

[DOI]10.12016/j.issn.2096-1456.2016.06.014

· 综述 ·

牙髓再生的研究进展

谭仲娟 综述; 赵月萍, 罗圆圆 审校
暨南大学医学院, 广东 广州(510632)

【摘要】 活髓对于维持牙齿内稳态十分重要。理想的牙髓治疗方法应包括再生性牙髓治疗,即坏死或活力减退的牙髓被活髓所代替,最终牙齿活力恢复。随着组织工程的发展,牙髓再生成为可能,本文将从干细胞、支架、生长因子3个方面对牙髓再生相关的问题做一综述。

【关键词】 牙髓再生; 干细胞; 支架; 生长因子; 组织工程

【中图分类号】 R781.3 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 2096-1456(2016)06-374-04

【引用著录格式】 谭仲娟,赵月萍,罗圆圆.牙髓再生的研究进展[J].口腔疾病防治,2016,24(6):374-377.

The research progress of dental pulp regeneration TAN Zhong-juan, ZHAO Yue-ping, LUO Yuan-yuan. Medical College of Jinan University, Guangzhou 510632, China

Corresponding author: ZHAO Yue-ping, Email: 13450488226@163.com, Tel: 0086-20-38688109

【Abstract】 Living pulp is crucial for the maintenance of tooth homeostasis. An ideal form should consist of regenerative approaches, which necrotic pulp or diseased tissues are replaced with regenerated pulp tissues, and the tooth converts into vital in the end. With the development of tissue engineering, dental pulp regeneration becomes possible. This review will solve and discuss the problems of dental pulp regeneration from stem cells, scaffolds and growth factors.

【Key words】 Dental pulp regeneration; Stem cells; Scaffold; Growth factors; Tissue engineering

牙髓发生病损后一般难以恢复,传统的治疗方法是利用充填材料代替有炎症的牙髓。随着生命科学、材料学以及相关学科的进步,以组织工程为基础的牙髓再生在口腔医学界受到了广泛关注,并获得了许多满意的研究成果,但目前的研究尚存在着许多问题需要解决,故本文将就牙髓再生相关的一系列问题做一综述。

1 牙髓再生概述

当牙髓发生病变时,传统的治疗方法是通过根管治疗来保存患牙。临床上根管治疗的成功率随着根管充填材料的发展得到大大提升,但尚存在着许多问题,如年轻恒牙因没有发育完全,根尖孔未完全封闭,给操作带来难度,且牙体组织较

少、根管壁脆弱,进行根管治疗后可能发生根折的现象;根管治疗常会发生包括根管堵塞、根管侧穿等问题,这些问题使得感染不能有效去除,治疗失败;传统的治疗方法只是寻求恢复牙齿功能、结构完整性和美学性能,并不能促进组织生物活性的恢复,牙齿由于缺乏正常的生理防御机制和神经疼痛传输将可能导致进一步损伤。

牙髓再生是用组织工程技术的方法,将干细胞、生长因子和生物支架复合,植入到经严格消毒的牙髓腔中,生长因子随着支架材料的吸收缓慢释放,干细胞增殖分化成牙髓中的各种细胞,最后形成新的牙髓样组织^[1]。

牙髓组织体积虽小,但是其构成却十分复杂,理想情况下再生的牙髓组织应具备以下特性:①再血管化;②与天然的牙髓组织结构类似,含有一定的细胞密度及细胞外基质;③可使成牙本质细胞附着于已有的牙本质表面,并形成新的牙本质;④有神经长入^[2]。从而可知,要实现真正的牙髓再生所面临的挑战仍十分严峻。

【收稿日期】 2015-11-29; **【修回日期】** 2016-01-02

【基金项目】 广东省自然科学基金项目(2015A030311010);广东省科技计划项目(2012A080201010)

