

文献综述

DOI: 10.13406/j.cnki.cyx.001844

基于内源性干细胞归巢的牙髓再生模式研究进展

陈 巧¹, 窦 磊²

(1. 重庆市妇幼保健院口腔科, 重庆 401147; 2. 重庆医科大学附属口腔医院牙体牙髓科, 重庆 401147)

【摘 要】目前对于牙髓不可逆炎症和坏死患牙的标准治疗方法是根管治疗, 但根管治疗不能恢复牙髓牙本质复合体的生理功能, 不能形成修复性牙本质抵御外界侵袭。相比传统的根管治疗术, 诱导根管内牙髓再生能达到更好的预后, 也是今后的研究方向。研究表明利用组织工程原理将干细胞, 合适的支架材料及信号因子植入到根管内可以形成牙髓样结构和管状牙本质。相比外源性干细胞移植的技术敏感性及其潜在的安全性问题, 基于内源性干细胞归巢实现牙髓再生的模式更加符合临床要求。现将基于内源性干细胞归巢实现牙髓再生模式的各个重要环节的研究进展综述如下。

【关键词】牙髓再生; 细胞归巢; 干细胞; 支架材料; 信号因子

【中图分类号】R781.9

【文献标志码】A

【收稿日期】2018-05-17

Research progress in dental pulp regeneration strategy based on endogenous stem cell homing

Chen Qiao¹, Dou Lei²

(1. Department of Orthodontics, Chongqing Healthy Center for Women and Children;

2. Department of Endodontics, Chongqing Medical University Affiliated Stomatological Hospital)

【Abstract】By now, the standard treatment method for teeth with irreversible dental pulp inflammation and necrosis is root canal therapy. However, it cannot restore the physiological function of dental pulp dentin complex and form the reparative dentin to resist external invasion. Compared with traditional root canal surgery, inducing dental pulp regeneration in the root canal has a better prognosis and is the future research direction. It has been showed that dental pulp structure and tubular dentin can be formed by implanting stem cells, suitable scaffold materials, and signal factors into the root canal based on tissue engineering principle. Compared with the exogenous stem cell transplantation with technical sensitivity and potential safety problems, the dental pulp regeneration strategy based on endogenous cell homing can meet the clinical requirements. Current status and research progress in dental pulp regeneration strategy based on endogenous stem cell homing are summarized as follows.

【Key words】dental pulp regeneration; cell homing; stem cell; scaffold material; signal factor

罹患不可逆牙髓炎及根尖周炎的患牙牙髓将不可逆坏死, 即使经过完善的根管治疗, 也不能恢复正常牙髓组织, 无法实现牙髓牙本质复合体的正常生理功能。相比传统的根管治疗术, 利用组织工程技术实现牙髓再生是今后治疗牙髓根尖周炎的发展方向。研究表明将干细胞、合适的支架材料及生长因子植入到根管内可以形成牙髓样结构和管状牙本

质^①。目前诱导实现牙髓组织再生的模式主要有 2 种, 即基于内源性干细胞归巢模式和外源性干细胞移植的模式。内源性干细胞归巢指内源性前体/干细胞在多种因素的作用下能定向趋向性迁移至靶向组织并定植存活并发挥功能的过程。就牙髓再生而言, 旨在通过在根管内及根尖周区域构建有利环境促进内源性细胞迁移分化从而实现根管内牙髓组织的再生修复。相比外源性干细胞移植的技术敏感性及其潜在的安全性问题, 基于内源性干细胞归巢实现牙髓再生的模式更加符合临床要求。本文将运用组织工程技术原则, 从基于内源性干细胞归巢实现牙髓再生的角度出发, 对干细胞来源、信号因子、支架材料选择以及根管内血管重建和神经再生几个方面对目前研究进行综述。

作者简介:陈 巧, Email: cqchujinhao@163.com,

研究方向: 口腔内科。

基金项目:国家自然科学基金青年科学基金资助项目 (编号: 817009581006518)。

优先出版: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20181012.1319.002.html>
(2018-10-14)

