

[DOI] 10.12016/j.issn.2096-1456.2019.03.004

· 基础研究 ·

## 2种脱矿处理牙本质基质表面结构及促hPDLCs成骨性能研究

刘倩<sup>1</sup>, 蓝露芳<sup>1</sup>, 严骏毅<sup>2</sup>, 田卫东<sup>3</sup>, 郭淑娟<sup>1</sup>

1. 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, 四川成都(610041); 2. 南通市口腔医院牙周病科, 江苏南通(226000); 3. 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学院创伤与整形外科, 四川成都(610041)

**【摘要】** 目的 比较不完全脱矿牙本质基质——经处理牙本质基质(treated dentin matrix, TDM)和完全脱矿牙本质基质——脱矿牙本质基质(demineralized dentin matrix, DDM)的材料制备、表面特性及对人牙周膜细胞(human periodontal ligament cells, hPDLCs)增殖与成骨分化的影响, 为研究牙齿来源的骨替代材料治疗牙周骨缺损提供实验依据。方法 以人离体牙分别采用乙二胺四乙酸(ethylene diamine tetraacetic acid, EDTA)溶液梯度脱矿的方法制备TDM和通过盐酸浸泡完全脱矿的方法制备DDM, 通过扫描电镜观察其表面结构; 通过培养液浸泡法制备TDM和DDM的浸提液。将hPDLCs分为3组: TDM组(加入TDM浸提液)、DDM组(加入DDM浸提液)、对照组(加入含10%血清的培养液), 分别诱导培养hPDLCs。通过CCK-8(Cell Counting Kit-8)法检测hPDLCs增殖情况, 检测碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)表达和矿化结节形成情况。结果 TDM表面疏松多孔、结构完整, 三维结构性能优于DDM。TDM组和DDM组hPDLCs增殖能力均强于对照组, TDM组细胞增殖能力强于DDM组( $F = 36.480, P < 0.05$ ); TDM组细胞ALP活性高于DDM组; 成骨诱导14 d后TDM组和DDM组均可见茜素红标记的矿化结节, TDM组多于DDM组。结论 TDM表面结构、促进hPDLCs增殖和成骨分化的能力均优于DDM, 其有望作为牙周骨缺损的新型骨替代材料。

**【关键词】** 牙本质基质; 脱矿牙本质基质; 骨替代材料; 牙周膜细胞; 牙周组织再生; 骨组织再生

**【中图分类号】** R781.4 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 2096-1456(2019)03-0159-08

**【引用著录格式】** 刘倩, 蓝露芳, 严骏毅, 等. 2种脱矿处理牙本质基质表面结构及促hPDLCs成骨性能研究[J]. 口腔疾病防治, 2019, 27(3): 159-166.

**Research on the surface structure of a dentin matrix with complete demineralization and incomplete demineralization and the osteogenic property promotion of human periodontal ligament cells** LIU Qian<sup>1</sup>, LAN Lufang<sup>1</sup>, YAN Junyi<sup>2</sup>, TIAN Weidong<sup>3</sup>, GUO Shujuan<sup>1</sup>.

1. State Key Laboratory of Oral Diseases & National Clinical Research Center for Oral Diseases & Dept. of Periodontics, West China Hospital of Stomatology, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 2. Dept. of Periodontics, Nantong Hospital of Stomatology, Nantong 226000, China; 3. State Key Laboratory of Oral Diseases & National Clinical Research Center for Oral Diseases & Dept. of Oral and Maxillofacial Surgery, West China Hospital of Stomatology, Sichuan University, Chengdu 610041, China

Corresponding author: GUO Shujuan, Email: guo.shujuan@yahoo.com, Tel: 0086-13550047365

**【Abstract】 Objective** To analyze the different fabrication methods and surface structure of treated dentin matrix (TDM) and demineralized dentin matrix (DDM) and their diverse function on promoting the proliferation and osteogenic differential capability of human periodontal ligament cells (hPDLCs). This study provides a preliminary basis for the treatment of periodontal bone defects with bone substitutes from teeth. **Methods** TDM was made from human dentin

**【收稿日期】** 2018-07-27; **【修回日期】** 2018-08-16

**【基金项目】** 国家自然科学基金项目(81200792)

**【作者简介】** 刘倩, 住院医师, 硕士研究生, Email: 1208657123@qq.com

**【通信作者】** 郭淑娟, 副教授, 博士, Email: guo.shujuan@yahoo.com, Tel: 0086-13550047365

matrices and demineralized incompletely by soaking in different concentrations of ethylene diamine tetra-acetic while DDM was made of human dentin matrices and demineralized completely by soaking in a hydrochloric acid solution followed by observation via SEM. The liquid extracts of TDM and DDM were collected according to the protocol of the International Standardization Organization (ISO 10993). Then, hPDLCs were divided into the following three groups: the TDM group (liquid extracts of TDM), the DDM group (liquid extracts of DDM), the control group (a-modified eagle medium with 10% fetal bovine serum), hPDLCs were cultured with liquid extracts of TDM or DDM, or a-modified eagle medium with 10% FBS). hPDLC proliferation was detected by a Cell Counting Kit-8 (CCK-8). The alkaline phosphatase (ALP) expression and calcified nodules of hPDLCs were tested. **Results** TDM obtained a preferable surface structure compared to DDM due to more sufficiently exposed dentinal tubules and looser fiber bundles of the intertubular and peritubular dentin. Both TDM and DDM promoted the proliferation of hPDLCs compared with the control group, and the proliferation of hPDLCs was significantly greater in the TDM group compared to the DDM group ( $F = 36.480, P < 0.05$ ). The ALP activity of hPDLCs in the TDM group was higher than the DDM group. After a 14-day osteogenic induction, Alizarin red staining mineral nodes were observed in both groups; however, the TDM group displayed more calcified nodules than the DDM group. **Conclusion** The advantages of TDM including the surface structure, proliferation and osteogenic differentiation of hPDLCs, are more prominent than those of DDM, suggesting that TDM is a potential promising bone graft substitute in periodontal regeneration.