【作者简介】 谭仲娟,医师,硕士, Email: 791074070@qq.com

【通讯作者】 赵月萍,主任医师,硕士, Email: 13450488226@163.com

2 牙髓再生面临的问题

2.1 干细胞种类、来源与数量

所有组织都起源于干细胞。干细胞是一类具有自我复制和多向分化潜能的细胞,因其具有在不同的环境下向其他细胞分化的特性,所以干细胞常常被用来做组织工程的种子细胞^[3]。牙齿干细胞包括牙髓干细胞(dental pulp stem cells, DPSCs)、根尖乳头干细胞(stem cells of the apical papilla, SCAP)、牙周膜干细胞(periodontal ligament stem cells, PDLSCs)及人脱落乳牙干细胞(stem cells from human exfoliated deciduous teeth, SHED)等^[4]。其中DPSCs、SCAP、SHED因来自于牙髓组织或者是牙髓前体组织,故为牙体牙髓组织工程主要的干细胞来源^[5]。Gronthos等^[6]最先从阻生的第三磨牙牙髓中分离出DPSCs,在体外扩增并接种于羟基磷灰石—磷酸三钙,随后移植到免疫缺陷小鼠的背部,6周后观察到牙髓—牙本质样结构形成。还有学者将SHED移植到免疫缺陷小鼠皮下时同样观察到有牙髓—牙本质样结构的形成^[7]。

尽管这些基础研究工作取得了许多满意的成果,但在向临床治疗的转化过程中仍然遇到很多问题。首先,干细胞的来源是一个问题。如果使用来源于非人种属干细胞,将会因免疫排斥的问题而受到限制。同种异体的细胞移植同样存在免疫排斥及感染的危险。自体干细胞移植则不会出现免疫排斥现象,但是成体组织中只有1%~4%的干细胞,这就需要大量的组织来构建牙髓组织,且细胞经过提取、纯化、扩增需要的时间较长,培养的过程也有出现感染的可能。

其次,干细胞的数量有限。虽然干细胞存在于每颗牙当中,但只有数量有限的干细胞符合提取的标准,且提取的过程较困难。此外,由于一些不确定因素如培养过程是否存在突变、植入体内后是否存在潜在的免疫原性、细胞活性是否改变等都限制了该技术的实际临床应用^[8]。

解决这些问题的方法只能通过寻求更多的干细胞来源。有国外学者认为有炎症的牙髓组织也能分离出干细胞。Alongi等^[9]分离出具有炎症的DPSCs后植入免疫缺陷的小鼠8周,组织学观察发现牙体样组织形成,说明炎症的DPSCs可为牙髓组织再生干细胞的另一来源。

还有研究认为非牙源性的干细胞也可以刺激牙源性反应,如骨髓间充质干细胞、脂肪来源的间充质干细胞也能形成牙髓样组织^[10]。Cai等^[11]报道

了从人类尿液中获取具有牙生长能力干细胞的方法。在研究中,来源于人类尿液中的多功能干细胞能够诱导大鼠生成牙齿样的结构,而且成功率高达30%。生成的牙齿除了硬度只有人类的1/3,其余的物理性能与正常人类牙齿的相似。

此外,还有学者认为当处一个合适的环境时,其他来源的间充质干细胞可以成为牙源性细胞的一种来源,只是其他类型的细胞再生牙髓或者牙本质并没有DPSCs、SCAP和SHED来得简单^[12]。

利用自身体内细胞进行组织再生的方法可替代干细胞移植。细胞归巢是宿主体内发生干细胞的迁移和募集现象,这些干细胞不同程度地参与了体内组织修复和再生过程。Kim等^[13]首次描述了通过内源性细胞归巢技术进行牙髓再生。研究对人离体牙严格消毒后进行根管预备,高温高压去除牙齿中所有的生物活性组织,将生长因子复合胶原支架移植于离体牙内,随后移植于大鼠皮下,3周后可以观察到根管内形成牙髓血管、牙本质及神经复合物。

