

tal follicle progenitor cell, DFPC)^[7]。在特定培养条件下, 这些牙源性干细胞与人类胚胎干细胞(human embryonic stem cell, hESC)的特征难以区分, 因为它们可以表达hESC的诸多特定物质, 如SSE-4、TRA-1-60、TRA-1-80、TRA-2-49、Nanog、Oct4、Sox2等。这些牙源性干细胞甚至可以在体内产生畸胎瘤, 在体外形成包含所有三胚层组织的胚状体^[8]。随着牙源性间充质干细胞的分离、获得以及相关研究的深入, 发现其不但具有自我再生能力和多向分化潜能, 而且免疫原性低, 故被认为是组织再生的种子细胞之一。以下对目前可应用于组织工程的牙源性成体干细胞进行分述。

1 牙髓干细胞

Gronthos等^[3]的研究表明, 一种牙髓来源的细胞在体内表现出与骨髓干细胞相似的再生牙髓-牙本质复合体的能力, 因此称之为DPSC。DPSC是从人类牙组织分离的第一种牙齿干细胞。目前, 通过酶消化法已成功地将DPSC进行分离和培养, 并通过极限稀释法进行纯化^[9]。

DPSC具有干细胞的性质, 例如自我更新能力和多谱系分化能力。目前, DPSC的多谱系分化能力主要表现在能成功分化为成牙本质细胞、软骨细胞、脂肪细胞、神经元以及肌肉细胞。

研究者^[10]将DPSC和PDLSC共培养时, 发现两种细胞的增殖、牙本质涎蛋白(dentin sialoprotein, DSP)和骨桥蛋白(osteopontin, OPN)的表达都有所增加, 而共培养中仅DPSC表达牙本质涎磷蛋白(dentin sialophosphoprotein, DSPP)mRNA, 单一培养中则无DSPP mRNA表达, 据此推测共培养通过缩短时间表达特异性基因的方法来影响mRNA的表达。因此, 可以通过将两种细胞共培养, 促使DPSC表达DSPP, 从而可以促进牙体组织的生长和矿化等。这对于在组织工程中使用PDLSC诱导DPSC分化有一定指导意义, 从而进一步证实了DPSC具有多谱系分化的能力。

也有文献^[11]报道DPSC能够在体内分化为成骨细胞并产生骨样组织。然而, 在Annibali等^[12]的研究中, 使用人DPSC在裸鼠模型中未能形成新骨。Zhang等^[13]发现, 在鼠骨形成研究中, 并没有鼠DPSC形成新骨的证据。Laino等^[14]成功在体外使用DPSC形成新鲜自体骨, 将新鲜自体骨植入鼠皮

下4周后, 其成功改建为板层骨。同时, DPSC还可与壳聚糖等支架材料复合, 在体内外成骨^[15-16], DPSC与生物材料复后在未来骨组织工程的应用中具有极大潜力^[16], 但其对DPSC向成骨细胞分化机制的影响仍有待于进一步的研究。由于DPSC具有更高的增殖率和更好的骨向分化能力, 而骨髓间充质干细胞分化成骨细胞速率有限且产生钙化结节较小, 所以DPSC是骨形成研究中除了骨髓间充质干细胞之外的最佳理想细胞。但是, DPSC的体外成骨具有一定限制性, 选择合适的支架材料, 保证其能够形成一个完整组织的细胞型而不是单纯包绕矿化基质的单层细胞是目前DPSC体外成骨成功与否的重要因素。

2 脱落乳牙干细胞

2003年, Miura等^[4]首先从脱落乳牙的牙髓组织中发现并分离出具有高分化潜能的单克隆干细胞SHED。这是首次从人类自然可替换的器官乳牙获得干细胞, 成为独特干细胞来源。SHED与血液中干细胞相似, 具有分化成牙本质细胞、脂肪细胞、神经元、骨感应细胞的能力, 有望在自体干细胞移植、牙组织工程及临床中应用。

在体外, SHED显示出了比骨髓基质干细胞(bone marrow stromal stem cell, BMSSC)更高的增殖率、克隆形成率和倍增率, STRO-1和CD146(MUC18)表达阳性, 也主要分布在微血管周围, 具有分化为神经元、脂肪细胞和成牙本质细胞的特性, 表达间充质和血管相关的标记。

此外, SHED经得起低温贮存, 能在液氮长时间保存, 使其可以成为干细胞库的一部分^[17]。近期的研究^[18]表明, 在狗下颌骨缺损模型中, 冻存5年的SHED仍然有增殖能力, 且在成骨过程中无任何免疫反应。另有研究^[4, 19]发现, SHED在植入免疫缺陷动物后, 能在老鼠脑组织中生存和迁移, 并且能够在体内产生非板层骨和牙本质样结构。

