

[DOI]10.12016/j.issn.2096-1456.2018.01.004

· 专家论坛 ·

牙源性干细胞储存和临床应用的研究进展

叶青松^{1,2,3}, 王晓燕^{2,3}

1. 澳大利亚昆士兰大学牙学院, 澳大利亚 布里斯班(4006); 2. 温州医科大学口腔医学院干细胞与组织工程研究所, 浙江 温州(325035); 3. 昆士兰大学-温州医科大学再生牙医学联合实验室, 澳大利亚 布里斯班(4006)



【作者简介】 叶青松, 口腔医学博士, 医学科学博士, 教授, 研究员, 博士生导师, 博士后合作导师。先后于四川大学华西口腔医学院获医学学士(口腔)、硕士(正畸学方向)和博士(正畸学方向)学位。2006-2010年在荷兰格罗宁根大学医学中心从事干细胞与组织工程研究并获医学科学博士学位(干细胞与组织工程方向)。曾任职于澳大利亚詹姆斯库克大学、昆士兰大学和温州医科大学, 现任昆士兰大学-温州医科大学口腔干细胞与组织工程联合实验室主任。担任《Stem Cell International》专刊主编(2017-2018)、《Journal of Clinical & Investigative Dentistry》副主编(2014-)、澳洲Begg正畸协会执行委员会委员(2010-), 曾任世界牙科研究会FNQ区主席(2014-2016)以及首届亚太正畸与牙周论坛主席(2014)。是口腔循证医学实践的倡导者, 发表多篇Cochrane系统评价并参编人民卫生出版社出版的研究生教材《口腔循证医学》(第一、二版)。先后入选英国爱丁堡皇家外科学院院士(正畸)、英国皇家医学会会士(遴选)、中组部国家青年千人计划以及国际牙医师学院(澳洲区)院士。

【摘要】 牙源性干细胞是一类来源于神经嵴的间充质干细胞, 在适当条件下可分化为骨细胞、软骨细胞、肝细胞、神经样细胞等。牙源性干细胞主要包括牙髓干细胞、牙周膜干细胞、牙根尖乳头干细胞、脱落乳牙牙髓干细胞和牙囊干细胞。近年来, 牙源性干细胞广泛应用于再生医学各个领域, 并有部分应用于临床前期研究, 包括神经系统疾病、口腔疾病、免疫疾病、心肺疾病等。本文阐述常用的几种牙源性干细胞的储存和在再生医学领域的临床研究进展, 并对未来应用前景进行展望。

【关键词】 牙源性; 干细胞; 再生医学; 临床前研究; 临床试验; 干细胞储存; 组织工程

【中图分类号】 R78 【文献标志码】 A 【文章编号】 2096-1456(2018)01-0015-11

【引用著录格式】 叶青松, 王晓燕. 牙源性干细胞储存和临床应用的研究进展[J]. 口腔疾病防治, 2018, 26(1): 15-25.

Progress in storage and clinical application of dental stem cells YE Qingsong^{1,2,3}, WANG Xiaoyan^{2,3}. 1. School of Dentistry, University of Queensland, Brisbane 4006, Australia; 2. Institute of Stem Cells and Tissue Engineering, School of Stomatology, Wenzhou Medical University, Wenzhou 325035, China; 3. UQ-WMU Joint Group for Regenerative Dentistry, Faculty of Health and Behavior Science, University of Queensland, Brisbane 4006, Australia
Corresponding author: YE Qingsong, Email: qingsongye@hotmail.com, Tel: 0086-571-88017559

【Abstract】 Derived from the neural crest, dental stem cells (DSCs) are a population of cells with the characteristics of mesenchymal stem-ness, which under certain appropriate conditions can differentiate into multiple cells such as os-

【收稿日期】 2017-08-31; 【修回日期】 2017-11-03

【基金项目】 澳中科学研究基金(ACSRF14); 第十批中组部国家千人计划青年人才项目

【通信作者】 叶青松, 教授, 博士, Email: qingsongye@hotmail.com

teocytes, chondrocytes, hepatocyte and neuronal-like cells. DSCs are consist of odontogenic stem cells mainly include dental pulp stem cells, periodontal ligament stem cells, stem cells from deciduous teeth, stem cells from apical papilla, as well as dental follicle progenitor cells. DSCs have been widely used in the field of regenerative medicine research and preclinical research, including nervous system diseases, oral diseases, immune diseases, heart and lung diseases, etc. This review will focus on the storage of DSCs and current translational and clinical studies regarding DSCs in tissue regeneration.

【Key words】 Odontogenic; Stem cells; Regenerative medicine; Translational research; Clinical trials; Stem cells Banking; Tissue engineering

干细胞是一类具有显著增殖能力和多向分化潜能的未分化细胞。1968年, Friedenstein等^[1]首次在骨髓中提取到干细胞, 并命名为骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BMMSCs)。2000年, Gronthos等^[2]首次在第三磨牙牙髓中分离出具有克隆性质的成体干细胞, 并命名为牙髓干细胞(dental pulp stem cells, DPSCs); DPSCs具有间充质干细胞的特性, 能够表达多种间充质干细胞表面标记物, 如CD146、Stro-1、CD44、CD105、CD73等。随后相关研究表明^[3-6], 从口腔其他组织分离、提取的干细胞如脱落乳牙牙髓干细胞(stem cell from human exfoliated deciduous teeth, SHED)、牙根尖乳头干细胞(stem cells from apical papilla, SCAP)、牙周膜干细胞(periodontal ligament stem cells, PDLSCs)以及牙囊前体细胞(dental follicle progenitor cells, DFPCs)等, 都具有间充质干细胞的特性。近年来, 随着再生医学的快速发展, 干细胞疗法作为一种修复机体无法自愈的损伤细胞、组织和器官的新方法受到广泛关注, 并且在世界各地多项研究中证实了其安全性和有效性。牙源性干细胞主要来源于脱落乳牙、智齿以及正畸牙等, 其来源丰富、取材安全方便、免疫源性低、尚无伦理限制, 在再生医学领域的研究中越来越被重视。

1 牙源性干细胞的来源及分化潜能

1.1 DPSCs

DPSCs是由Gronthos等^[2]于2000年在人的第三磨牙牙髓组织中首次发现, 并证明具有间充质干细胞特性的一种成体干细胞。体外研究表明^[7], DPSCs除了可以成牙分化外, 还能够分化为神经样细胞、成骨细胞、软骨细胞、脂肪细胞、肌肉细胞、内皮细胞以及肝细胞等。随着诱导多功能干细胞

(induced pluripotent stem cells, iPSCs)技术的发展, DPSCs已被证实是多功能干细胞技术重要的细胞来源之一^[8]。

1.2 SHED

随着DPSCs的发现, Miura等^[3]从脱落乳牙的牙髓组织中分离得到SHED, 与DPSCs相似, SHED也表达间充质干细胞的表面标志物。有关研究表明^[3, 9], SHED比DPSCs和BMMSCs具有更高的增殖能力和分化潜能。2006年, Kerkis等^[10]从牙髓组织中分离得到一群不成熟的牙髓干细胞, 这些干细胞不仅表达间充质干细胞表面标志物, 而且表达胚胎干细胞表面标志物, 如八聚体结合转录因子4b(octamer-binding transcription factor 4b, Oct4B)、八聚体结合转录因子4a(octamer-binding transcription factor 4a, Oct4A)等^[11-12], 因此可能是SHED的前体细胞。