细胞归巢最大的优势在于其利用的是内源性干细胞促进组织再生,减少了干细胞移植潜在的污染、免疫排斥、复杂的体外细胞培养技术等缺点^[8]。

2.2 理想的生物支架材料

在牙髓组织工程中,生物支架材料处于至关重要的地位。支架材料主要起到一个能够供细胞附着,生长及促进血管和神经再生的作用。一个理想的支架材料应具备以下条件:①良好的生物相容性,能够促进细胞的附着及为牙髓再生提供诱导环境;②良好的生物降解性,支架材料在体内逐渐降解,且降解速率应与组织细胞生长速率一致;③良好的机械性能及可塑性,能够抵抗外界压力,不至于塌陷^[14];④适宜的孔隙率,细胞便于在支架材料中播种和扩散,同时还利于细胞传递各种营养物质、氧气及代谢产物^[15]。目前,在牙髓组织工程中广泛使用的生物支架材料主要包括天然和人工合成的两大类。天然支架材料是指从生物资源中提取的基质如胶原、壳聚糖等,它们具有良好的生物相容性和生物降解性。人工合成支架包括聚乙醇酸(polyglycolic acid, PGA)、聚乳酸、聚乳酸-羟基乙酸等,它们则具有可调控的降解速度,良好的可塑性等优点。近年来的研究常把不同的支架材料复合,充分利用各自的优点,以获得具备良好理化性能的支架材料。Yang等^[16]将DPSCs接种在含纳米羟基磷灰石的静电纺丝—胶原支架上,通过体外研究发现支架可支持DPSCs的附着、增殖、成牙本质方向的分化,上调

碱性磷酸酶和骨钙素。随后将支架移植于免疫缺陷的裸鼠皮下,组织学观察发现特定牙源性基因的表达上调。Nevins等^[17]运用牙髓血运重建的方法对患有不同类型根尖周疾病的4颗年轻恒牙进行治疗,在刺激形成根管内血凝块的基础上,把胶原-羟基磷灰石复合支架移植于根管内,观察一段时间后,通过影像学结果发现,所有患牙的根尖透射影消失,牙根继续发育、生长。

以支架为基础的牙髓组织工程,为牙髓再生提供了良好的诱导环境。但是由于外源性材料的植入到体内,有可能出现炎症反应、移位等问题,且细胞外基质是一个复杂的、动态的微环境,其中包含多种不同功能的生长因子,参与细胞相关活动的调控^[12],而外源性支架材料形成相似环境的能力十分有限。利用细胞或机体本身所具备的能力来构建一种生长因子及细胞的载体或微环境,可有效解决这些问题。

细胞膜片技术是以细胞间产生的细胞外基质作为内源性支架,在避免了外源性支架植入体内的不良反应的基础上为细胞的附着、迁移提供支撑,储存和释放内源性生长因子,促进组织再生^[18]。此外,广泛应用于医学领域的自体来源纤维蛋白支架^[19],作为自体 and 可生物降解的支架它可以从病人自身的血液获得,过程简单,容易和迅速,同时还可避免免疫反应及其他不良反应。

2.3 生长因子的生物学特性

生长因子是一类生物活性因子,其通过与靶细胞上的相应受体结合,调节相关基因,进一步影响细胞的增殖、分化、迁移等。生长因子在牙髓再生中发挥着重要的作用,通过引导干细胞分化,促进牙髓细胞,血管及神经形成。目前已证实骨形态发生蛋白(bone morphogenetic proteins, BMPs)、碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)、血小板源性生长因子(platelet derived growth factor, PDGF)、血管内皮生长因子和神经生长因子与牙髓再生有着密切的关系^[13]。

生长因子稳定性差,体内半衰期短,分解速度快,直接使用很快被稀释代谢,大剂量使用则会导致不良反应,成本高等缺点,使其在临床上使用受到了限制。因此建立有效的缓释系统,保护生长因子在体内的活性,维持其有效的生物学浓度十分关键,同时也是具有挑战性的。将生长因子与缓释载体结合,随着缓释载体的降解,生长因子高效和持续地释放,可有效解决这个问题。其他的一些方法比如缓控释微球、生长因子基因转染目的细胞的方法也具