1 细胞来源

1.1 牙髓干细胞

牙髓干细胞(dental pulp stem cells, DPSC)是从牙髓间充质中分离出的一种前体/干细胞,具有与骨髓间充质细胞相似的功能,具有自我更新能力,多向分化能力,在体外能被诱导成骨、成软骨、成脂、成神经等,在体内也可以修复再生牙髓牙本质复合体^[2]。目前认为牙髓不可逆坏死的患牙根尖区域仍有可能残存有少量生活的 DPSC。研究发现牙髓中的间充质干细胞细胞增殖和克隆形成能力明显高于骨髓间充质细胞^[3]。Suzuki 等^[4]采用趋化因子能招募牙髓干细胞进入胶原凝胶内,体内实验证明可使空的根管内再细胞化和血管化,并推断自体牙髓干细胞是牙髓再生修复的重要细胞来源。近有学者率先将人 DPSC 用在临床治疗中,发现植入 DPSC 能促进部分牙髓切除术后的牙髓再生修复,并形成修复性牙本质^[5],其结果充分证明 DPSC 在牙髓再生中的重要价值。

1.2 根尖乳头干细胞

根尖乳头干细胞(stem cell from apical papilla, SCAP)存在于未发育完全的恒牙根尖周组织中,是一种具有自我更新能力、高度增生和多向分化潜能的成体间充质干细胞。SCAP 被认为是在牙髓再生中根尖周组织中的 SCAP 最有可能迁移进入根管内,分化形成新生牙髓。体内及体外研究已证实,在一定的条件下根尖乳头干细胞能够表达成血管化的基因,促进局部血管新生^[6-7]。而血管新生、成牙本质分化以及成牙本质细胞层形成都是实现牙髓牙本质复合体再生重建的重要过程,肯定了 SCAP 在牙髓再生中应用价值。SCAP 的 niche 位于牙根根尖周区域,在刺激根管内出血后理论上能够随出血进入到根管内,从理论上讲 SCAP 是基于内源性细胞归巢模式的牙髓再生治疗中的最主要干细胞来源之一。

1.3 牙周膜干细胞

牙周膜干细胞(periodontal ligament stem cells, PDLSC)是存在于牙周膜中的未分化的间充质细胞,具有自我更新和多向分化等特点。在不同的生长微环境和诱导条件下, PDLSC 可以被诱导向脂肪细胞、成骨细胞以及成牙骨质细胞、软骨细胞和神经样细胞分化,还可形成牙周膜、牙骨质和牙槽骨等^[8]。综合看来,牙周膜干细胞具有形成骨、牙骨质、牙周膜样结构以及促进牙周组织再生的潜能。目前 PDLSC 在牙髓-牙本质复合体再生中的应用研究未见报道,然而考虑到牙髓牙周的解剖关系,理论上 PDLSC 仍然有可能从根尖孔、副根管和根管侧枝进入根管内形成新生组织。

1.4 牙囊干细胞

当患牙为年轻恒牙时,理论上自身的牙囊干细胞(dental follicle stem cells, DFSC)有可能作为内源性干细胞被诱导参与到牙髓组织的修复之中。研究发现,从未发育完毕的第三磨牙牙囊分离得到的干细胞,具有成纤维细胞样的形态,发现

其表达 I 型胶原蛋白、骨钙蛋白和骨唾液糖蛋白,并具有向牙周膜细胞、成牙骨质细胞和成骨细胞分化的潜能^[9]。DFSC 在牙髓再生中的研究较少,更多的是应用于牙周组织缺损修复的研究。为数不多的研究表明 DFSC 能够在动物模型中实现类牙髓组织的再生修复^[10]。目前暂无直接研究证据证明内源性 DFSC 能够进入到根管内参与牙髓再生修复。