**【Key words】** Dentin matrix; Demineralized dentin matrix; Bone graft substitute; Periodontal ligament cells; Periodontal regeneration; Bone regeneration

牙周治疗的最终目标是获得牙周组织再生,其中牙槽骨的再生是建立牙周新附着的基础<sup>[1]</sup>,骨替代材料已成为牙周骨缺损再生的研究热点<sup>[2-4]</sup>。目前应用较为广泛的骨移植材料有同种异体骨、异种骨、人工骨替代物等<sup>[5]</sup>,但因来源受限、伦理争议、免疫排斥等问题,均存在一定的缺点。近年来牙齿以其容易获得甚至可自体供应的优点,作为一种骨替代材料来源受到关注。由离体牙完全脱矿处理获得的脱矿牙本质基质(demineralized dentin matrix, DDM)是一种新型骨替代材料,可促进骨重建<sup>[6]</sup>,临床上已有一定的应用<sup>[7]</sup>。由离体牙梯度脱矿获得的脱细胞基质材料<sup>[8]</sup>即经处理牙本质基质(treated dentin matrix, TDM),可用作生物牙根的支架材料<sup>[9-10]</sup>,释放多种生长相关的蛋白分子,并引导牙本质再生<sup>[11-12]</sup>;但其是否能作为骨替代材料,用于牙周组织再生还有待研究。本实验拟通过体外实验比较TDM与DDM的表面特性,及二者对人牙周膜细胞(human periodontal ligament cells, hPDLCs)增殖和成骨分化的影响,为研究牙齿来源的骨替代物治疗牙周骨缺损的效果提供初步依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 主要材料和试剂

高通量组织研磨仪(北京鼎昊源科技有限公

司);扫描电镜(Inspect F, FEI公司,美国);流式细胞仪(C6, BD Accuri™, 美国);钴-60辐照(四川原子能研究所);三氯甲烷-甲醇(成都市科隆化学品有限公司);胰蛋白酶(Millipore, 美国);胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)(Gibco, 美国); $\alpha$ -MEM完全培养液(GE Healthcare Life Sciences, 美国);CCK-8试剂盒(江苏凯基生物技术股份有限公司);碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)显色试剂盒(南京建成生物工程研究);茜素红(Sigma, 美国);CD34、CD45、CD29、D105和CD146抗体(Abcam, 美国)。

### 1.2 TDM与DDM的制备和表面结构比较

1.2.1 离体牙收集 于四川大学华西口腔医院收集天然离体牙。纳入标准:①患者年龄18周岁以上,无龋坏、无牙周病的多生牙、阻生牙或因正畸需要拔除的牙齿;②无明显黑色或色素沉着;③杂色部分体积不超过总体积的1/2;④牙齿体积不小于3 mm<sup>3</sup>。患者及家属知情同意,实验经医院伦理委员会批准。

1.2.2 DDM制备 将离体牙洗净,高速手机去除附着的软组织及牙髓组织,-80℃下储存24 h,置于0.6 mol·L<sup>-1</sup>盐酸溶液1周,使其完全脱矿,蒸馏水漂洗,三氯甲烷-甲醇脱脂24 h,冻干,高通量组织研磨仪2 000 r·min<sup>-1</sup>,研磨3 min,筛取粒径200  $\mu$ m左右的颗粒,钴-60辐照消毒后,2℃保存备用。

1.2.3 TDM制备 离体牙以高速手机去除牙周组

织、牙冠、根尖部分2 mm牙根、表面牙釉质、牙骨质及髓腔侧前期牙本质;蒸馏水超声清洗10 min, 3次;依次置于 $17 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  (5 min)、 $10 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  (5 min)及 $5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  (10 min)乙二胺四乙酸(ethylene diamine tetraacetic acid, EDTA)溶液中梯度脱矿;每种浓度脱矿后均用蒸馏水超声清洗,每次10 min。冻干后用高通量组织研磨仪研磨( $2\ 000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ , 3 min),筛取粒径200  $\mu\text{m}$ 左右的颗粒,钴-60辐照消毒后, $2 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存备用。