有缓释效果。但是这些方法都还只是处于试验阶段,需要更多的科学实验支持。

生长因子的另外一个缺点是需要一组不同的生长因子来诱导不同来源的干细胞以实现特定的分化^[20]。不同生长因子的生物学作用不同,bFGF是重要有丝分裂原,能广泛促进来源于中胚层和神经外胚层细胞的增殖,能诱导组织细胞形态发生和分化,实验证明bFGF有促牙髓再生作用^[21];TGF β 能调节细胞的生长、分化和免疫功能。Melin等^[22]的研究结果表明,当牙髓发生损伤时,TGF β 可以直接参与调节细胞的增殖,迁移和细胞外基质的产生。不同生长因子间存在协同作用。He等^[23]研究发现,TGF β 与bFGF共同作用时ALP的活性,形成矿化结节的能力及DSP、DMP-1的表达都较单独使用TGF β 有所上调,说明两者具有协同作用。生长因子或者不同生长因子间的不同生物学作用,在牙髓再生起到重要作用,所以熟悉各类生长因子的生物学特性及其与干细胞的关系至关重要。

3 小 结

牙髓再生最大可能地保存了患牙的活髓,使患牙结构和功能得到恢复。牙髓再生的研究方法包括牙髓血运重建、成体干细胞疗法、支架植入、可注射式支架植入、牙髓植入、三维细胞打印、基因疗法等^[24]。因不同的方法有不同的优点及局限性,应依据不同的情况来选择最佳的治疗方法。但现阶段只有牙髓血运重建是唯一已正式运用于临床的方法,且对于其预后及长期的疗效,还要保持观望的态度。综上所述,牙髓再生从理论到临床实践的转变是极富挑战性的,需要相当大量的科学研究来推进。所以,要实现真正的牙髓再生,需要走的路还很长。

参考文献

- [1] Yildirim S, Fu SY, Kim K, et al. Tooth regeneration: a revolution in stomatology and evolution in regenerative medicine[J]. Int J Oral Sci, 2011, 3(3): 107-116.
- [2] Huang GT. Dental pulp and dentin tissue engineering and regeneration-advancement and challenge[J]. Front Biosci (Elite Ed), 2011, 3(2): 788-800.
- [3] Goldberg M. Pulp healing and regeneration: more questions than answers[J]. Adv Dent Res, 2011, 23(3): 270-274.
- [4] Egusa H, Sonoyama W, Nishimura M, et al. Stem cells in dentistry-part I: stem cell sources[J]. J Prosthodont Res, 2012, 56(3): 151-165.
- [5] Huang GT. Pulp and dentin tissue engineering and regeneration: current progress[J]. Regen Med, 2009, 4(5): 697-707.

- [6] 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 U S A, 2000, 97(25): 13625-13630.
- [7] 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.
- [8] Mao JJ, Kim SG, Zhou J, et al. Regenerative endodontics: barriers and strategies for clinical translation[J]. Dent Clin North Am, 2012, 56(3): 639-649.
- [9] Alongi DJ, Yamaza T, Song Y, et al. Stem/progenitor cells from inflamed human dental pulp retain tissue regeneration potential. Regen Med, 2010, 5(4): 617-631.
- [10] Huang GT, Al-Habib M, Gauthier P. Challenges of stem cell-based pulp and dentin regeneration: a clinical perspective[J]. Endod Topics, 2013, 28(1): 51-60.
- [11] Cai J, Zhang Y, Liu P, et al. Generation of tooth-like structures from integration-free human urine induced pluripotent stem cells [J]. Cell Regen (Lond), 2013, 2(1): 6.
- [12] Huo N, Tang L, Yang Z, et al. Differentiation of dermal multipotent cells into odontogenic lineage induced by embryonic and neonatal tooth germ cell-conditioned medium[J]. Stem Cells Dev, 2010, 19(1): 93-104.
- [13] Kim JY, Xin X, Moiola EK, et al. Regeneration of dental-pulp-like tissue by chemotaxis-induced cell homing[J]. Tissue Eng Part A, 2010, 16(10): 3023-3031.
- [14] 熊华翠, 陈柯. 组织工程牙髓的研究进展[J]. 广东牙病防治, 2013, 21(1): 50-54.
- [15] 雷鸣, 高丽娜, 陈发明, 等. 牙髓组织工程和再生中生物支架材料的进展[J]. 牙体牙髓牙周病学杂志, 2013, 23(1): 51-56.
- [16] Yang X, Yang F, Walboomers XF, et al. The performance of dental PCL/gelatin/nHA scaffolds pulp stem cells on nanofibrous[J]. J Biomed Mater Res A, 2010, 93 (1): 247-257.
- [17] Nevins AJ, Cymerman JJ. Revitalization of open apex teeth with apical periodontitis using a collagen-hydroxyapatite scaffold[J]. J Endod, 2015, 41(6): 966-973.
- [18] Na S, Zhang H, Huang F, et al. Regeneration of dental pulp/dentine complex with a three-dimensional and scaffold-free stem-cell sheet-derived pellet[J]. J Tissue Eng Regen Med, 2013, doi: 10.1002/term.1686.
- [19] 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.
- [20] Bansal R, Jain A, Mittal S. Current overview on challenges in regenerative endodontics[J]. J Conserv Dent, 2015, 18(1): 1-6.
- [21] Yang JW, Zhang YF, Sun ZY. Dental pulp tissue engineering with bFGF-incorporated silk fibroin scaffolds[J]. J Biomater Appl, 2015, 30(2): 221-229.
- [22] Melin M, Joffe-Romeas A, Farges JC. Effects of TGFbeta1 on dental pulp cells in cultured human tooth slices[J]. J Dent Res, 2000, 79(9): 1689-1696.
- [23] He H, Yu J, Liu Y. Effects of FGF2 and TGFbeta1 on the differentiation of human dental pulp stem cells *in vitro*[J]. Cell Biol Int, 2008, 32(7): 827-834.
- [24] Murray PE, Garcia-Godoy F, Hargreaves KM. Regenerative endodontics: a review of current and a call for action[J]. J Endod, 2007, 33(4): 377-390.