1.3 SCAPs

SCAPs存在于牙根尖乳头, 由Sonoyama等^[4]首次提出。与牙髓相比, 根尖牙乳头是根尖部牙髓的前体组织, 但根尖部的DPSCs是否来源于SCAPs, 目前尚不明确^[13]。由于SCAPs来源于发育中的牙源性组织, 因此, 可以更好的被运用于再生医学领域。SCAPs可以分化为成骨细胞、脂肪细胞以及软骨细胞, 在适当条件下, 也可分化为神经样细胞^[14]。

1.4 PDLSCs

PDLSCs是由Seo等^[5]首次从人的恒牙牙周组织中分离得到, 并具有向成骨细胞、软骨细胞以及脂肪细胞分化的能力。随后Widera等^[15]研究发现, 在一定条件下, PDLSCs可表达神经巢蛋白和性别决定区Y框蛋白2(sex determining region Y-box 2, Sox2)等神经标志物, 说明PDLSCs具有向神经样细胞分化的能力。

1.5 DFPCs

牙囊是包绕于成釉器和牙乳头外周的疏松结缔组织,包含大量未分化的前体细胞,在牙齿发育后期形成牙周膜、牙槽骨和牙骨质。DFPCs是一类具有自我更新和多向分化潜能的牙源性干细胞,属于间充质干细胞,可被诱导分化为成纤维样细胞、成骨细胞、成牙骨质细胞、软骨细胞、脂肪细胞和神经样细胞^[6, 16-17]。

2 牙源性干细胞应用于临床试验中的优点

2.1 牙源性干细胞来源丰富,取材安全便利

一般人正常乳牙数量有20颗,儿童约6岁开始乳牙松动脱落,因此,脱落乳牙是牙源性干细胞的一种重要来源。另外,在人类进化过程中,咀嚼器官开始退化,颌骨退化程度先于牙齿从而引起牙列拥挤,许多青少年需要通过拔牙进行正畸治疗,因此,正畸牙也成为牙源性干细胞的重要来源之一。除此之外,成人智齿也是牙源性干细胞的另一类重要来源,智齿体积一般较乳牙和正畸牙大,组织来源更为丰富。牙源性干细胞不仅取材丰富,而且与其他干细胞相比,更为安全便利,如脐带血干细胞一生中只有一次提取机会,不方便;骨髓间充质干细胞在提取过程中会对机体组织产生二次损伤;脂肪干细胞则需要进行抽脂手术,安全性方面不及牙源性干细胞。

2.2 牙源性干细胞的伦理和法律问题

牙源性干细胞是自体干细胞,来源于脱落乳牙、正畸牙以及智齿等口腔医疗废弃物,属于废弃物回收利用,不对个体造成任何伤害,因此,不涉及医学伦理问题。目前法律上对牙源性干细胞的储存还没有具体的规定和限制,但从长远来说,还需要制定一些行业规范,以确保相关流程的制度和标准化。

2.3 牙源性干细胞免疫原性低

通过个体化获取以及保存的牙源性干细胞进行自体移植,能最大限度地降低免疫排斥和疾病交叉感染的风险^[18]。现有的研究证实,人的牙源性干细胞用于实验大鼠体内未出现排斥反应,与对照组相比,组织再生和修复显著提高,说明了牙源性干细胞的免疫原性较低。这个特征使得牙源性干细胞更有可能用于近亲,如祖父母、父母和兄弟姐妹等,相当于干细胞中的“O型血”。

2.4 牙源性干细胞可以长期储存

目前,一些发达国家如日本、美国和挪威等先

后建立“牙齿银行”,为牙源性干细胞的基础研究以及临床应用研究提供细胞来源。牙齿银行从乳牙阶段便可以开始建立,需要储存相当长的一段时间,因此,安全可靠的长期储存系统至关重要。Perry等^[19]进行了离体牙储存液的研究,实验结果表明,经过处理的离体牙在4℃下可以在保存液里存放120h,并且可分离培养出具有活性和增殖能力的DPSCs,一定程度上为离体牙的远距离运输提供依据。

Lindemann等^[20]研究表明,牙髓可以在4℃冷藏环境中储存过夜,在零下85℃以及零下196℃冷冻环境中可以存放1周,可成功分离出DPSCs,除细胞数量有所下降外,细胞表面抗原仍有活性,免疫功能以及分化增殖能力无明显影响。

Munévar等^[21]将分离出的DPSCs分别采用Kamath法和Papaccio法进行冻存,1个月后复苏细胞,发现Papaccio法(59.5%)比Kamath法(56.2%)具有更高的存活率,但对于分别冻存1d(65.5%)和7d(56%)的细胞而言,Kamath法更佳。另外,Arora等^[22]研究表明,SHED库的储存费用仅为脐带血细胞库的1/3,这也成为牙源性干细胞库即牙齿银行相较于其他干细胞库的另一项重要优势。在我国,2015年开始在温州、北京、广州等地先后成立了牙源性干细胞储存库并提供相关服务。

2.5 临床应用适应较广

在干细胞再生医学的临床试验中,如何选择合适的干细胞类型显得十分重要。目前,大多数研究者选择与再生组织表型相近的干细胞类型进行再生医学研究,如根据多向分化能力以及临床应用潜能,脐带血干细胞主要用于治疗多种血液系统疾病;牙源性干细胞的应用范围则比较广泛。目前,临床上正在进行的牙源性干细胞相关试验主要在牙周组织、骨组织修复以及根尖牙髓病治疗等领域。同时,牙源性干细胞在神经再生、糖尿病、自身免疫性疾病的治疗的临床前期模型上已经得到初步验证,为下一步的临床试验打下了基础。

3 牙源性干细胞的临床前研究

3.1 牙组织再生

随着牙源性干细胞和组织工程学研究的不深入,在牙组织再生领域已经有了广泛的探索,包括牙本质/牙髓组织再生、牙周组织再生、牙体再生以及全牙再生等。Iohara等^[23]将携带骨形态生成

蛋白-2 (bone morphogenetic protein-2, BMP-2) 基因的自体 DPSCs 移植至犬牙髓损伤模型中, 发现修复性牙本质的形成。Prescott 等^[24]将 DPSCs 联合明胶材料, 混合牙本质基质蛋白-1 (dentin matrix protein 1, DMP-1) 放置于牙片小孔中, 植入免疫缺陷裸鼠体内, 培养6周后在小孔中可明显观察到牙髓样组织的形成。Huang 等^[25]将 DPSCs 和 SCAPs 联合聚乳酸-乙醇酸共聚物 (polylactic-co-glycolic acid, PLGA) 支架共培养, 移植入中空的 6~8 mm 长的根管内, 再植入免疫缺陷小鼠皮下, 3~4 周后发现根管内形成了血管化的牙髓样组织。Cordeiro 等^[26]也发现 SHED 种植在生物支架上, 植入人类牙片内, 结果发现有牙髓样组织形成。随后, He 等^[27-28]尝试将牙周膜干细胞和牙囊干细胞接种在材料支架上, 应用于牙再生动物模型, 发现牙根-牙周样组织形成。近几年, 随着组织工程与再生医学的发展, 越来越多的研究者利用牙源性干细胞联合生物材料, 如水凝胶, 纳米多孔微球等^[29-30], 包载利于修复再生的生长因子如牙本质基质蛋白-1, 促进牙髓再生及牙周再生。