1.2.4 TDM与DDM表面结构比较 将制备好的TDM与DDM于扫描电镜下放大20 000倍观察,比较两者的形态、表面结构。

### 1.3 hPDLcs的培养及鉴定

1.3.1 hPDLcs组织块法培养 收集临床上12~18岁因正畸需要拔除的牙周健康、无龋的新鲜前磨牙,拔除后立即于双抗磷酸缓冲液(phosphate buffer saline, PBS)液中反复清洗至无明显血迹,转移至含10%胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)的 $\alpha$ -MEM培养基( $\alpha$ -modified eagle medium)的培养皿中,无菌刀刮下根中1/3牙周膜组织,剪成0.5~1.0 mm的小块,胶原酶消化40 min后,离心,弃上清,用含10%FBS的 $\alpha$ -MEM培养基洗涤2~3次,重悬,均匀接种在6孔板中,加入少量含10%FBS的 $\alpha$ -MEM培养基,置二氧化碳培养箱(5%  $\text{CO}_2$ , 100%湿度,  $37 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温),3 d后更换培养液,细胞铺满孔底60%~80%时用0.25%的胰蛋白酶消化,1:3进行传代培养。

1.3.2 流式细胞技术检测hPDLcs表面标志物 取对数生长期第3代hPDLcs,用胰蛋白酶消化,离心后收集,计数,PBS洗2次,重悬。再次离心,3%FBS的PBS液,分装至离心管(每管200  $\mu\text{L}$ ,细胞数量 $> 2 \times 10^5$ 个)。冰浴,每个离心管中加入2  $\mu\text{L}$  (1:500)的CD34、CD45、CD29、CD105和CD146抗体,并设置对照组。避光环境下, $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 孵育1 h,2%FBS的PBS洗涤3遍,重悬后流式细胞仪检测上述间充质干细胞的表面标志物的表达。

### 1.4 TDM与DDM对hPDLcs的增殖及成骨分化影响

1.4.1 TDM与DDM浸提液的制备 按每1 g的材料加入5 mL培养液的比例,将TDM和DDM分别加入 $\alpha$ -MEM培养液, $37 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ,5% $\text{CO}_2$ 培养孵箱培养48 h,提取上清液,制备后分装于离心管中, $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存备用。

#### 1.4.2 TDM与DDM浸提液对hPDLcs增殖的影

响 将生长状况良好的第3代hPDLcs按 $5 \times 10^3$ 个/孔的接种密度接种到含10%FBS培养基的96孔板中,培养24 h。hPDLcs分为3组:TDM组(加入TDM浸提液)、DDM组(加入DDM浸提液)、对照组(加入含10%FBS的 $\alpha$ -MEM完全培养液),每组设3个复孔,每孔分别加入50  $\mu\text{L}$ 相应培养液,隔天换液,培养7 d,每日固定时间使用CCK-8(Cell Counting Kit-8)测定细胞增殖情况。96孔板培养液中加入10  $\mu\text{L}$  CCK-8溶液,轻柔震荡混匀,培养箱内孵育3 h,酶标仪测定450 nm处的吸光度值。连续7 d测定,统计数据后绘制细胞生长曲线。

1.4.3 TDM与DDM对hPDLcs成骨分化的影响 将生长状况良好的第3代hPDLcs按接种密度 $5 \times 10^4$ 个/mL接种到含10%FBS培养基的6孔板中,培养24 h。TDM组、DDM组每组3个复孔,每孔分别加入相应培养液和成骨诱导液(含10 nmol/L地塞米松、10 mmol/L  $\beta$ -磷酸甘油钠、50  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 抗坏血酸、0.01  $\mu\text{mol}/\text{L}$  1,25-二羟维生素D3和10%FBS的DMEM),隔天换液,于4、7、14 d用碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)显色试剂盒行ALP染色;光镜下观察并记录。将生长状况良好的第3代hPDLcs按接种密度 $5 \times 10^4$ 个/mL接种到含10%FBS培养基的6孔板中,培养24 h。TDM组、DDM组、对照组每组3个复孔,每孔分别加入相应的成骨诱导培养液,隔天换液,于7、14、21 d行茜素红染色,光镜下观察并记录。

### 1.5 统计学方法

本实验数据计量资料均按照 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用SPSS 22.0软件进行统计学分析,多组均值的比较采用单因素方差分析,组间比较采用SNK法,以双侧 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

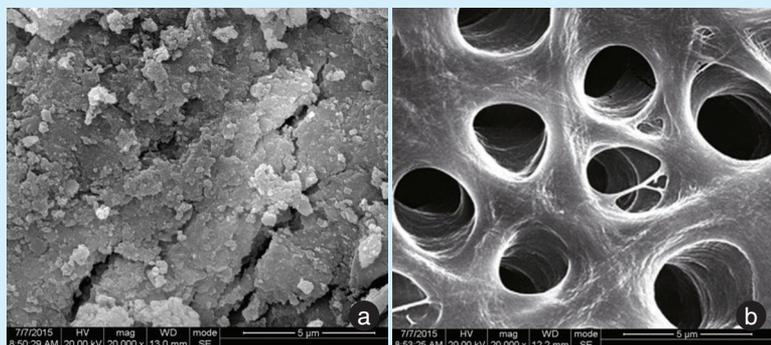
## 2 结果

### 2.1 TDM与DDM颗粒的差异

制备所得的DDM颗粒与TDM颗粒,呈白色粉末状,颜色、质地、硬度十分接近,有相似的宏观机械性能。电镜下DDM颗粒(图1a)表面呈现疏松破碎状,多沟隙;TDM颗粒(图1b)表面则布满卵圆形小孔,小孔间结构相对完整平滑,且牙本质小管和管周牙本质保留有较多的纤维结构。