1.5 其他可能的细胞来源

在一定情况下,外周血来源的内皮前体细胞和根尖周组织中的内皮细胞随根尖出血也可能进入根管参与到牙髓血管的新生中。

2 信号因子

2.1 单一信号因子

基于内源性干细胞迁移的牙髓再生模式中,信号因子主要功能包括:促进根管内血管新生;诱导内源性细胞迁移至根管内;诱导成牙分化/矿化^[11]。

促进干细胞成牙分化的信号因子主要包括骨形成蛋白(bone morphogenetic proteins, BMPs)、转化生长因子- β (transforming growth factor β , TGF- β)、牙本质基质蛋白 1(dentin matrix protein 1, DMP-1)、碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)、血小板衍生因子(platelet derived growth factor, PDGF)等。BMPs 是在牙的发生和形成的过程中发挥重要调节功能的一大家族,有学者发现 BMP-2 能诱导间充质干细胞成牙本质分化,诱导部分切断术后的牙髓组织形成大量的修复性牙本质^[12-13]。BMP-7 有较强的促进 DPSC 向成牙本质细胞/成骨细胞分化的能力^[14]。BMP-9 能够有效促进根尖牙乳头干细胞成牙/成骨分化^[15],且目前认为其诱导成骨能力是 BMPs 家族中最强的。TGF- β 家族包括 TGF- β 1、TGF- β 2、TGF- β 3 三个主要亚型,有着相似的生物学效应。有学者证明 TGF- β 1 能增强牙髓细胞向成牙本质细胞分化的潜能,调节根尖牙乳头干细胞的生长和分化^[16-17]。DMP-1 是一种胞外基质蛋白,是间充质干细胞分化成成牙本质细胞的一种标志性蛋白。bFGF、PDGF 也在组织修复中起到重要作用,其能促进成纤维细胞增殖,参与受损组织的修复^[18]。

诱导周围的自体细胞进入到根管内参与牙髓再生过程是关键环节。SDF-1(stromal-derived factor-1)是 CXC 家族的一个亚类,能与其配体 CXCR4 结合,通过化学趋化作用促进周围的前体/干细胞和血管内皮祖细胞的迁移和增殖,促进血管生成和组织修复^[19]。有学者^[4]发现 SDF-1 α 和 bFGF 能够定向诱导牙髓干细胞迁移,并能诱导植入鼠背的环状牙本质块内牙髓样结构形成。

2.2 血小板衍生物

在牙髓再生治疗的过程中,通过刺破根尖周组织诱发根尖区域出血,使血液进入根管内并形成血凝块。血凝块不仅作为天然的生物支架材料,血液中包含的血小板还富含和能够释放多种生长因子,包括血小板衍生生长因子、TGF- β 、单

核细胞趋化因子-1、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)以及表皮生长因子等^[20]。这些所含的生长因子与组织修复再生关系密切,具有促进细胞增殖、抗凋亡、调控细胞迁移和分化的作用。血小板衍生物或提取物已被应用在了种植手术和牙周缺损的修复中,并有不错的疗效^[21]。目前广泛使用的血小板浓缩物有富血小板血浆(platelet rich plasma, PRP)、富血小板血浆(platelet rich fibrin, PRF)、改良型富血小板纤维蛋白(advanced platelet rich fibrin, aPRF)以及浓缩生长因子(concentrated growth factors, CGF)。血小板浓缩物已被植入到根管内用于诱导牙髓再生或牙髓血运重建,如学者们将 PRF 应用于治疗牙髓坏死的年轻恒牙,治疗后的患牙根管内出现新生组织,牙髓活力部分恢复^[22]。

2.3 细胞分泌物

干细胞的条件培养液(conditioned medium)或是胞外囊泡(微囊、外泌体等)也具有潜在价值。细胞通过其旁分泌机制向胞外分泌了多种具有生物活性的成分,以微囊、外泌体以及可溶性蛋白等形式分泌到胞外,是细胞之间以及细胞与微环境之间相互作用的媒介。目前已有大量研究证实干细胞的分泌液(条件培养液)能够促进缺血受损组织的修复。研究证实脂肪间充质干细胞条件培养液能有效改善心肌细胞损伤,并有助于恢复急性心肌梗死大鼠模型的心肌功能^[23]。Sugimura-Wakayama 等^[24]成功地利用脱落乳牙牙髓干细胞分泌液促进了大鼠外周神经的再生。而在牙髓再生领域干细胞分泌物的应用报道较少,大多数牙髓再生的体内研究还是基于外源性细胞植入的模式,但现有的研究证据表明干细胞分泌物有应用于牙髓再生的潜能。且牙髓腔系一缺氧缺血环境,外源性细胞植入后其存活情况有待验证,而相比细胞直接植入,细胞分泌物植入可以解决这个问题,因此猜想细胞分泌物具有良好的应用前景,能在基于内源性干细胞归巢模式中扮演着重要作用。