综上所述, 各种牙源性干细胞在牙体各个组织再生中的应用已经得到初步的验证, 但是研究仍缺乏系统性。在牙再生领域, 选取何种动物, 以何种方式建立的动物模型更适用于临床前研究? 移植方式采取自体/原位移植或者异体/异位移植, 哪种更为适合? 这些问题仍需要进行一系列的研究来系统地回答。此外, 牙源性干细胞作为间充质干细胞, 不包括成牙性上皮细胞成分, 因此利用牙源性干细胞再生牙, 存在成牙性上皮缺乏的问题。近年来, 随着诱导多能干细胞的发展, 通过多能干细胞技术进行牙齿再生将会是未来的重要研究方向^[31]。

目前很多的研究关注整牙的再生, 这在技术上是有很大的挑战性的, 因为牙齿软硬组织的再生不具有同步性, 牙体硬组织的再生和矿化需要一个长期的过程, 不适应临床应用的时限性。笔者认为, 更可行的方案是: 使用干细胞和组织工程技术再造牙髓和牙周膜; 通过生物材料和 3D 打印技术制造个体化的牙体硬组织; 然后将二者结合起来形成具有活性的复合再生牙用于临床。

3.2 骨再生

牙源性干细胞具有良好的成骨分化能力, 对比骨髓间充质干细胞, 牙源性干细胞来源丰富, 取

材安全方便, 因此目前已成为骨再生医学领域的热点细胞之一。研究证明, DPSCs 可与羟基磷灰石/ α/β -磷酸三钙 (hydroxyapatite/ α/β -tricalcium phosphate, HA/TCP)、聚乳酸-羟基乙酸共聚物 (plastic land grid array, PLGA) 胶原海绵以及富血小板血浆等多种材料三维复合培养, 再移植至骨缺损动物模型, 发现有利于骨组织再生^[32]。Petridis 等^[33]将 DPSCs 联合细胞外基质支架三维复合体, 移植至临界颅骨缺损大鼠模型, 结果显示可以有效促进大鼠颅骨愈合。近期动物实验发现: DPSCs 膜片法移植治疗骨再生的修复效果优于 DPSCs 原位注射法^[34]。多项研究表明, DPSCs、SHED、DFPCs 都具有良好的骨修复作用^[35-38]。另外, 生长因子和细胞外基质蛋白在牙源性干细胞成骨分化中也起到重要作用, 如转化生长因子 3 (transforming growth factor- β 3, TGF- β 3)、BMP-2、血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 等^[39]。牙源性干细胞在骨再生过程中除了参与骨组织再生及重塑, 同时也替换凋亡细胞, 促进血管再生, 并且在骨免疫过程发挥一定作用^[40]。除牙源性干细胞的重要作用以外, 不同载体支架材料的理化性能评价, 材料与细胞的相互作用, 缺损部位和大小等都会影响成骨效果。目前仍需要更多的研究来阐明牙源性干细胞和微环境相互作用在骨再生中的生物学机制, 为当前骨缺损治疗方式从骨移植向骨再生的转变提供基础。

3.3 神经组织再生

神经组织一旦受到损伤, 神经细胞凋亡、形成纤维胶质疤痕、阻碍细胞与轴突的再生, 因此, 移植干细胞促进神经修复成为再生医学的热点之一。牙源性干细胞来源于神经嵴, 本身可以表达巢蛋白 Nestin, 胶质纤维酸性蛋白 (glial fibrillary acidic protein, GFAP) 等神经系细胞标志物, 使牙源性干细胞较其它间充质干细胞更适合应用于神经组织工程, 并且人牙源性干细胞取材方便安全, 优于神经干细胞。目前牙源性干细胞神经修复作用主要考虑两方面, 一方面细胞在移植体内向神经分化能力, 另一方面细胞可以分泌多种神经生长因子和神经营养因子, 促进损伤区域神经修复^[41]。目前大量研究表明, 牙源性干细胞在体外可以向神经细胞谱系分化, Huang 等^[42]成功地将 DPSCs 移植到小鼠海马区, 发现细胞在体内分化为神经细胞, 为牙源性干细胞修复中枢神经系统疾

病提供了理论依据。目前已有许多动物实验证明牙源性干细胞在周围神经和中枢神经损伤中的修复作用,如 DPSCs、SHED、SCAPs 可应用于脊髓损伤^[43-46]、阿尔茨海默病^[47-48]、帕金森病^[49]、脑中风^[50-51]以及周围神经损伤^[52-53]等。牙源性干细胞在神经组织工程应用方面仍有许多挑战,在体内环境多变情况下,如何保证牙源性干细胞向特定功能性神经元的分化如星型胶质细胞、施万细胞,未来需要更多这方面的探索;尽管在临床前期的研究中证实了牙源性干细胞在神经再生中的作用,目前仍没有相应的临床试验来评价其在人体上的修复效果,亟需高质量的随机对照临床试验来提供相关证据。

3.4 心肌再生

由于牙源性干细胞具有多向分化的潜力,一些研究者尝试利用 DPSCs 治疗心肌梗死。Gandia 等^[54]采用冠状动脉结扎法在裸鼠体内制造急性心肌梗死模型,并将 DPSCs 注入心肌内,4 周后发现裸鼠心肌功能明显改善,梗死区缩小,新生血管增加。Xin 等^[55]认为牙源性干细胞分化为心肌细胞是主要通过调节 P13 激酶/Akt 信号通道来实现的,因此,牙源性干细胞可以作为一种心肌细胞再生的干细胞来源。Yamaguchi 等^[56]研究发现 SHED 条件培养基可以有效减轻心肌缺血再灌注所造成的心肌损伤,减少细胞凋亡及梗死面积,通过下调各类炎症因子水平,如 TNF- α 、IL-6 和 IL- β 。研究进一步发现,相较于骨髓间充质干细胞条件培养基及脂肪干细胞的培养基,SHED 条件培养基中含有较高浓度的肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF),当清除肝细胞生长因子后,体内外实验显示抑制炎症和凋亡作用下降。这就提示了 SHED 通过分泌的肝细胞生长因子来抑制炎症和凋亡,从而为牙源性干细胞修复心肌梗死创造有利的微环境。Di Scipio 等^[57]发现 DPSCs 可以迁移至心肌损伤区与心肌细胞接触联系,可能通过间隙连接蛋白 43、神经钙黏素与血管性假血友病因子介导的细胞-细胞的相互作用;同时基质细胞衍生因子-1(stromal cell-derived factor 1, SDF-1)、纤维生长因子-2(fibroblast growth factor 2, FGF-2)和肝细胞生长因子参与 DPSCs 迁移过程。目前牙源性干细胞治疗心肌梗死相关分子生物学机制尚未完全阐明。但是由于牙源性干细胞免疫源性低,作为一种异体移植的潜在细胞来源,且取材安全方便,优于心肌干细胞和骨髓间充质干细胞等,相信未