### 2.2 hPDLcs的培养及鉴定结果

2.2.1 hPDLcs的培养及分离 4~7 d时开始有hPDLcs迁移出组织块,细胞呈无序排列,大部分呈长梭形,胞体较为饱满,胞突细长,胞质较均匀,细



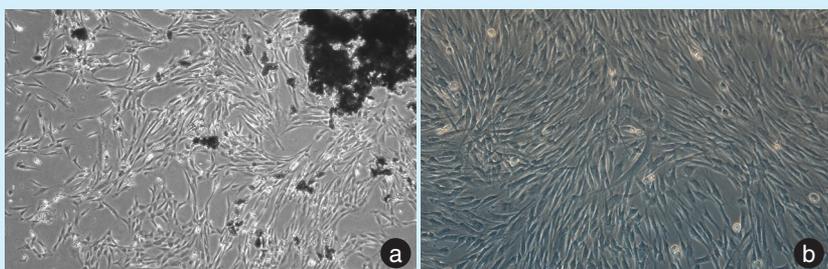
a: 完全脱矿牙本质基质——脱矿牙本质基质 (demineralized dentin matrix, DDM); b: 不完全脱矿牙本质基质——经处理牙本质基质 (treated dentin matrix, TDM)

图1 扫描电镜下不完全脱矿牙本质基质与完全脱矿牙本质基质表面结构观察 × 20 000  
Figure 1 Morphological observation of completely demineralized dentin matrix and incompletely demineralized dentin matrix by SEM × 20 000

胞核位于细胞中央、为圆形或卵圆形。少量细胞形态不规则且偏小。10~15 d后细胞呈旋涡状、放射状铺满培养板。传代后 hPDLCs 贴壁生长, 均匀

分布, 形态呈长梭性, 趋于同一, 漩涡样、放射状紧密排列(图2)。

2.2.2 hPDLCs 表面标志物的表达 流式细胞仪检

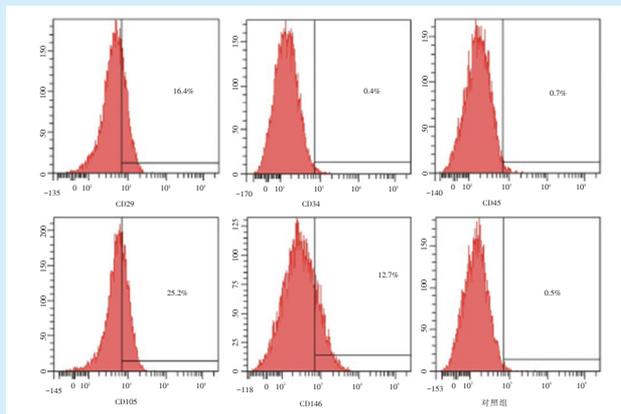


a: 7 d 时细胞迁移出组织 × 200; b: P3 代 hPDLCs 呈旋涡状生长 × 200

图2 人牙周膜细胞原代培养  
Figure 2 Primary hPDLCs culture

测所培育细胞的表面标志物结果显示 CD29、CD105、CD146 表达呈阳性, 同时 CD34、CD45 表达

为阴性, 证明所培养的原代细胞为间充质干细胞来源, 并非造血干细胞来源(图3)。



hPDLCs CD29、CD105、CD146 表达阳性; CD34、CD45 表达阴性。

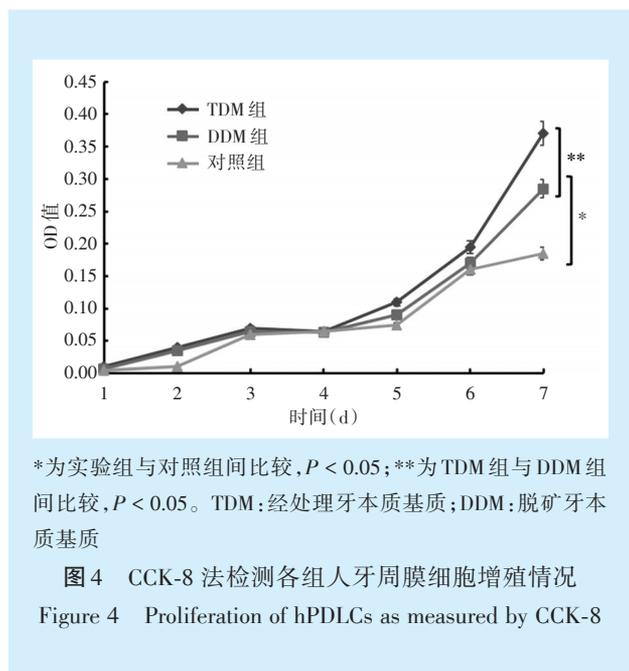
图3 人牙周膜细胞流式细胞标志物检测  
Figure 3 Flow cytometry analysis of hPDLCs

2.3 TDM 与 DDM 浸提液对 hPDLCs 增殖的影响

如图4 细胞生长曲线所示, 1、2、3、4、5、6 d 时, 实验组 (TDM 组、DDM 组) 与对照组无明显差

异, 7 d 时, TDM 组、DDM 组 hPDLCs 增殖能力明显较对照组呈上升趋势, 且 TDM 组增殖趋势较 DDM 组更好 ( $F = 36.480, P < 0.05$ ), 提示 TDM、DDM 2 种