3 支架材料的选择

目前在组织工程中常用到的支架材料主要可分为 3 类:人工合成材料、天然生物材料和复合材料。

可用于牙髓再生的人工聚合物支架材料主要有 PLA (polylactic acid)、PGA (poly glycolic acid)、PLGA (poly lactic-co-glycolic acid) 和 PCL [Poly(ϵ -caprolactone)] 等。这些人工高分子材料,如 PCL 在体内可降解吸收,分解成水和二氧化碳,对机体无有害代谢物产生。有学者^[25]将乳牙牙髓干细胞接种到 PLA 合成支架上,连同环形牙本质块植入到免疫抑制的小鼠体内,结果可以观察到带新生血管结构的牙髓样组织,成牙本质细胞样细胞和牙本质的形成。Huang 等^[7]在 PLGA 支架中接种 SCAP 和 DPSC,置入环状牙本质块中,然后植入到免疫缺陷小鼠背部,数周后观察到环状牙本质块腔内形成了类似牙髓样的组织,组织中有明显的血管形成。

天然生物支架材料种类很多,有重组的胶原蛋白、明胶、

琼脂糖、纤维蛋白、丝素蛋白、透明质酸等。胶原蛋白是十分常用的天然生物材料,有研究将整合有 bFGF 的胶原蛋白支架置于环状牙本质块中,然后一同植入裸鼠体内,植入数周后观察发现有牙髓样组织的形成^[4]。琼脂糖是来源于藻类的多糖,其主要成分为多聚半乳糖,因其不含动物蛋白成分,不会影响在其中生长细胞的蛋白检测。尤其是经改良后的低熔点琼脂糖能够在 30 ℃左右成胶,约 60 ℃左右熔化,可通过加热使琼脂糖融化后降至合适温度后利用注射的方式进入到根管内后慢慢成胶。纤维蛋白和丝素蛋白也是动物蛋白来源的天然支架材料,具有良好的机械性能和理化性质,可以制成水凝胶,且可以给细胞提供粘附环境,调节细胞生长和分化,在一定条件下制成水凝胶体,作为细胞和信号因子的有效载体。有研究采用数种不同种类的纤维蛋白植入到环状牙本质块中,一同植入到鼠皮下,通过内源性细胞迁移根管内新生牙髓样组织形成^[26]。由自体外周血制备的 PRP、PRF 以及 CGF 等也是性能很好的天然生物支架,如前所述血小板浓缩物自身包含多种生长因子,可以在术前采血,制备后植入到患牙根管内。目前已有数个自体血衍生物应用于年轻恒牙牙髓血运重建的报道^[27-28]。

单一材料的支架材料存在各自的优缺点,因此学者们尝试通过复合各种材料来优化这些支架材料的性能。如 Young 等^[29]制备表面包被胶原的 PGA/PLGA,将该材料植入体内,能形成类似牙髓-牙本质复合体和类牙釉质样结构。又如 Li 等^[30]将利用 3D 打印技术制作出 PRF-PCL 支架,能够有效诱导牙髓干细胞成骨分化,植入体内可以促进骨组织的形成。此外, nHA-PCL 和 PCL-TCP 复合支架也是硬组织工程中常见的支架材料类型,具有较好的机械性能,且能诱导矿化^[31-32]。同时支架制作工艺的提升也可以优化支架材料的性能,如 3D 打印技术、电纺丝、表面电镀、控制降温等。

总之,应用于牙髓组织工程的支架材料必须有良好的生物相容性和生物可降解性。支架材料不但需要支持细胞生长、增殖分化,材料自身能紧密贴附髓腔壁,同时能够逐步降解并被自体新生组织所代替。牙髓腔的解剖变异极大,形态不规则,要求所选择的支架材料应具备良好的流动性能和便利的操作性能。因此,可注射式水凝胶材料会是牙髓组织工程支架材料的最有可能的发展方向。