来牙源性干细胞在心肌再生领域会越来越受到重视。

3.5 血管再生

关于牙源性干细胞移植促进血管再生,目前认为主要是通过两个途径:①通过分泌多种促血管生成与抗凋亡因子,包括血管内皮生长因子、胰岛素样生长因子 1(insulin-like growth factor 1, IGF-1)、胰岛素样生长因子 2(insulin-like growth factor 2, IGF-2)、粒细胞集落刺激因子(Granulocyte colony stimulating factor, G-CSF)、单核细胞趋化蛋白-1(Monocyte chemotactic protein-1, MCP-1)等,促进血管再生及上皮愈合;②移植的牙源性干细胞在损伤部位分化为内皮细胞,参与血管重建。Iohara 等^[58]将 DPSCs 移植入后肢缺血小鼠模型体内,通过表达促血管生成因子,促进毛细血管的生成。Nishino 等^[59]将 DPSCs 移植入裸鼠全层皮肤缺损模型,发现皮肤组织加速愈合,缺损区域有人类 I 型胶原的形成。Bronckaers 等^[60]发现人 DPSCs 分泌的 VEGF、MCP-1 可以加速内皮细胞的迁移通过激活磷脂酰肌醇 3-激酶/丝氨酸/苏氨酸激酶(phosphatidylinositol-3-kinase/serine/threonine kinase, PI3K/AKT)和分裂原活化抑制剂/蛋白激酶(Mitogen-activated protein kinase/Extracellular signal-regulated kinase, MEK/ERK)信号通路。除了皮肤缺损外,牙髓再生、脑中风恢复、心肌缺血等修复都与血管的形成息息相关,未来需要进一步研究牙源性干细胞旁分泌促进血管生成相关的分子机制及特定细胞分化研究为后期的临床试验提供实验基础。

3.6 角膜及视神经再生

Gomes 等^[61]将牙髓干细胞片移植入切除兔眼角膜烧伤模型部位,3 个月后发现角膜透明度有所改善,并有少量新生血管形成。Mead 等^[62]将 DPSCs 及 BMMSCs 移植入视神经损伤大鼠的玻璃体内,20 天后 DPSCs 治疗组大鼠的视网膜神经节细胞存活率高于 BMMSCs 组。另外, Syed-Picard 等^[63]发现 DPSCs 在体外一定条件下可分化为角膜基质细胞,并且在体内可以形成组织工程的角膜基质样组织,考虑牙源性干细胞相对于角膜干细胞,可以更容易分离获得且免疫原性较低,未来牙源性干细胞具有较大的潜能实现临床个体化治疗角膜疾病。近期研究发现:DPSCs 在三维培养条件下可以分化为视网膜神经节细胞^[64],有关其分化的具体调控机制及修复再生的机理仍需要后续研究来探索。

3.7 胰岛样细胞再生

近年来,利用干细胞治疗糖尿病越来越受关注,主要机制一方面是利用干细胞诱导分化能分泌胰岛素的胰岛样细胞,另一方面是利用干细胞调节免疫反应抵抗对胰腺抗原的耐受^[65-66]。Govindasamy等^[67]研究表明,DPSCs能够分化为胰岛样细胞集落(islet-like cell aggregates, ICA),同时表达相应的转录因子如酪蛋白磷酸肽(casein phosphopeptides, CPP)、胰-十二指肠同源框-1(pancreatic and duodenal homeobox 1, Pdx1)、胰-十二指肠同源框-4(pancreatic and duodenal homeobox 4, Pdx 4)、胰-十二指肠同源框-6(pancreatic and duodenal homeobox 6, Pdx 6)神经原素基因(neurogenin, Ngn)、胰岛因子1等,考虑低免疫源性特点,DPSCs有望成为一种新的非胰岛来源且无侵入性损伤的自体细胞移植的来源。随后,Kanafi等^[68]利用SHED分化的胰岛样细胞治疗链脲佐菌素诱导的糖尿病小鼠,结果表明3~4周后治疗组小鼠血糖回复正常。近期研究发现^[69]:SHED分泌的相关因子可以通过调节胰腺 β 细胞功能改善糖尿病小鼠的葡萄糖耐受不良症状,关于SHED条件培养液调节血糖的具体机制仍需要更多的探索,但是SHED条件培养液相比干细胞移植,副作用小且无需免疫抑制剂,表明SHED条件培养液可能是一种安全的、微创的治疗糖尿病的新方法。鉴于SHED条件培养液是一个复杂的多因子微环境,需要更多的研究来验证其中的对血糖有调控作用的具体功能性因子,为糖尿病治疗药物、制剂开发提供思路 and 方向。

3.8 自身免疫系统疾病组织再生

许多研究表明,牙源性干细胞具有一定的免疫调节和免疫抑制作用,主要通过免疫细胞的直接作用或通过旁分泌各种相关因子,如HLG-A、前列腺素E2、TGF- β 以及肝细胞生长因子等^[70-72],表明牙源性干细胞移植能够改善自身免疫性疾病造成的组织损伤。学者们利用SHED条件培养液治疗实验性自身免疫性脑脊髓炎^[73]、类风湿性关节炎^[74]、系统性红斑狼疮^[72, 75];结果表明SHED具有明显改善自身免疫性疾病造成的组织损伤作用,一方面移植SHED直接作用调节T细胞中Th17细胞比例;另一方面通过旁分泌的各种因子直接抑制炎症反应或是间接作用M2巨噬细胞发挥炎症调节作用,如唾液酸结合免疫球蛋白样半乳糖凝集素-9(sialic acid-binding Ig-like lectin-9, ED-Siglec-9),由此可见以上研究成果为采取无细胞疗

法治疗自身免疫性疾病提供了一定的理论及实践基础。

3.9 肺组织再生

近几年,研究者也尝试利用牙源性干细胞治疗肺疾病。日本名古屋大学首次尝试利用SHED或SHEDs条件培养液(SHED-CM)治疗博来霉素诱导的小鼠急性肺损伤,结果表明SHEDs或SHED-CM的单次静脉内给药可以减轻博来霉素诱导的小鼠的肺损伤和减少体重的下降,并提高其存活率;主要通过旁分泌途径,诱导M2型巨噬细胞发挥抗炎作用^[76]。这项研究为牙源干细胞治疗急性呼吸窘迫综合征开辟新的途径。

3.10 肾脏组织再生

Michele等^[77]研究发现年轻牙髓干细胞移植治疗急性肾功能衰竭的大鼠体内,发现细胞主要归巢于肾脏,表现肾样和周细胞样特征,加速了肾小管上皮细胞的再生,有助于恢复在实验大鼠中的肾小管结构。在目前再生医学大背景下,利用自体干细胞治疗肾疾病面临巨大挑战,异体/异种牙髓干细胞因其低免疫原性和多向分化性为获得与肾祖细胞相似表型的干细胞提供了一个可能的干细胞来源。