材料均能促进 hPDLCs 增殖,且 TDM 对 hPDLCs 增殖的促进作用优于 DDM。



#### 2.4 TDM与DDM浸提液对hPDLCs成骨分化的影响

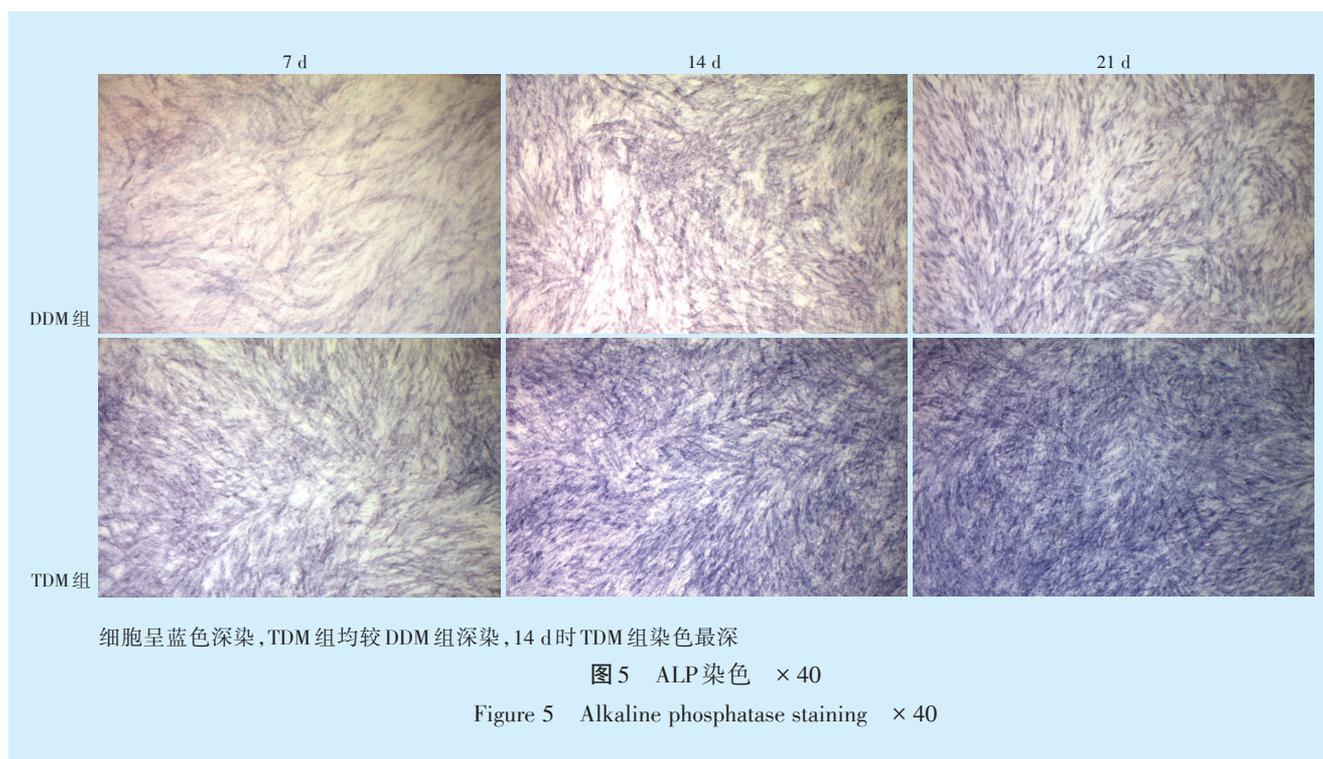
ALP染色结果如图5所示,细胞呈蓝染,随矿化诱导时间延长,2组蓝染的细胞逐渐增多,14 d时增加,提示ALP活性均逐渐增加;同时期内TDM组蓝染细胞均多于DDM组,提示TDM组较DDM组ALP活性更强。

2组细胞茜素红染色结果如图6所示,14 d时,与对照组比较,TDM组与DDM组均可见茜素红染料标记的阳性矿化结节,且TDM组数量多于DDM组,21 d时,TDM组矿化结节数量仍然多于DDM组。

