2017, 148(10): 750-759.
- [5] Orekhova LY, Neizberg DM, Demchenko TV, et al. Prospects of endoscopic technology for diagnostics of inflammatory periodontal disease[J]. Stomatologiya (Mosk), 2016, 95(5): 4-7.
- [6] Bundidpun P, Srisuwantha R, Laosrisin N. Clinical effects of photodynamic therapy as an adjunct to full-mouth ultrasonic scaling and root planing in treatment of chronic periodontitis[J]. Laser Ther, 2018, 27(1): 33-39.
- [7] Mopur JM, Devi TR, Ali SM, et al. Clinical and radiographic evaluation of regenerative potential of GTR membrane (Biomesh®) along with alloplastic bone graft (Biograft®) in the treatment of periodontal intrabony defects[J]. J Contemp Dent Pract, 2013, 14(3): 434-439.
- [8] Keles GC, Sumer M, Cetinkaya B, et al. Effect of autogenous cortical bone grafting in conjunction with guided tissue regeneration in the treatment of intraosseous periodontal defects[J]. Eur J Dent, 2010, 4(4): 403-411.
- [9] Sculean A, Nikolidakis D, Nikou G, et al. Biomaterials for promot-

- ing periodontal regeneration in human intrabony defects: a systematic review[J]. *Periodontol* 2000, 2015, 68(1): 182-216.
- [10] Palachur D, Prabhakara RK, Murthy KR, et al. A comparative evaluation of bovine-derived xenograft (Bio-Oss Collagen) and type I collagen membrane(Bio-Gide)with bovine-derived xenograft (Bio-Oss Collagen) and fibrin fibronectin sealing system(TISSEEL) in the treatment of intrabony defects: a clinico-radiographic study [J]. *J Indian Soc Periodontol*, 2014, 18(3): 336-343.
- [11] Heberer S, Al-Chawaf B, Hildebrand DA, et al. Histomorphometric analysis of extraction sockets augmented with Bio-Oss collagen after a 6-week healing period: a prospective study[J]. *Clin Oral Implants Res*, 2008, 19(12): 1219-1225.
- [12] Oortgiesen DA, Plachokova AS, Geenen C, et al. Alkaline phosphatase immobilization onto Bio-Gide (R) and Bio-Oss (R) for periodontal and bone regeneration[J]. *J Clin Periodontol*, 2012, 39(6): 546-555.
- [13] Nagayasu-Tanaka T, Anzai J, Takaki S, et al. Action mechanism of fibroblast growth factor-2 (FGF-2) in the promotion of periodontal regeneration in Beagle dogs[J]. *PLoS One*, 2015, 10(6): e0131870.
- [14] Cao Y, Liu ZH, Xie YL, et al. Adenovirus-mediated transfer of hepatocyte growth factor gene to human dental pulp stem cells under good manufacturing practice improves their potential for periodontal regeneration in swine[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2015, 6: 249.
- [15] Lee J, Wikesjö UM. Growth/differentiation factor-5: pre-clinical and clinical evaluations of periodontal regeneration and alveolar augmentation--review[J]. *J Clin Periodontol*, 2014, 41(8): 797-805.
- [16] Li FF, Yu FY, Xu X, et al. Evaluation of recombinant human FGF-2 and PDGF-BB in periodontal regeneration: a systematic review and Meta-analysis[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 65.
- [17] Lo KW, Ulerly BD, Ashe KM, et al. Studies of bone morphogenetic protein-based surgical repair[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2012, 64(12): 1277-1291.
- [18] Calin C, Patrascu I. Growth factors and beta-tricalcium phosphate in the treatment of periodontal intraosseous defects: a systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials[J]. *Arch Oral Biol*, 2016, 66: 44-54.
- [19] Geiger M, Li RH, Friess W. Collagen sponges for bone regeneration with rhBMP-2[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2003, 55(12): 1613-1629.
- [20] Hammarström L. Enamel matrix, cementum development and regeneration[J]. *J Clin Periodontol*, 1997, 24(9): 658-668.
- [21] Miron RJ, Sculean A, Cochran DL, et al. Twenty years of enamel matrix derivative: the past, the present and the future[J]. *J Clin Periodontol*, 2016, 43(8): 668-683.
- [22] Apicella A, Heunemann P, Dejace LA, et al. Scaffold requirements for periodontal regeneration with enamel matrix derivative proteins[J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2017, 156: 221-226.
- [23] Ghezzi C, Ferrantino L, Bernardini L, et al. Minimally invasive surgical technique in periodontal regeneration: a randomized controlled clinical trial pilot study[J]. *Int J Periodontics Restorative Dent*, 2016, 36(4): 475-482.
- [24] Matarasso M, Iorio-Siciliano V, Blasi A, et al. Enamel matrix derivative and bone grafts for periodontal regeneration of intrabony defects. A systematic review and meta-analysis[J]. *Clin Oral Investig*, 2015, 19(7): 1581-1593.