3.11 肝脏组织再生

Ishkitiev等^[78]将CD117阳性的SHED分化为肝细胞,移植至急性肝损伤和继发性胆汁性肝硬化的大鼠中,通过免疫组织化学和原位杂交测定人肝细胞的移植,通过组织化学和血清学检查来检查肝功能恢复情况;结果表明SHED可以作为一种安全的,方便的治疗肝疾病的新干细胞来源。随后,Hirata等^[79]研究将SHED移植至四氯化碳诱导的肝纤维化模型小鼠中,并通过光学、生化、组织学、免疫学和分子生物学的分析,分析了其体内的归巢和治疗效果;结果表明SHED移植可以改善肝功能障碍,为肝脏再生提供了可行的干细胞来源。除此之外,日本名古屋大学研究发现SHEDs分泌条件培养液抑制四氯化碳诱导的肝细胞的凋亡^[80]。

此外,研究者们还将牙源性干细胞应用于其他动物实验模型,如治疗肌营养不良症以及唾液腺功能减退、中暑^[80-82]等,探究其疾病治疗作用及机理。

4 牙源性干细胞的临床试验研究

随着牙源性干细胞研究的不断成熟以及干细

胞再生医学的快速发展,研究者利用DPCs进行了多种疾病的动物模型研究,如牙组织再生、神经组织再生以及骨组织再生等,并且有部分再生领域的临床试验已经完成或正进行中。

4.1 牙髓组织再生

2014年,Nakashima等^[83]在日本进行了一个大规模的临床试验,探讨利用DPSCs取代感染牙髓组织的可行性。本试验利用患者的自体DPSCs治疗自体牙的不可复性牙髓炎,25周后患者没有出现不良反应,并且治疗牙表现出了牙髓活力的恢复。目前,临床上的根管治疗无法恢复牙髓活力,而采用自体牙源性干细胞治疗牙髓疾病以重建牙髓活性在未来临床上或许会成为现实。

通过检索美国国家卫生研究院的临床试验网站,发现有两项正在进行的临床试验。其中一项^[84]利用自体SHED治疗年轻恒牙牙髓坏死患者的牙髓及根尖组织,评价自体SHED在牙髓再生医学中的作用及安全性。另外一项由贝桑松大学医疗中心发起,通过培养自体龋齿牙或外伤牙的DPSCs,探索用于不可逆性牙髓炎或外伤牙牙髓再生的一种治疗手段^[75, 85]。除此之外,德克萨斯大学健康科学中心已经完成一项临床试验,利用自体DPSCs结合支架材评价探讨牙髓再生的可能性^[86]。

4.2 牙周组织再生

2010年一项临床试验数据显示^[87],利用自体PDLSCs治疗3位重症牙周病患者的牙槽骨,其中2例患者经过合理的临床治疗、正确的口腔卫生习惯,恢复了健康牙周组织;另一位患者的牙齿松动,探诊深度也有明显减低。近期西安交通大学利用患者自体炎症性牙髓组织培养的DPSCs,联合 β -磷酸三钙支架材料移植入牙周缺损的根分叉区,临床影像学检查跟踪表明移植区新骨形成,牙周缺损区组织再生。本项研究为自体炎症性牙髓来源干细胞应用于牙周临床研究提供了一定可能性及安全性的依据^[88]。另外一项研究表明:自体PDLSCs联合常规GTR技术结合Bio-Oss[®]植骨材料治疗牙周骨缺损病人,经过12个月跟踪观察研究组与对照组(常规GTR技术结合Bio-Oss[®]植骨材料治疗)发现牙槽骨高度明显增加^[89]。未来以PDLSCs为基础的牙周治疗可能解决当前临床面临的牙周很难再生的问题。需要扩大临床试验患者数量,获取更为全面的试验结果以用于疗效评

价,还需进一步开展干细胞在牙周再生中的机制研究。

通过检索美国国家卫生研究院的临床试验网站,目前有一项正在进行的临床试验。由首都医科大学王松灵等^[90]开展,将DPSCs注射至慢性牙周炎患者牙周缺损部位,通过影像学检查和牙周临床检查进行相关评价。该临床研究将会给牙周病治疗中使用牙源性干细胞提供循证医学证据。

4.3 颌面骨组织再生

D'aquino等^[91]于2011年进行了颌面部骨再生方面的临床试验,将患者上颌第三磨牙拔除培养DPSCs,并将DPSCs与胶原支架共培养。然后,拔除患者下颌的两颗第三磨牙,其中一侧利用结合了DPSCs的胶原填充,另一侧直接利用胶原填充作为对照,术后3个月,影像学和组织学分析均表明患者联合DPSCs治疗侧的骨修复骨量比单纯胶原支架治疗侧高。此外,Giuliani等^[92]通过3年随访,利用HT同步成像分析表明DPSCs联合胶原治疗侧的骨再生更致密且血管化更均一,证明使用DPSCs诱导骨再生疗效的长期性。

通过检索美国国家卫生研究院的临床试验网站,有一项正在进行的临床试验在巴西的Sirio-libanes医院开展,Daniela Franco等^[93]将DPSCs接种到胶原中,然后联合羟基磷灰石,应用于唇腭裂患者的牙槽骨修复,对新骨的形成做定性和定量的研究。

4.4 其他临床疾病治疗

目前牙源性干细胞临床试验的相关研究主要集中于牙体、牙周组织及颌面骨再生领域。此外,Nagpal等^[94]研究了利用自体DPSCs治疗脑卒中后行动受限患者的安全性及可行性。相信随着再生医学的发展,临床试验的不断成熟规范,牙源性干细胞将会应用于更多的临床试验领域。

5 小结

牙源性干细胞来源于口腔医疗废弃物,属于废物再利用,因来源丰富、取材安全方便、不涉及伦理以及免疫源性低等优点,在再生医学领域的研究取得了很大进展,具有广阔的应用前景。

牙源性干细胞具有自我更新与多向分化能力,在适当的条件下能分化为骨组织、神经组织、肌组织、角膜细胞、肝细胞、胰岛样细胞等多种组

组织细胞。目前牙源性干细胞在牙髓再生、牙周组织再生、骨组织修复及神经再生领域的应用已进入临床试验阶段,其他组织再生方向还处于临床前期研究。

当然,DSC作为新兴的可储存的成体干细胞,目前在储存和临床研究使用中还存在着一定的问题。

5.1 储存方面的问题

牙源性干细胞储存在国内目前还没有统一的规范,可提供储存服务的单位资质也参差不齐,大部分是作为综合干细胞库的一个延伸。由于牙源性干细胞生物学行为的特殊性,需要建立专业的牙源性干细胞储存服务机构,统一相关储存的流程、定价机制和行业规范。

5.2 牙源性干细胞临床研究中的问题

临床试验复杂的审核程序,牙源性干细胞治疗流程的标准化,如何明确最佳的移植时间、移植数量、合适载体支架材料和生长因子的选择,最佳移植途径以及术后反应、远期疗效等都是亟待解决的问题,都需要该领域的科研工作者们坚持不懈地钻研与探索。牙源性干细胞临床研究的最终目标是提供针对各种疾病的个体化干细胞制剂用于临床治疗。