SHED在骨组织工程的应用在近年来有很大的发展。SHED在壳聚糖/转化生长因子(transforming growth factor, TGF)- β 1支架/因子复合材料上可以增殖并且可以分化为成骨细胞, 这对将来在骨组织工程使用SHED/壳聚糖/TGF- β 1支架具有重大的意义^[20]。在小鼠下颌骨缺损模型中, 研究者^[21]使用三维聚乳酸羟基乙酸支架复合SHED材料

植入受损区, 1个月后处死动物取标本, 发现其对小鼠无任何不良反应, 且在实验期间内SHED的成骨潜能可以一直维持。提示SHED复合三维聚乳酸羟基乙酸支架可作为骨缺损的一种新型替代物。

3 根尖乳头根干细胞

SCAP是一种新兴的多能干细胞群体^[5]。SCAP来自于发育中的组织, 可以通过根尖组织的组织块培养法或者酶消化法获得。作为一种新发现的后天干细胞群, SCAP通过与多种成骨或成牙本质标志物共表达STRO-1表现出异构性, 在SCAP与其他成骨或成牙本质细胞共培养中发现, STRO-1阳性细胞百分比低, 而在单独培养的成骨或成牙本质细胞中STRO-1阳性细胞百分比高。另外, 通过免疫组织化学染色, SHED在几种神经标志物染色中呈阳性, 例如 β III微管蛋白、神经元核心抗原(neuronal nuclei, NeuN)、巢蛋白、胶质纤维酸性蛋白(glial fibrillary acidic protein, GFAP)、神经微丝蛋白M和神经元特异性烯醇化酶(neuron-specific enolase, NSE)。这就是说, SCAP与DPSC和SHED相似, 可能来源于神经嵴细胞, 或者来源于神经嵴相关的细胞^[4]。

目前, 关于SCAP再生骨组织的研究还比较少, 在Wang等^[22]的体外研究中, 发现胰岛素生长因子(insulin growth factor, IGF)-1可促进SCAP骨向分化, 抑制SCAP牙向分化。Wu等^[23]的研究证实, 碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)能增强SCAP的成骨分化。Chen等^[24]研究发现, 无细胞羊膜基质的支架可以促进SCAP的成骨能力和矿化能力, 但其确切的调节机制仍有待进一步研究。此外, 细胞外调节蛋白激酶(extracellular regulated protein kinases, ERK) 1/2通路的激活是羊膜诱导SCAP分化和矿化的表现之一。

4 牙周膜干细胞

牙周组织由牙龈、牙骨质、牙周膜和牙槽骨组成, 牙周膜作为牙周组织的重要组织部分, 在支持牙齿和调节牙槽骨方面起关键作用。PDLSC来源于牙周膜, 在一定的体外培养条件下可分化为牙周骨细胞、成骨细胞、脂肪细胞、软骨细胞和成纤维细胞^[8]。与其他的牙源性干细胞相同,

PDLSC也具有快速生长和增殖的能力。但关于PDLSC的细胞生物学特性还不甚清楚。

通过酶消化法收集的PDLSC能够展现出较高的增殖率以及间充质干细胞特性, 而通过组织块培养法获得的PDLSC表现出成纤维细胞样特性。因此, 通过不同培养方法可获得具有不同特性的PDLSC, 对于探索新的干细胞治疗骨缺损疾病方案尤为重要。

对PDLSC的研究表明, 获得牙周膜细胞的来源有很多种。超过半数体内实验都使用犬作为获取PDLSC的来源, 并且在评估成骨潜能的牙周缺损模型中得到广泛运用。然而, Seo等^[6]发现, 在大鼠牙周缺损模型中, 植入PDLSC 8周后, 未发现PDLSC产生新骨。伊班磷酸盐、辛伐他丁、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、低幅高频振动(low-magnitude high-frequency, LMHF)、骨形成蛋白(bone morphogenetic protein, BMP) 2、BMP6都可以增强PDLSC的成骨潜力^[6,25-28]。

PDLSC在骨组织工程方面应用广泛。Yamada等^[29]的研究表明, 犬PDLSC能够修复直径10 mm以下的颌骨缺损, 并且在骨修复过程中形成更多的血管。有研究^[30-31]表明, 相较于牙龈间充质干细胞而言, PDLSC具有更大的成骨潜能。然而, Yang等^[32]的研究表明, 在炎症情况下, 牙龈间充质干细胞比PDLSC有更好的成骨潜能。有研究^[33]表明, 细胞外基质(extracellular matrix, ECM)沉积的羟磷灰石支架可以显著增强体外PDLSC的成骨分化潜能。基于此, Ge等^[34]将PDLSC分别接种在纳米羟磷灰石-壳聚糖支架和京尼平-壳聚糖支架上, 以评价其在体内的骨修复能力, 结果发现接种在纳米羟磷灰石-壳聚糖支架上的PDLSC的活性、碱性磷酸酶活性更佳; 同时, 骨相关的标记物骨涎蛋白、骨调素、骨钙素都明显上调。