- [25] Viana Casarin RC, Ribeiro ED, Nociti J, et al. Enamel matrix derivative proteins for the treatment of proximal class II furcation involvements: a prospective 24-month randomized clinical trial[J]. *J Clin Periodontol*, 2010, 37(12): 1100-1109.
- [26] Alexiou A, Vouros I, Menexes GA. Comparison of enamel matrix derivative (Emdogain) and subepithelial connective tissue graft for root coverage in patients with multiple gingival recession defects: a randomized controlled clinical study[J]. *Quintessence Int (Berl)*, 2017, 48(5): 381-389.
- [27] Rodella LF, Favero G, Boninsegna R, et al. Growth factors, CD34 positive cells, and fibrin network analysis in concentrated growth factors fraction[J]. *Microsc Res Tech*, 2011, 74(8): 772-777.
- [28] Masuki H, Okudera T, Watanebe T, et al. Growth factor and pro-inflammatory cytokine contents in platelet-rich plasma (PRP), plasma rich in growth factors (PRGF), advanced platelet-rich fibrin (A-PRF), and concentrated growth factors (CGF)[J]. *Int J Implant Dent*, 2016, 2(1): 19.
- [29] Plachokova AS, Nikolidakis D, Mulder JA, et al. Effect of platelet-rich plasma on bone regeneration in dentistry: a systematic review [J]. *Clin Oral Implants Res*, 2008, 19(6): 539-545.
- [30] Roselló-Camps À, Monje A, Lin GH, et al. Platelet-rich plasma for periodontal regeneration in the treatment of intrabony defects: a meta-analysis on prospective clinical trials[J]. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*, 2015, 120(5): 562-574.
- [31] Saleem M, Pisani F, Zahid FM, et al. Adjunctive platelet-rich plasma (PRP) in infrabony regenerative treatment: a systematic review and RCT's meta-analysis[J]. *Stem Cells Int*, 2018: 9594235.
- [32] Thorat MK, Baghele ON, Rakhewar PS. Adjunctive effect of autologous platelet-rich fibrin in the treatment of intrabony defects in localized aggressive periodontitis patients: a randomized controlled split-mouth clinical trial[J]. *Int J Periodont Restor Dent*, 2017, 37(6): 302-309.
- [33] Miron RJ, Zucchelli G, Pikos MA, et al. Use of platelet-rich fibrin in regenerative dentistry: a systematic review[J]. *Clin Oral Investig*, 2017, 21(6): 1913-1927.
- [34] Qiao J, Duan J, Zhang Y, et al. The effect of concentrated growth factors in the treatment of periodontal intrabony defects[J]. *Future science OA*, 2016, 2(4): FS136.
- [35] Bartold PM, McCulloch CA, Narayanan AS, et al. Tissue engineering: a new paradigm for periodontal regeneration based on molecular and cell biology[J]. *Periodontol* 2000, 2000, 24(1): 253-269.
- [36] Ashri NY, Ajlan SA, Aldahmash AM. Dental pulp stem cells biology and use for periodontal tissue engineering[J]. *Saudi Med J*, 2015, 36(12): 1391-1399.
- [37] Bright R, Hynes K, Gronthos S, et al. Periodontal ligament-derived cells for periodontal regeneration in animal models: a systematic review[J]. *J Periodontal Res*, 2015, 50(2): 160-172.
- [38] Khorsand A, Eslaminejad MB, Arabsofghar M, et al. Autologous

- dental pulp stem cells in regeneration of defect created in canine periodontal tissue[J]. *J Oral Implantol*, 2013, 39(4): 433-443.
- [39] Hu JC, Cao Y, Xie YL, et al. Periodontal regeneration in swine after cell injection and cell sheet transplantation of human dental pulp stem cells following good manufacturing practice[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2016, 7(1): 130.
- [40] Aimetti M, Ferrarotti F, Cricenti L, et al. Autologous dental pulp stem cells in periodontal regeneration: a case report[J]. *Int J Periodont Restor Dent*, 2014, 34(Suppl): S27-S33.
- [41] 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[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2017, 8(1): 179.
- [42] Li Y, Zhao SM, Nan X, et al. Repair of human periodontal bone defects by autologous grafting stem cells derived from inflammatory dental pulp tissues[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2016, 7(1): 141.
- [43] Fu XR, Jin LY, Ma P, et al. Allogeneic stem cells from deciduous teeth in treatment for periodontitis in miniature swine[J]. *J Periodontol*, 2014, 85(6): 845-851.
- [44] Du J, Shan Z, Ma P, et al. Allogeneic bone marrow mesenchymal stem cell transplantation for periodontal regeneration[J]. *J Dent Res*, 2014, 93(2): 183-188.
- [45] Tobita M, Mizuno H. Adipose-derived stem cells and periodontal tissue engineering[J]. *Int J Oral Maxillofac Implants*, 2013, 28(6): e487-e493.