参考文献

- [1] Friedenstein AJ, Petrakova KV, Kurolesova AI, et al. Heterotopic of bone marrow. Analysis of precursor cells for osteogenic and hematopoietic tissues[J]. Transplantation, 1968, 6(2): 230-247.
- [2] Gronthos SM, Brabim J. Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) in vitro and in vivo[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2000, 97(25): 13625-13630.
- [3] Miura M, Gronthos S, Zhao M, et al. SHED - stem cells from human exfoliated deciduous teeth[J]. J Dent Res, 2003, 82(B): B305.
- [4] Sonoyama W, Liu Y, Yamaza T, et al. Characterization of the apical papilla and its residing stem cells from human immature permanent teeth: pilot study[J]. J Endod, 2008, 34(2): 166-171.
- [5] Seo BM, Miura M, Gronthos S, et al. Investigation of multipotent postnatal stem cells from human periodontal ligament[J]. Lancet, 2004, 364(9429): 149-155.
- [6] Morscizek C, G6tz W, Schierholz J, et al. Isolation of precursor cells (PCs) from human dental follicle of wisdom teeth[J]. Matrix Biol, 2005, 24(2): 155-165.
- [7] Saito MT, Silverio KG, Casati MZ, et al. Tooth-derived stem cells: Update and perspectives[J]. World J Stem Cells, 2015, 7(2): 399-407.
- [8] Yan X, Qin H, Qu C, et al. iPS cells reprogrammed from human mesenchymal-like stem/progenitor cells of dental tissue origin[J]. Stem Cells Dev, 2010, 19(4): 469-480.
- [9] Wang J, Wang X, Sun Z, et al. Stem cells from human-exfoliated deciduous teeth can differentiate into dopaminergic neuron-like cells[J]. Stem Cells Dev, 2010, 19(9): 1375-1383.
- [10] Kerkis I, Kerkis A, Dozortsev D, et al. Isolation and characterization of a population of immature dental pulp stem cells expressing OCT-4 and other embryonic stem cell markers[J]. Cells Tissues Organs, 2006, 184(3/4): 105-116.
- [11] Ferro F, Spelat R, D'aurizio F, et al. Dental pulp stem cells differentiation reveals new insights in Oct4A dynamics[J]. PLoS One, 2012, 7(7): e41774.
- [12] Huang AH, Chen YK, Lin LM, et al. Isolation and characterization of dental pulp stem cells from a supernumerary tooth[J]. Oral Pathol Med, 2008, 37(9): 571-574.
- [13] Guo L, Li J, Qiao X, et al. Comparison of odontogenic, differentiation of human dental follicle cells and human dental papilla cells [J]. PLoS One, 2013, 8(4): e62332.
- [14] Sedgley CM, Botero TM. Dental stem cells and their sources[J]. Dent Clin N Am, 2012, 56(3): 549-561.
- [15] Widera D, Grimm WD, Moebius JM, et al. Highly efficient neural differentiation of human somatic stem cells, isolated by minimally invasive periodontal surgery[J]. Stem Cells Dev, 2007, 16(3): 447-460.
- [16] Vollner F, Ernst W, Driemel O, et al. A two-step strategy for neuronal differentiation in vitro of human dental follicle cells[J]. Differentiation, 2009, 77(5): 433-441.
- [17] Morscizek C, Vollner F, Saugspier M, et al. Comparison of human dental follicle cells (DFCs) and stem cells from human exfoliated deciduous teeth (SHED) after neural differentiation in vitro[J]. Clin Oral Investig, 2010, 14(4): 433-440.
- [18] Mao JJ. Stem cells and the future of dental care[J]. N Y, 2008, 74(2): 20-24.
- [19] Perry BC, Zhou D, Wu X, et al. Collection, cryopreservation, and characterization of human dental pulp-derived mesenchymal stem cells for banking and clinical use[J]. Tissue Eng Part C Methods, 2008, 14: 149-156.
- [20] Lindemann D, Werle SB, Steffens D, et al. Effects of cryopreservation on the characteristics of dental pulp stem cells of intact deciduous teeth[J]. Arch Oral Biol, 2014, 59(9): 970-976.
- [21] Munévar JC, Gutiérrez N, Jiménez NT, et al. Evaluation of two human dental pulp stem cell cryopreservation methods[J]. Acta Odontol Latinoam, 2015, 28(2): 114-121.
- [22] Arora V, Arora P, Munshi AK. Banking stem cells from human exfoliated deciduous teeth (SHED): saving for the future[J]. J Clin Pediatr Dent, 2009, 33(4): 289-294.
- [23] Iohara K, Nakashima M, Ito M, et al. Dentin regeneration by dental pulp stem cell therapy with recombinant human bone morphogenetic protein 2[J]. J Dent Res, 2004, 83(8): 590-595.
- [24] Prescott RS, Alsanea R, Fayad M, et al. *In vivo* generation of dental pulp-like tissue by using dental pulp stem cells, a collagen scaffold, and dentin matrix protein 1 after subcutaneous transplantation in mice[J]. J Endod, 2008, 34(4): 421-426.
- [25] Huang GT, Yamaza T, Shea LD, et al. Stem/progenitor cell-mediated