5 牙囊前体细胞

牙囊是一个包围着萌出前牙胚的结缔组织囊, 内含牙骨质细胞、牙周膜细胞和成骨细胞的祖细胞。这些祖细胞被局限在牙囊基质内, 可以从许多牙囊分离出来, 这就是所谓的DFPC, 也被称为牙囊来源性干细胞(dental follicle derived stem cell, DFSC)^[7]。DFPC能够从尚未完全萌出的第三磨牙牙囊中分离出来。

与其他牙干细胞相似, DFPC是贴壁细胞和集落形成细胞, 在体外特定条件下能够分化成成骨细胞样细胞^[35]。当在合适的体外条件下培养时, DFPC也具有分化为成骨细胞、成牙本质细胞、软骨细胞、脂肪细胞、神经元的能力。

不同来源的DFPC的能力有所不同。有研究^[36]显示, 使用猪或者鼠来源的DFPC修复骨缺损时缺乏新骨形成。Honda等^[37]研究证实, 在鼠临界尺寸颅骨缺损修复实验中, 骨形成的过程类似于膜内骨化。另外, Dress等^[38]发现, 丁酸盐可以刺激DFPC的早期成骨分化阶段, 与此同时抑制其生物矿化。

6 小结

总结DPSC、SHED、SCAP、PDLSC、DFPC这5种牙体组织源性干细胞在体外及体内的成骨分化特性, 其确实有所差异。李琨等^[39]在研究中发现, 小型猪来源的DPSC和PDLSC都具有较强的多向分化潜能和增殖活性, 但DPSC的成骨潜能相对较低。有学者认为, DPSC的成骨能力是有限的。有研究^[40]发现, SHED与DPSC不同, 它可以诱导宿主细胞向骨组织分化的同时, 不形成牙本质-牙髓复合体结构。并且, 有研究者^[41]在选用人的SHED和DPSC分别进行培养和成骨诱导后发现, SHED比DPSC具有更强的成骨分化能力。在骨组织再生方面, 使用牙体组织源性干细胞是十分可行的。牙体组织源性干细胞容易获得, 因此可以作为骨髓间充质干细胞的替代细胞用于临床治疗。然而, 牙体组织源性间充质干细胞的增殖有限, 且随着体外扩增次数的增加会逐渐丧失分化能力。因此, 找到一种在维持牙体组织源性间充质干细胞的生物特性的同时保留活性及分化能力的方法还需要进一步的研究。

7 参考文献

- [1] Moore KA, Lemischka IR. Stem cells and their niches [J]. *Science*, 2006, 311(5769):1880-1885.
- [2] Mitsiadis TA, Barrandon O, Rochat A, et al. Stem cell niches in mammals[J]. *Exp Cell Res*, 2007, 313(16):3377-3385.
- [3] Gronthos S, Mankani M, Brahimi J, et al. Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) *in vitro* and

- in vivo*[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97(25):13625-13630.
- [4] Miura M, Gronthos S, Zhao M, et al. SHED: stem cells from human exfoliated deciduous teeth[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100(10):5807-5812.
- [5] Sonoyama W, Liu Y, Fang D, et al. Mesenchymal stem cell-mediated functional tooth regeneration in swine[J]. *PLoS One*, 2006, 1:e79.
- [6] 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.
- [7] Morsezeck C, Götz 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.
- [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] Lee SY, Chiang PC, Tsai YH, et al. Effects of cryopreservation of intact teeth on the isolated dental pulp stem cells[J]. *J Endod*, 2010, 36(8):1336-1340.
- [10] Suh JD, Lim KT, Jin H, et al. Effects of co-culture of dental pulp stem cells and periodontal ligament stem cells on assembled dual disc scaffolds[J]. *Tissue Eng Regen Med*, 2014, 11(1):47-58.
- [11] Carinci F, Papaccio G, Laino G, et al. Comparison between genetic portraits of osteoblasts derived from primary cultures and osteoblasts obtained from human pulpar stem cells[J]. *J Craniofac Surg*, 2008, 19(3):616-625.
- [12] Annibali S, Bellavia D, Ottolenghi L, et al. Micro-CT and PET analysis of bone regeneration induced by biodegradable scaffolds as carriers for dental pulp stem cells in a rat model of calvarial "critical size" defect: preliminary data[J]. *J Biomed Mater Res Part B Appl Biomater*, 2014, 102(4):815-825.
- [13] Zhang W, Walboomers XF, van Osch GJ, et al. Hard tissue formation in a porous HA/TCP ceramic scaffold loaded with stromal cells derived from dental pulp and bone marrow[J]. *Tissue Eng Part A*, 2008, 14(2):285-294.
- [14] Laino G, d'Aquino R, Graziano A, et al. A new po-