### 3 讨论

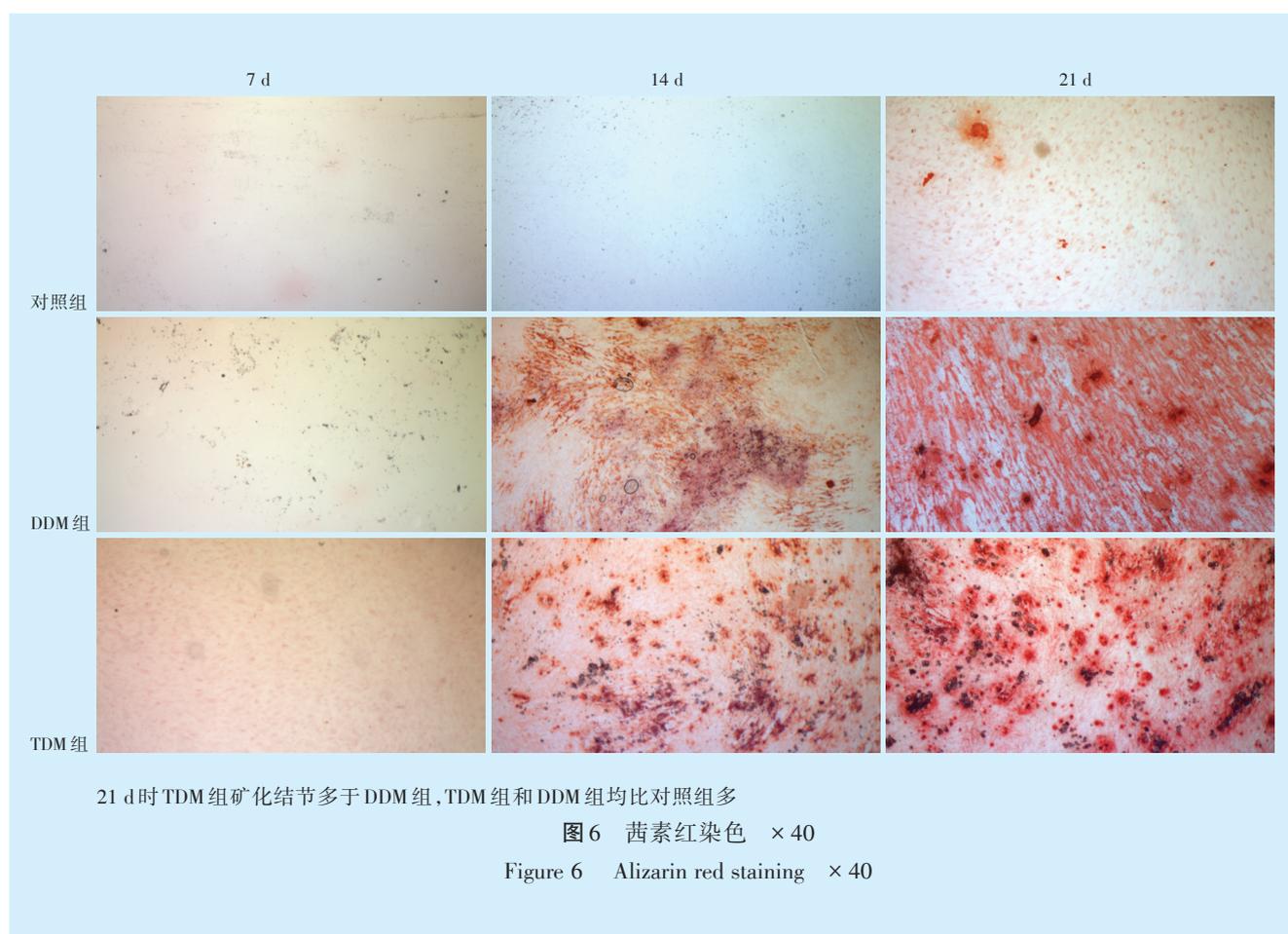
#### 3.1 TDM制作流程与表面结构优于DDM

牙周病是口腔最常见的慢性感染性疾病,全球有近90%的人有不同程度的牙周问题<sup>[1,13]</sup>,牙周炎是导致成年人失牙的首位原因,并且与糖尿病、心血管疾病、中风、早产、风湿病等多种全身疾病密切相关<sup>[14]</sup>。牙周治疗的最终目标是获得牙周组



织再生<sup>[1]</sup>,传统的牙周基础治疗、药物治疗、牙周翻瓣术均难以实现牙周组织的再生,引导性骨再生虽然实现了牙周组织的部分再生,但因为患者的异质性以及再生能力有限等多种原因,牙周组织再生的临床效果并不理想<sup>[15]</sup>。随着植骨材料、屏

障膜材料的广泛应用,引导骨再生的效果得到了一定程度的改善<sup>[10]</sup>。研究表明植骨材料可以增加术后局部牙槽骨的量<sup>[3,16]</sup>,而植骨材料的生物相容、空间结构、释放活性因子等特性影响着牙槽骨及牙周组织再生的效果,骨替代材料已成为牙周



骨缺损再生的研究热点<sup>[2-4]</sup>。脱细胞基质具有低免疫原性、良好的机械性能、骨诱导性及来源方便等特点,是目前组织工程的骨替代材料的研发热点<sup>[8]</sup>。

DDM和TDM均通过离体牙制备。DDM通过长时间、完全脱矿处理,具有高度脱矿、抗原性低等特点,多用于骨替代物。而TDM是通过短时间、梯度、不完全脱矿处理而形成的脱细胞基质材料,其物质构成与骨组织相似,具有疏松多孔的三维结构,富含成骨相关生长因子,具有多能性、诱导定向分化能力,作为支架材料的同时可诱导成骨发生<sup>[11]</sup>,这些特点对于牙周组织缺损的再生治疗<sup>[17-20]</sup>有着极为积极的临床意义。

在TDM的制备过程中,常采用EDTA进行梯度脱矿,EDTA能有效去除牙本质玷污层,通过螯合羟基磷灰石中的钙离子使牙本质脱矿、牙本质胶原暴露、开放牙本质小管<sup>[10]</sup>。研究表明,采用EDTA对牙本质进行梯度脱矿处理,TDM中关键蛋白浓度与未处理牙本质相比不会显著减少<sup>[10, 21]</sup>。