- ed 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.
- [26] Cordeiro MM, Dong Z, Kaneko T, et al. Dental pulp tissue engineering with stem cells from exfoliated deciduous teeth[J]. *J Endod*, 2008, 34(8): 962-969.
- [27] He H, Yu J, Cao J, et al. Biocompatibility and osteogenic capacity of periodontal ligament stem cells on nHAC/PLA and HA/TCP scaffolds[J]. *J Biomater Sci Polym Ed*, 2011, 22(1/3): 179-194.
- [28] Guo W, Gong K, Shi H, et al. Dental follicle cells and treated dentin matrix scaffold for tissue engineering the tooth root[J]. *Biomaterials*, 2012, 33(5): 1291-1302.
- [29] Dissanayaka WL, Hargreaves KM, Jin LJ, et al. The interplay of dental pulp stem cells and endothelial cells in an injectable peptide hydrogel on angiogenesis and pulp regeneration in vivo[J]. *Tissue Eng Part A*, 2015, 21(3/4): 550-563.
- [30] 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.
- [31] Ibarretxe G, Alvarez A, Canavate M, et al. Cell reprogramming, IPS limitations, and overcoming strategies in dental bioengineering[J]. *Stem Cells Int*, 2012: 365932.
- [32] Kim BC, Bae H, Kwon IK, et al. Osteoblastic/cementoblastic and neural differentiation of dental stem cells and their applications to tissue engineering and regenerative medicine[J]. *Tissue Eng Part B Rev*, 2012, 18(3): 235-244.
- [33] Petridis X, Diamanti E, Trigas GC, et al. Bone regeneration in critical-size calvarial defects using human dental pulp cells in an extracellular matrix-based scaffold[J]. *J Cranio Maxillofac Surg*, 2015, 43(4): 483-490.
- [34] 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.
- [35] Ge SH, Zhao N, Wang L, et al. Bone repair by periodontal ligament stem cell-seeded nanohydroxyapatite-chitosan scaffold[J]. *Int J Nanomedicine*, 2012, 7: 5405-5414.
- [36] B-H Yu QZ, Z-L Wang EA. Periodontal ligament versus bone marrow mesenchymal stem cells in combination with Bio-Oss scaffolds for ectopic and in situ bone formation: a comparative study in the rat[J]. *J Biomater Appl*, 2014, 29(2): 243-253.
- [37] Omori M, Tsuchiya S, Kenji H, et al. A new application of cell-free bone regeneration: immobilizing stem cells from human exfoliated deciduous teeth conditioned medium onto Titanium implants using atmospheric pressure plasma treatment[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2015, 6(1): 124.
- [38] Rezai-Rad M, Bova JF, Orooji M, et al. Evaluation of bone regeneration potential of dental follicle stem cells for treatment of craniofacial defects[J]. *Cytotherapy*, 2015, 17(11): 1572-1581.
- [39] Abdel Meguid E, Ke Y, Ji J, et al. Stem cells applications in bone and tooth repair and regeneration: New insights, tools, and hopes[J]. *J Cell Physiol*, 2017, 30.
- [40] Zhang J, Chen J. Bone tissue regeneration - application of mesenchymal stem cells and cellular and molecular mechanisms[J]. *Curr Stem Cell Res Ther*, 2017, 12(5): 357-364.
- [41] Mead B, Logan A, Berry M, et al. Concise review: dental pulp stem cells: a novel cell therapy for retinal and central nervous system repair[J]. *Stem Cells*, 2017, 35(1): 61-67.
- [42] Huang AH, Snyder BR, Cheng PH, et al. Putative dental Pulp-Derived stem/stromal cells promote proliferation and differentiation of endogenous neural cells in the hippocampus of mice[J]. *Stem Cells*, 2008, 26(10): 2654-2663.
- [43] De Almeida FM, Marques SA, Ramalho BD, et al. Human dental pulp cells: a new source of cell therapy in a mouse model of compressive spinal cord injury[J]. *J Neurotrauma*, 2011, 28(9): 1939-1949.
- [44] Sakai K, Yamamoto A, Matsubara K, et al. Human dental pulp-derived stem cells promote locomotor recovery after complete transection of the rat spinal cord by multiple neuro-regenerative mechanisms[J]. *J Clin Invest*, 2012, 122(1): 80-90.
- [45] Nicola FC, Rodrigues LP, Crestani T, et al. Human dental pulp stem cell transplantation combined with treadmill training in rats after traumatic spinal cord injury[J]. *Braz J Med Biol Res*, 2016, 49(9): e5319.
- [46] De Berdt P, Vanacker J, Ucakar B, et al. Dental apical papilla as therapy for spinal cord injury[J]. *J Dent Res*, 2015, 94(11): 1575-1581.
- [47] Apel C, Forlenza OV, Paula VD, et al. The neuroprotective effect of dental pulp cells in models of Alzheimer's and Parkinson's disease[J]. *J Neural Transm(Vienna)*, 2009, 116(1): 71-78.
- [48] Mita T, Furukawa-Hibi Y, Takeuchi HA, et al. Conditioned medium from the stem cells of human dental pulp improves cognitive function in a mouse model of Alzheimer's disease[J]. *Behav Brain Res*, 2015, 293: 189-197.
- [49] Fujii H, Matsubara K, Sakai K, et al. Dopaminergic differentiation of stem cells from human deciduous teeth and their therapeutic benefits for Parkinsonian rats[J]. *Brain Res*, 2015, 1613: 59-72.
- [50] Sugiyama M, Iohara K, Wakita H, et al. Dental Pulp-Derived CD31(-)/CD146(-) side population stem/progenitor cells enhance recovery of focal cerebral ischemia in rats[J]. *Tissue Eng Part A*, 2011, 17(9/10): 1303-1311.
- [51] Yalvac ME, Rizvanov AA, Kilic E, et al. Potential role of dental stem cells in the cellular therapy of cerebral ischemia[J]. *Curr Pharm Des*, 2009, 15(33): 3908-3916.
- [52] Sasaki R, Aoki S, Yamato M, et al. PLGA artificial nerve conduits with dental pulp cells promote facial nerve regeneration[J]. *J Tissue Eng Regen Med*, 2011, 5(10): 823-830.
- [53] Omi M, Hata M, Nakamura N, et al. Transplantation of dental pulp stem cells suppressed inflammation in sciatic nerves by promoting macrophage polarization towards anti-inflammation phenotypes