4 根管内血管和神经新生

牙髓再生不仅是要让牙髓腔内充满新生的组织,而且要恢复其原有的正常生理功能。局部血管的新生并与周围环境血管网络整合是牙髓组织再生能否实现的重要环节。在牙髓再生早期根管内缺乏血管,且牙齿的根管系统为一封闭环境,当周围的干细胞进入根管初期必然处于缺氧状态,不利于其生理功能和正常分化。因此,在牙髓早期促进新生血管形成,为牙髓组织再生提供充足的血供是牙髓再生的关键前提^[33]。

多种促血管新生因子相互协同,共同发挥着促进血管新

生的作用^[34]。VEGF 及其受体 VEGFR、血管生长素 1(Ang-1) 及其受体 Tie-1 与 Tie-2、bFGF 及其受体 FGR2、胎盘生长因子(placenta growth factor, PIGF)、肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)、血管生成素(angiotensin)、PDGF 与环氧化酶-2 是目前认可的重要促血管新生因子。低氧诱导因子 1(hypoxia-inducible factor 1, HIF-1)在血管新生中诱导了 VEGF 在低氧环境下的表达,对血管生成也是必需的。在以上多种因子中 VEGF 起到关键作用^[35],其通过和血管内皮细胞上的 VEGF 受体结合,调节内皮细胞的功能,促进血管内皮细胞增殖活化并生成血管。研究表明将牙源性干细胞和血管内皮细胞在体外共培养可以促进细胞表达成血管化的基因,且能通过分泌 VEGF 等多种促血管生长因子,通过旁分泌作用于血管内皮细胞,促进其分化,形成血管样结构^[36-37]。低氧环境下间充质干细胞也会增强其成血管相关基因的表达,分泌多种促血管新生因子,以适应低氧环境^[38]。这些细胞分泌的活性因子有潜在的应用价值,比如收集低氧预处理后的牙髓干细胞条件培养基,浓缩后通过一定的方式置入根管内可能有助于根管内新生血管的形成。

牙髓组织的神经功能恢复也十分重要。研究发现多种牙源性干细胞具备向神经细胞分化的潜能,能在合适的诱导条件下分化成神经细胞,经诱导后表达神经细胞特异性蛋白^[39-40]。在基于内源性干细胞归巢的牙髓再生模式中,最有可能进入根管内参与牙髓组织重建的是牙源性干细胞,如根管尖端残留的牙髓干细胞和根尖乳头干细胞。这些细胞都具有被诱导分化成神经样细胞的潜能。同时需要考虑的是添加诱导成神经分化或促进神经滋生的诱导因素。促进神经生长的信号因子主要是神经生长因子(nerve growth factor, NGF)^[41],其具有调节周围神经元的发育、分化、生长和再生的作用。NGF 是一种对中枢及周围神经元的发育、分化、生长、再生和功能特性的表达均具有重要的调控作用,能促进感觉神经末梢的长出和发芽^[42],还有研究发现 NGF 能促进 SCAP 向成牙本质细胞方向分化^[43]。研究发现牙髓干细胞在体外生长条件下也能分泌神经生长因子、脑衍生神经营养因子和神经胶质细胞系来源的神经营养因子,促进未成熟的多巴胺能神经元生存和成熟^[44-45]。这一发现表明牙髓干细胞分泌液也有应用促进牙髓神经功能重建的能力。虽然生长因子和药物具有促进神经生长再生的能力,但其是否在牙髓组织神经功能再生重建中有效,却无有力的研究证据支持。

要获得真正意义上的牙髓组织再生难度很大,目前考虑可能的方式是在支架材料中复合诱导神经分化和血管新生的信号因子,或者局部根管内或根尖区域注射神经营养和促血管的药物,但是具体实施起来还要解决很多问题,也需要一系列研究去验证。

综上所述,相比用人工惰性材料充填封闭根管系统的根管治疗术,通过诱导牙髓再生从而恢复牙髓牙本质复合体生理性功能是今后牙髓根尖周疾病治疗的发展趋势。本文已从牙髓再生的几大关键要素中分析了基于内源性干细胞实现