本实验参考文献<sup>[10, 17, 21]</sup>报道的制备方式所得

的TDM和DDM质地坚硬,需多次研磨达到目标直径。因此,笔者对TDM、DDM颗粒制备方式进行了改进:利用液氮低温冻干技术可增加材料脆性且恢复室温后不改变材料理化性质的原理,使其易于研磨并减少长时间研磨产生的热效应对材料相关蛋白因子的破坏;制备的DDM和TDM粉末采用了钴-60辐照的消毒灭菌方法,避免了后续的材料污染问题。

电镜扫描TDM和DDM的表面结构显示:DDM颗粒表面呈现疏松破碎状,多沟隙,无小孔;TDM颗粒表面则布满卵圆形小孔,小孔间结构相对平滑,且牙本质小管和管周牙本质保留有较多的纤维结构。这与Li等<sup>[10]</sup>结果相一致,提示该方法是制备人TDM的较理想方式。DDM由于脱矿过于彻底,导致表面胶原塌陷,卵圆形小孔消失,显然TDM多孔的三维空间结构优于DDM,这些小孔为种子细胞的粘附、渗透以及新生组织的生长提供了绝佳的空间,且开放的牙本质小管利于释放相关因子,促进种子细胞的黏附、渗透以及新生组织的生长提供合适的空间和诱导微环境。国际上常

用 Yagihashi 等<sup>[22]</sup>的方法进行 DDM 的制备,流程繁复、时间长;而参照 Li 等<sup>[10]</sup>学者的方法制备 TDM,从收集离体牙到制备完成全过程仅需 4 h,脱矿过程中适当加热,可进一步缩短制作周期,制备更加快速方便,这也是 TDM 的另一优势。

### 3.2 TDM 促进 hPDLcs 增殖分化作用强于 DDM

本实验结果表明:TDM、DDM 浸提液均能促进 hPDLcs 细胞增殖,且 TDM 促进增殖的作用更明显,笔者猜测 TDM 促进 hPDLcs 增殖作用可能与其释放相关生长因子的能力相关。Li 等<sup>[10]</sup>学者的研究证实 TDM 浸提液中含有 I 型胶原纤维(collagen type I, Col- I)、牙本质涎蛋白、转化生长因子 $\beta$ -1、牙本质基质蛋白-1 等蛋白,其中关键蛋白浓度与未处理牙本质相比无明显统计学差异,这提示 EDTA 处理后的牙本质基质不会导致关键生长因子减少。杨禾丰等<sup>[17]</sup>研究发现 TDM 可以促进骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs)的增殖及成骨向分化:与空白对照组及羟磷灰石/ $\beta$ -磷酸三钙组相比,TDM 浸提液培养后的 BMSCs 增殖明显;培养 7 d 后,TDM 组的 Col- I、Runt-相关转录因子 2(Runt-related transcription factor 2, Runx2)蛋白的表达量明显增高。本研究结果与之相似。进一步的体内研究表明,TDM 作为生物支架植入裸鼠皮下获得了更好的再生效果,并产生了新牙本质;将 TDM 与明胶静电纺丝膜(aligned PLGA/Gelatin electrospun sheet, APES)、牙髓细胞外基质结合,植入猪的颌骨内可形成牙根样的结构<sup>[9]</sup>。因此,TDM 能为 hPDLcs 生长提供更好的微环境,其作为生物骨替代材料,可能比普通羟基磷灰石具有更好的作用。但 TDM 应用于临床治疗,尚有待进一步探讨和研究。

本研究证实 TDM 对于 hPDLcs 成骨分化的诱导作用强于 DDM。可能有以下原因:①TDM 梯度、短时间、不完全的脱矿处理,相较于 DDM 的长时间彻底脱矿,可以保留更多利于骨形成相关生长因子;②TDM 不仅保留了 DDM 疏松的机械特性,其表面多孔的三维结构,更适合作为 BMPs 的缓释载体。这表明 TDM 提供的空间结构及诱导微环境更利于 hPDLcs 的增殖及成骨分化,提示 TDM 应用于牙周组织再生工程的可能。

本研究初步证实了 TDM 作为骨移植替代物,较 DDM 具有更优良的表面结构,其促进 hPDLcs 的增殖和成骨分化能力优于 DDM,具有更良好的生物学特性。这为后续的动物实验,将 TDM 作为骨

替代物修复牙周骨缺损的实验提供一定的实验基础。由于细胞增殖、分化的诱导微环境机制十分复杂,体内实验构建目标微环境影响机制未得到充分研究,TDM 能否成为一种优于 DDM 的,治疗牙周骨缺损的骨替代物,仍需要进一步的研究。