- and ameliorated diabetic polyneuropathy[J]. *J Diabetes Investig*, 2016, 7(4): 485-496.
- [54] Gandia C, Arminan A, Garcia-Verdugo JM, et al. Human dental pulp stem cells improve left ventricular function, induce angiogenesis, and reduce infarct size in rats with acute myocardial infarction[J]. *Stem Cells*, 2008, 26(3): 638-645.
- [55] Xin LZ, Govindasamy V, Musa S, et al. Dental stemcells as an alternative source for cardiac regeneration[J]. *Med Hypotheses*, 2013, 81(4): 704-706.
- [56] Yamaguchi S, Shibata R, Yamamoto NA, et al. Dental pulp-derived stem cell conditioned medium reduces cardiac injury following ischemia-reperfusion[J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 16295.
- [57] Di Scipio F, Sprio AE, Folino A, et al. Injured cardiomyocytes promote dental pulp mesenchymal stem cell homing[J]. *Biochimica et Biophysica Acta-General Subjects*, 2014, 1840(7): 2152-2161.
- [58] Iohara K, Zheng L, Wake H, et al. A novel stem cell source for vasculogenesis in ischemia: subfraction of side population cells from dental pulp[J]. *Stem Cells*, 2008, 26(9): 2408-2418.
- [59] Nishino Y, Ebisawa K, Yamada Y, et al. Human deciduous teeth dental pulp cells with basic fibroblast growth factor enhance wound healing of skin defect[J]. *J Craniofac Surg*, 2011, 22(2): 438-442.
- [60] Bronckaers A, Hilkens P, Fanton Y, et al. Angiogenic properties of human dental pulp stem cells[J]. *PLoS One*, 2013, 8(8): e71104.
- [61] Gomes JA, Monteiro BG, Melo GB, et al. Corneal reconstruction with tissue-engineered cell sheets composed of human immature dental pulp stem cells[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2010, 51(3): 1408-1414.
- [62] Mead B, Logan A, Berry M, et al. Intravitreally transplanted dental pulp stem cells promote neuroprotection and Axon regeneration of retinal ganglion cells after optic nerve injury[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2013, 54(12): 7544-7556.
- [63] Syed-Picard FN, Du Y, Lathrop KL, et al. Dental pulp stem cells: a new cellular resource for corneal stromal regeneration[J]. *Stem Cells Transl Med*, 2015, 4(3): 276-285.
- [64] Roozafzoon R, Lashay A, Vasei M, et al. Dental pulp stem cells differentiation into retinal ganglion-like cells in a three dimensional network[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2015, 457(2): 154-160.
- [65] Krasner PV, Verlander P. Stem cells in dentistry and medicine: The dentists' role[J]. *Dent Today*, 2011, 30(1): 128-130.
- [66] Huang G, Gronthos S, Shi S. Mesenchymal stem cells derived from dental tissues vs. those from other sources: their biology and role in regenerative medicine[J]. *J Dent Res*, 2009, 88(9): 792-806.
- [67] Govindasamy V, Ronald VS, Abdullah A, et al. Differentiation of dental pulp stem cells into islet-like aggregates[J]. *J Dent Res*, 2011, 90(5): 646-652.
- [68] Kanafi MM, Rajeshwari YB, Gupta S, et al. Transplantation of islet-like cell clusters derived from human dental pulp stem cells restores normoglycemia in diabetic mice[J]. *Cytotherapy*, 2013, 15(10): 1228-1236.
- [69] Izumoto-Akita T, Tsunekawa S, Yamamoto A, et al. Secreted factors from dental pulp stemcells improve glucose intolerance in streptozotocin-induced diabetic mice by increasing pancreatic β -cell function[J]. *BMJ Open Diabetes Res Care*, 2015, 3(1): e000128.
- [70] Tomic S, Djokic J, Vasilijic S, et al. Immunomodulatory properties of mesenchymal stem cells derived from dental pulp and dental follicle are susceptible to activation by Toll-Like receptor agonists[J]. *Stem Cells Dev*, 2011, 20(4): 695-708.
- [71] Wada N, Menicanin D, Shi S, et al. Immunomodulatory properties of human periodontal ligament stem cells[J]. *J Cell Physiol*, 2009, 219(3): 667-676.
- [72] Yamaza T, Kentaro A, Chen C, et al. Immunomodulatory properties of stem cells from human exfoliated deciduous teeth[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2010, 1(1): 5.
- [73] Shimojima C, Takeuchi H, Jin SJ, et al. Conditioned medium from the stem cells of human exfoliated deciduous teeth ameliorates experimental autoimmune encephalomyelitis[J]. *J Immunol*, 2016, 196(10): 4164-4171.
- [74] Ishikawa J, Takahashi N, Matsumoto TA, et al. Factors secreted from dental pulp stem cells show multifaceted benefits for treating experimental rheumatoid arthritis[J]. *Bone*, 2016, 83: 210-219.
- [75] Makino Y, Yamaza H, Akiyama K, et al. Immune therapeutic potential of stem cells from human supernumerary teeth[J]. *J Dent Res*, 2013, 92(7): 609-615.
- [76] Wakayama H, Hashimoto N, Matsushita YA, et al. Factors secreted from dental pulp stem cells show multifaceted benefits for treating acute lung injury in mice[J]. *Cytotherapy*, 2015, 17(8): 1119-1129.
- [77] Michele AB, João Flávio PM, Durvanei AM, et al. Immature dental pulp stem cells showed renotropic and pericyte-like properties in acute renal failure in rats[J]. *Cell Med*, 2015, 7(3): 95-108.
- [78] Ishkitiev N, Yaegaki K, Imai T, et al. Novel management of acute or secondary biliary liver conditions using hepatically differentiated human dental pulp cells[J]. *Tissue Eng Part A*, 2015, 21(3/4): 586-593.
- [79] Hirata M, Ishigami M, Matsushita YA, et al. Multifaceted therapeutic benefits of factors derived from dental pulp stem cells for mouse liver fibrosis[J]. *Stem Cells Transl Med*, 2016, 5(10): 1416-1424.
- [80] Kerkis I, Ambrosio CE, Kerkiset al A, et al. Early transplantation of human immature dental pulp stem cells from baby teeth to golden retriever muscular dystrophy (GRMD) dogs: local or systemic[J]. *J Transl Med*, 2008, 6(1): 35.
- [81] Yamamura Y, Yamada H, Sakurai T, et al. Treatment of salivary gland hypofunction by transplantation with dental pulp cells[J]. *Arch Oral Biol*, 2013, 58(8): 935-942.
- [82] Tseng LS, Chen SH, Lin MT, et al. Transplantation of human dental pulp-derived stem cells protects against heatstroke in mice[J]. *Cell Transplant*, 2015, 24(5): 921-937.
- [83] Nakashima M, Iohara KA. Mobilized dental pulp stem cells for pulp regeneration: initiation of clinical trial[J]. *J Endod*, 2014, 40

- (Suppl 4): S26-S32.
- [84] NIH(2016). ClinicalTrials[Z/OL]. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01814436?term=dental+stem+cells&rank=3>.
- [85] NIH(2016). ClinicalTrials[Z/OL].<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT02842515?term=dental%20+%20stem+cell&rank=1>.
- [86] NIH(2016). ClinicalTrials[Z/OL]. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00595595?term=dental+Pulp+stem+cell&rank=13>.
- [87] Feng F, Akiyama K, Liu Y, et al. Utility of PDL progenitors for in vivo tissue regeneration: A report of 3 cases[J]. Oral Dis, 2010, 16 (1): 20-28.
- [88] Li Y, Zhao S, 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.
- [89] Chen FM, Gao LN, Tian BM, Zhang XY, et al. Treatment of periodontal intrabony defects using autologous periodontal ligament stem cells: a randomized clinical trial[J]. Stem Cell Res Ther, 2016, 19, 7: 33.
- [90] NIH(2016). ClinicalTrials[Z/OL]. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02523651?term=dental+pulp+stem+cell&rank=1>.
- [91] D'aquino R, De Rosa A, Lanza V, et al. Human mandible bone defect repair by the grafting of dental pulp stem/progenitor cells and collagen sponge biocomplexes[J]. Eur Cell Mater, 2009, 18: 75-83.
- [92] Giuliani A, Manescu A, Langer MA, et al. Three years after transplants in human mandibles, histological and In-Line holotomography revealed that stem cells regenerated a compact rather than a spongy bone: biological and clinical implications[J]. Stem Cells Transl Med, 2013, 2(4): 316-324.
- [93] NIH(2016). ClinicalTrials[Z/OL]. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01932164?term=dental+stem+cells&rank=1>.
- [94] Nagpal A, Kremer KL, Hamilton - Brule MA, et al. TOOTH(the open study of dental pulp stem cell therapy in humans): study protocol for evaluating safety and feasibility of autologous human adult dental pulp stem cell therapy in patients with chronic disability after stroke[J]. Int J Stroke, 2016, 11(5): 575-587.
- (编辑 张琳,曾曙光)

· 短讯 ·

《口腔疾病防治》杂志征稿及征订启事

《口腔疾病防治》是由南方医科大学口腔医院(广东省口腔医院)、广东省牙病防治指导中心主办,中南大学、郑州大学、南昌大学、重庆医科大学、福建医科大学等五所大学口腔医学院协办,月刊,CN 44-1724/R,ISSN 2096-1456,CODEN KJFOA4。主要报道国内外口腔医学研究新进展和口腔疾病防治新成果、新技术、新经验,服务口腔疾病预防治疗领域学术交流和口腔疾病防控工作。

本刊图随文走、全铜版纸彩色印刷,设有专家论坛、专家述评、专栏论著、基础研究、临床研究、防治实践、病例报告、综述等栏目。其中含有省级以上基金优秀论文录用后可3个月内快速发表。

本刊官网及投稿网址为 <http://www.kqjbfz.com>,本刊不收取审稿费,从2018年起对投稿件录用后实行免费快速发表并支付稿酬。本刊没有授权或委托任何其他网站受理作者投稿,谨防诈骗。欢迎广大读者订阅。全国各地邮局均可订阅,邮发代号46-225。每月20日出版,定价为每册5.00元,全年60元。如错过邮局订阅时间,可直接向编辑部订购。请将款项汇入开户银行:广州市建行昌岗路支行,账号:44001430402050202779,户名:广东省口腔医院,并且将订阅者的邮政编码、详细地址、姓名、订阅年度、份数及汇款回执扫描件发送至本刊邮箱(kqjbfz@126.com)。编辑部电话:020-84403311,传真:020-84445386,Email:kqjbfz@126.com。