- [46] Requicha JF, Viegas CA, Munoz F, et al. A tissue engineering approach for periodontal regeneration based on a biodegradable double-layer scaffold and adipose-derived stem cells[J]. *Tissue Eng Part A*, 2014, 20(17/18): 2483-2492.
- [47] 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]. *J Periodontal Res*, 2014, 49(3): 333-345.
- [48] Ding G, Liu Y, Wang W, et al. Allogeneic periodontal ligament stem cell therapy for periodontitis in swine[J]. *Stem Cells*, 2010, 28(10): 1829-1838.
- [49] Liu Y, Zheng Y, Ding G, et al. Periodontal ligament stem cell-mediated treatment for periodontitis in miniature swine[J]. *Stem Cells*, 2008, 26(4): 1065-1073.
- [50] Mrozik KM, Wada N, Marino VA, et al. Regeneration of periodontal tissues using allogenic periodontal ligament stem cells in an ovine model[J]. *Regen Med*, 2013, 8(6): 711-723.
- [51] Ding G, Wang W, Liu Y, et al. Effect of cryopreservation on biological and immunological properties of stem cells from apical papilla [J]. *J Cell Physiol*, 2010, 223(2): 415-422.
- [52] Liu OS, Xu JJ, Ding G, et al. Periodontal ligament stem cells regulate B lymphocyte function *via* programmed cell death protein 1 [J]. *Stem Cells*, 2013, 31(7): 1371-1382.
- [53] Kinnaird T, Stabile E, Burnett MS, et al. Local delivery of marrow-derived stromal cells augments collateral perfusion through paracrine mechanisms[J]. *Circulation*, 2004, 109(12): 1543-1549.
- [54] Baik HS, Park J, Lee KJ, et al. Local application of periodontal ligament stromal cells promotes soft tissue regeneration[J]. *Oral Dis*, 2014, 20(6): 574-581.
- [55] Wei F, Qu C, Song T, et al. Vitamin C treatment promotes mesenchymal stem cell sheet formation and tissue regeneration by elevating telomerase activity[J]. *J Cell Physiol*, 2012, 227(9): 3216-3224.
- [56] Owaki T, Shimizu T, Yamato M, et al. Cell sheet engineering for regenerative medicine: current challenges and strategies[J]. *Biotechnol J*, 2014, 9(7): 904-914.
- [57] Nishida K, Yamato M, Hayashida Y, et al. Corneal reconstruction with tissue-engineered cell sheets composed of autologous oral mucosal epithelium[J]. *N Engl J Med*, 2004, 351(12): 1187-1196.
- [58] Ohashi K, Yokoyama T, Yamato M, et al. Engineering functional two- and three-dimensional liver systems *in vivo* using hepatic tissue sheets[J]. *Nat Med*, 2007, 13(7): 880-885.
- [59] Hasegawa M, Yamato M, Kikuchi A, et al. Human periodontal ligament cell sheets can regenerate periodontal ligament tissue in an athymic rat model[J]. *Tissue Eng*, 2005, 11(3/4): 469-478.
- [60] Akizuki T, Oda S, Komaki M, et al. Application of periodontal ligament cell sheet for periodontal regeneration: a pilot study in beagle dogs[J]. *J Periodontal Res*, 2005, 40(3): 245-251.
- [61] Iwata T, Yamato M, Tsuchioka H, et al. Periodontal regeneration with multi-layered periodontal ligament-derived cell sheets in a canine model[J]. *Biomaterials*, 2009, 30(14): 2716-2723.
- [62] Kim JH, Ko SY, Lee JH, et al. Evaluation of the periodontal regenerative properties of patterned human periodontal ligament stem cell sheets[J]. *J Periodontal Implant Sci*, 2017, 47(6): 402-415.
- [63] Zhu M, Miao B, Zhu J, et al. Transplantation of periodontal ligament cell sheets expressing human  $\beta$  defensin3 promotes antiinflammation in a canine model of periodontitis[J]. *Mol Med Rep*, 2017, 16(5): 7459-7467.
- [64] Monsarrat P, Vergnes JN, Nabet C, et al. Concise review: mesenchymal stromal cells used for periodontal regeneration: a systematic review[J]. *Stem Cells Transl Med*, 2014, 3(6): 768-774.
- [65] Hu L, Liu Y, Wang S. Stem cell-based tooth and periodontal regeneration[J]. *Oral Dis*, 2017, 24(5): 12703.
- [66] Chen FM, Gao LN, Tian BM, et al. Treatment of periodontal intrabony defects using autologous periodontal ligament stem cells: a randomized clinical trial[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2016, 7: 33.
- [67] Li X, He XT, Yin Y, et al. Administration of signalling molecules dictates stem cell homing for *in situ* regeneration[J]. *J Cell Mol Med*, 2017, 21(12): 3162-3177.
- [68] Yin Y, Li X, He XT, et al. Leveraging stem cell homing for therapeutic regeneration[J]. *J Dent Res*, 2017, 96(6): 601-609.

(编辑 张琳,徐琛蓉)