- pulation of human adult dental pulp stem cells: a useful source of living autologous fibrous bone tissue (LAB)[J]. *J Bone Miner Res*, 2005, 20(8):1394-1402.
- [15] Amir LR, Suniarti DF, Utami S, et al. Chitosan as a potential osteogenic factor compared with dexamethasone in cultured macaque dental pulp stromal cells[J]. *Cell Tissue Res*, 2014, 358(2):407-415.
- [16] Chen Y, Zhang F, Fu Q, et al. *In vitro* proliferation and osteogenic differentiation of human dental pulp stem cells in injectable thermo-sensitive chitosan/ β -glycerophosphate/hydroxyapatite hydrogel[J]. *J Biomater Appl*, 2016, 31(3):317-327.
- [17] Suchánek J, Visek B, Soukup T, et al. Stem cells from human exfoliated deciduous teeth— isolation, long term cultivation and phenotypical analysis[J]. *Acta Medica (Hradec Kralove)*, 2010, 53(2):93-99.
- [18] Behnia A, Haghghat A, Talebi A, et al. Transplantation of stem cells from human exfoliated deciduous teeth for bone regeneration in the dog mandibular defect[J]. *World J Stem Cells*, 2014, 6(4):505-510.
- [19] Seo BM, Sonoyama W, Yamaza T, et al. SHED repair critical-size calvarial defects in mice[J]. *Oral Dis*, 2008, 14(5):428-434.
- [20] Farea M, Husein A, Halim AS, et al. Synergistic effects of chitosan scaffold and TGF β 1 on the proliferation and osteogenic differentiation of dental pulp stem cells derived from human exfoliated deciduous teeth[J]. *Arch Oral Biol*, 2014, 59(12):1400-1411.
- [21] Vakhrushev IV, Antonov EN, Popova AV, et al. Design of tissue engineering implants for bone tissue regeneration of the basis of new generation poly-lactoglycolide scaffolds and multipotent mesenchymal stem cells from human exfoliated deciduous teeth (SHED cells)[J]. *Bull Exp Biol Med*, 2012, 153(1):143-147.
- [22] Wang S, Mu J, Fan Z, et al. Insulin-like growth factor 1 can promote the osteogenic differentiation and osteogenesis of stem cells from apical papilla[J]. *Stem Cell Res*, 2012, 8(3):346-356.
- [23] Wu J, Huang GT, He W, et al. Basic fibroblast growth factor enhances stemness of human stem cells from the apical papilla[J]. *J Endodon*, 2012, 38(5):614-622.
- [24] Chen YJ, Chung MC, Jane Yao CC, et al. The effects of acellular amniotic membrane matrix on osteogenic differentiation and ERK1/2 signaling in human dental apical papilla cells[J]. *Biomaterials*, 2012, 33(2):455-463.
- [25] Lee JH, Um S, Jang JH, et al. Effects of VEGF and FGF-2 on proliferation and differentiation of human periodontal ligament stem cells[J]. *Cell Tissue Res*, 2012, 348(3):475-484.
- [26] Yu Y, Mu J, Fan Z, et al. Insulin-like growth factor 1 enhances the proliferation and osteogenic differentiation of human periodontal ligament stem cells via ERK and JNK MAPK pathways[J]. *Histochem Cell Biol*, 2012, 137(4):513-525.
- [27] Zhou Q, Zhao ZN, Cheng JT, et al. Ibandronate promotes osteogenic differentiation of periodontal ligament stem cells by regulating the expression of microRNAs[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2011, 404(1):127-132.
- [28] Zhang C, Li J, Zhang L, et al. Effects of mechanical vibration on proliferation and osteogenic differentiation of human periodontal ligament stem cells[J]. *Arch Oral Biol*, 2012, 57(10):1395-1407.
- [29] Yamada Y, Ito K, Nakamura S, et al. Promising cell-based therapy for bone regeneration using stem cells from deciduous teeth, dental pulp, and bone marrow [J]. *Cell Transplant*, 2011, 20(7):1003-1013.
- [30] Moshaverinia A, Chen C, Akiyama K, et al. Encapsulated dental-derived mesenchymal stem cells in an injectable and biodegradable scaffold for applications in bone tissue engineering[J]. *J Biomed Mater Res A*, 2013, 101(11):3285-3294.
- [31] Moshaverinia A, Chen C, Xu X, et al. Bone regeneration potential of stem cells derived from periodontal ligament or gingival tissue sources encapsulated in RGD-modified alginate scaffold[J]. *Tissue Eng Part A*, 2014, 20(3/4):611-621.
- [32] Yang H, Gao LN, An Y, et al. Comparison of mesenchymal stem cells derived from gingival tissue and periodontal ligament in different incubation conditions[J]. *Biomaterials*, 2013, 34(29):7033-7047.
- [33] Tour G, Wendel M, Moll G, et al. Bone repair using periodontal ligament progenitor cell-seeded constructs[J]. *J Dent Res*, 2012, 91(8):789-794.
- [34] Ge S, Zhao N, Wang L, et al. Bone repair by perio-