(编辑 全春天)

• 短讯 •

法国艾龙集团超声骨刀——Piezotome Solo 全新上市

法国艾龙集团专为骨外科精心设计的超声骨切割系统全新上市了,它集赛特力最先进电子技术于一体,并紧密贴合临床需要,提高了患者的舒适度,是一款功率强大,切割准确,用于种植前骨处理的利器。

Piezotome®超声功率应用在外科领域的优势已经被广泛证实:安全的切割,最小化的骨流失,极佳的手术视野,出色的促进伤口愈合以及减轻术后疼痛,无论对于患者还是医生都是非常有益的。ACTEON®艾龙集团积累了大量的口腔外科临床经验,选取并整合最可靠、安全和功能强大的配件到Piezotome® Solo超声骨刀中。Piezotome® Solo手柄的6个陶瓷环大大增强了发生器的功率,同时又降低了软组织损伤的风险。创新的蠕动泵提供稳定、持续、精准的冲洗流量控制,操作过程中无噪音。此外,独家专利NEWTRON®技术保证治疗中对软组织的保护,并实现最小化的骨损失。在操作过程中,Solo骨刀始终保持在高效运转状态,得益于先进的电子技术,将频率和功率调节到最高性能,工作尖自动调整到最佳状态,轻松应对不同质地的骨组织。实现舒适治疗,同时减轻医生操作疲劳。法国艾龙集团外科手术工作尖以经久耐用而闻名,工作尖采用医疗级外科不锈钢,表面经特殊处理,可以耐受高温高压灭菌。Piezotome® Solo提供外科手术基本套装,精选最常用的6支外科手术工作尖。可以实现基本的外科治疗如:骨切开术,骨整形术,骨皮质切开Piezocision™;拔牙术;上颌窦提升术等。所有ACTEON®外科手术工作尖都与Piezotome® Solo手柄相互兼容,包括了所有临床解决方案工作尖套装:二代骨外科套装、Piezocision™骨皮质切开套装、二代上颌窦提升套装、二代Intralift™上颌窦内提升套装、二代拔牙套装、牙槽嵴劈开套装、二代冠延长套装。

法国艾龙公司Piezotome Solo超声骨刀,以其强大的功率、可靠的性能、精巧简约的设计,为您的外科手术保驾护航!更多产品信息请联络艾龙集团公司北京办事处:010-64657012,访问www.acteongroup.com; www.cn.acteongroup.com。