### 参考文献

- [1] Kassebaum NJ, Bernabé E, Dahiya M, et al. Global burden of severe periodontitis in 1990-2010: a systematic review and meta-regression[J]. *J Dent Res*, 2014, 93(11): 1045-1053.
- [2] Pilipchuk SP, Plonka A B, Monje A, et al. Tissue engineering for bone regeneration and osseointegration in the oral cavity [J]. *Dent Mater*, 2015, 31(4): 317-338.
- [3] Ning C, Zhou L, Tan G. Fourth-generation biomedical materials [J]. *Mater Today*, 2016, 19(1): 2-3.
- [4] Ceccarelli G, Presta R, Benedetti L, et al. Emerging perspectives in scaffold for tissue engineering in oral surgery[J]. *Stem Cells Int*, 2017, 10: 4585401.
- [5] Jordana F, LE Visage C, Weiss P. Bone substitutes[J]. *Med Sci (Paris)*, 2017, 33(1): 60-65.
- [6] Park M, Mah YJ, Kim DH, et al. Demineralized deciduous tooth as a source of bone graft material: its biological and physicochemical characteristics[J]. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*, 2015, 120(3): 307-314.
- [7] Kim SY, Kim YK, Park YH, et al. Evaluation of the healing potential of demineralized dentin matrix fixed with recombinant human bone morphogenetic protein-2 in bone grafts[J]. *Materials*, 2017, 10(9): 1049.
- [8] Papadimitropoulos A, Scotti C, Bourguin P, et al. Engineered decellularized matrices to instruct bone regeneration processes[J]. *Bone*, 2015, 70: 66-72.
- [9] Chen G, Chen J, Yang B, et al. Combination of aligned PLGA/Gelatin electrospun sheets, native dental pulp extracellular matrix and treated dentin matrix as substrates for tooth root regeneration [J]. *Biomaterials*, 2015, 52(1): 56-70.
- [10] Li R, Guo W, Yang B, et al. Human treated dentin matrix as a natural scaffold for complete human dentin tissue regeneration[J]. *Biomaterials*, 2011, 32(20): 4525-4538.
- [11] Guo W, Gong K, Shil H, et al. Dental follicle cells and treated dentin matrix scaffold for tissue engineering the tooth root[J]. *Biomaterials*, 2012, 33(5): 1291-1302.
- [12] Jiao L, Xie L, Yang B, et al. Cryopreserved dentin matrix as a scaffold material for dentin-pulp tissue regeneration[J]. *Biomaterials*, 2014, 35(18): 4929-4939.
- [13] Eke PI, Dye BA, Wei L, et al. Update on prevalence of periodontitis in adults in the united states: NHANES 2009 to 2012[J]. *J Periodontol*, 2015, 86(5): 611-622.
- [14] Preshaw PM, Henne K, Taylor JJ, et al. Age-related changes in immune function (immune senescence) in caries and periodontal diseases: a systematic review[J]. *J Clin Periodontol*, 2017, 44(S18): S153-S177.

- [15] Wu YC, Lin LK, Song CJ, et al. Comparisons of periodontal regenerative therapies: a meta-analysis on the long-term efficacy[J]. J Clin Periodontol, 2017, 44(5): 511-519.
- [16] Cortellini P, Tonetti MS. Clinical concepts for regenerative therapy in intrabony defects[J]. J Clin Periodontol, 2015, 68(1): 282-307.
- [17] 杨禾丰, 胡瑜, 孙晶晶, 等. 处理的牙本质基质对骨髓间充质干细胞成骨分化影响的研究[J]. 华西口腔医学杂志, 2016, 34(3): 281-285.
- [18] Reis-Filho CR, Silva ER, Martins AB, et al. Demineralised human dentine matrix stimulates the expression of VEGF and accelerates the bone repair in tooth sockets of rats[J]. Arch Oral Biol, 2012, 57(5): 469-476.
- [19] Kim YK, Bang KM, Murata M, et al. Retrospective clinical study of allogenic demineralized dentin matrix for alveolar bone repair [J]. Journal of Hard Tissue Biology, 2017, 26(1): 95-102.
- [20] Yang HS, Kang KJ, Lee MS, et al. *In vitro* and *in vivo* dentinogenic efficacy of human dental pulp-derived cells induced by demineralized dentin matrix and HA-TCP[J]. Stem Cells Int, 2017, 6: 1-15.
- [21] Da Silva Beraldo Â, Silva R, Da Gama Antunes A, et al. Scanning electron microscopic evaluation of smear layer removal using isolated or interweaving EDTA with sodium hypochlorite[J]. Iran Endod J, 2017, 12(1): 55-59.
- [22] Yagihashi K, Miyazawa K, Togari K, et al. Demineralized dentin matrix acts as a scaffold for repair of articular cartilage defects[J]. Calcif Tissue Int, 2009, 84(3): 210-220.

(编辑 张琳, 曾曙光)

· 短讯 ·

## 《北京口腔医学》杂志 2019 年第 27 卷征订启事

《北京口腔医学》杂志是由首都医科大学口腔医学院主办、国内外公开发行的口腔医学专业学术性期刊,现为双月刊,双月 28 日出版。主编为白玉兴教授,编委会由全国各大口腔医学院校各学科专家组成。本刊为中国科技核心期刊,中国科技论文统计源期刊。宗旨是紧密跟踪口腔医学科技发展,加强口腔专业有关新理论、新技术、新工艺等方面信息的报道和交流,促进口腔医学事业的发展。主要栏目有论著、临床报道、病例讨论、文献综述、国内外动态等。本刊读者主要是各级口腔医疗、教学、科研等方面人员以及研究生、大学生等。读者遍布全国 31 个省、自治区、直辖市。本刊采用彩色印刷,欢迎投稿、订阅。

《北京口腔医学》杂志邮发代号 82—708,每期定价 10 元/期,全年 6 期共计 60 元。欢迎广大读者到当地邮局订阅。如错过邮局征订时间,可向本刊编辑部联系邮购,编辑部地址:北京市东城区天坛西里 4 号,邮编 100050,联系电话 010-67013675,57099045。E-mail:bjkqyx@126.com。