- dontal ligament stem cellseeded nanohydroxyapatite-chitosan scaffold[J]. *Int J Nanomedicine*, 2012, 7: 5405-5414.
- [35] Morszeck C, Schmalz G, Reichert TE, et al. Somatic stem cells for regenerative dentistry[J]. *Clin Oral Investig*, 2008, 12(2):113-118.
- [36] Xu LL, Liu HC, Wang DS, et al. Effects of BMP-2 and dexamethasone on osteogenic differentiation of rat dental follicle progenitor cells seeded on three-dimensional beta-TCP[J]. *Biomed Mater*, 2009, 4(6): 065010.
- [37] Honda MJ, Imaizumi M, Suzuki H, et al. Stem cells isolated from human dental follicles have osteogenic potential[J]. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 2011, 111(6):700-708.
- [38] Drees J, Felthaus O, Gosau M, et al. Butyrate stimulates the early process of the osteogenic differentiation but inhibits the biomineralization in dental follicle cells (DFCs)[J]. *Odontology*, 2014, 102(2):154-159.
- [39] 李琨, 雷鸣, 高丽娜, 等. 小型猪牙髓、牙周膜干细胞的生物学性能比较[J]. *牙体牙髓牙周病学杂志*, 2014, 24(2):61-65.
- Li K, Lei M, Gao LN, et al. Characterization of dental pulp stem cells and periodontal ligament stem cells from miniature pig[J]. *Chin J Conserv Dent*, 2014, 24(2):61-65.
- [40] 许诺, 覃猷妹. 人乳牙牙髓干细胞和成人牙髓干细胞研究进展[J]. *牙体牙髓牙周病学杂志*, 2008, 18(12):709-713.
- Xu N, Qin XS. Study progress of stem cells from human exfoliated deciduous teeth and human dental pulp[J]. *Chin J Conserv Dent*, 2008, 18(12):709-713.
- [41] 路博闻, 刘娜, 徐璐璐, 等. 人脱落乳牙牙髓干细胞与人恒牙牙髓干细胞成骨分化及破骨能力的差异[J]. *南方医科大学学报*, 2016, 36(2):180-185.
- Lu BW, Liu N, Xu LL, et al. Difference of *in vitro* osteogenic differentiation and osteoclast capacity between stem cells from human exfoliated deciduous teeth and dental pulp stem cells[J]. *J South Med Univ*, 2016, 36(2):180-185.
- (本文编辑 胡兴戎)

Mendeley文献管理软件及学术社交平台简介

Mendeley除了是一款免费的文献管理软件之外, 同时也是一个在线的学术社交网络平台, 2013年被Elsevier收购。Mendeley支持多平台使用, 移动端包括iOS和Android版本, 用户可将本地文献云同步至服务器, 免费个人空间为2 GB。

功能包括: 1) Mendeley和Papers一样具有文献信息识别功能, 且Mendeley可通过文献的DOI、ISSN或PMID号自动抓取文献相关信息, 如作者、期刊名、杂志期卷号、页码、文章摘要等; 2) Mendeley自带的pdf阅读器也提供了添加笔记、标注、高亮等注释功能, 但用户添加的注释只可保存到Mendeley的本地数据库, 无法直接保存到pdf文件上; 3) Mendeley最特别的地方在于可以设置不同用户群组, 根据不同权限, 用户可阅读、修改组内的所有文献。

此外, Mendeley具有Researchgate的类似属性: 在个人资料里上传自己发表的文章, 就可以看到有多少人在读你的研究结果, 这些人的研究领域是什么, 分别来自哪些国家等。