牙髓再生模式的可行性,目前这一模式仍面对很多困难,还需要不断去钻研和攻克难题。

参 考 文 献

- [1] Cao Y, Song M, Kim E, et al. Pulp-dentin regeneration: current state and future prospects[J]. J Dent Res, 2015, 94(11): 1544-1551.
- [2] Ferro F, Spelat R, Bahney CS. Dental pulp stem cell(DPSC) isolation, characterization, and differentiation[J]. Methods in Molecular Biology, 2014, 1210: 91-115.
- [3] Karaöz E, Demircan PC, Sağlam O, et al. Human dental pulp stem cells demonstrate better neural and epithelial stem cell properties than bone marrow-derived mesenchymal stem cells[J]. Histochemistry and Cell Biology, 2011, 136(4): 455-473.
- [4] Suzuki T, Lee CH, Chen M, et al. Induced migration of dental pulp stem cells for in vivo pulp regeneration[J]. J Dent Res, 2011, 90(8): 1013-1018.
- [5] Nakashima M, Iohara K, Murakami M, et al. Pulp regeneration by transplantation of dental pulp stem cells in pulpitis: a pilot clinical study[J]. Stem Cell Research & Therapy, 2017, 8(1): 61.
- [6] Torres-Estay V, Carreño DV, San Francisco IF, et al. Androgen receptor in human endothelial cells[J]. J Endocrinol, 2015, 224(3): R131-137.
- [7] Huang GT, Yamaza T, Shea LD, et al. Stem/progenitor cell-mediated 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.
- [8] Chalisserry EP, Nam SY, Park SH, et al. Therapeutic potential of dental stem cells[J]. J Tissue Eng, 2017, 8: 2041731417702531.
- [9] Morsczech 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.
- [10] Hilken P, Meschi N, Lambrechts P, et al. Dental stem cells in pulp regeneration: near future or long road ahead[J]. Stem Cells Dev, 2015, 24(14): 1610-1622.
- [11] Eramo S, Natali A, Pinna R, et al. Dental pulp regeneration via cell homing[J]. Int Endod J, 2018, 51(4): 405-419.
- [12] 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.
- [13] Tash PN, Aydın S, Yalvaç ME, et al. Bmp 2 and bmp 7 induce odonto- and osteogenesis of human tooth germ stem cells[J]. Appl Biochem Biotechnol, 2014, 172(6): 3016-3025.
- [14] Suzuki T, Lee CH, Chen M, et al. Induced migration of dental pulp stem cells for in vivo pulp regeneration[J]. J Dent Res, 2011, 90(8): 1013-1018.
- [15] Wang J, Zhang H, Zhang W, et al. Bone morphogenetic protein-9 effectively induces osteo/odontoblastic differentiation of the reversibly immortalized stem cells of dental apical papilla[J]. Stem Cells Dev, 2014, 23(12): 1405-1416.

- [16] Nie X, Jin Y, Long J, et al. Construction of tissue culture model in vitro and investigation of transforming growth factor promoting pulp fibroblast to differentiate into the odontoblast[J]. Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban, 2008, 39(2): 283–285.
- [17] Chang HH, Chang MC, Wu IH, et al. Role of ALK5/Smad2/3 and MEK1/ERK signaling in transforming growth factor beta 1–modulated growth, collagen turnover, and differentiation of stem cells from apical papilla of human tooth[J]. J Endod, 2015, 41(8): 1272–1280.
- [18] Gallego–Muñoz P, Ibares–Frías L, Valsero–Blanco MC, et al. Effects of TGFβ1, PDGF–BB, and bFGF, on human corneal fibroblasts proliferation and differentiation during stromal repair[J]. Cytokine, 2017, 96: 94–101.
- [19] Du P, Suhaeri M, Ha SS, et al. Human lung fibroblast–derived matrix facilitates vascular morphogenesis in 3D environment and enhances skin wound healing[J]. Acta Biomater, 2017, 54: 333–344.
- [20] Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt RM, et al. Platelet–rich plasma: growth factor enhancement for bone grafts[J]. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 1998, 85(6): 638–646.
- [21] Shivashankar VY, Johns DA, Vidyanath S, et al. Combination of platelet rich fibrin, hydroxyapatite and PRF membrane in the management of large inflammatory periapical lesion[J]. J Conserv Dent, 2013, 16(3): 261–264.
- [22] Bakhtiar H, Esmaceli S, Fakhr TS, et al. Second–generation platelet concentrate (platelet–rich fibrin) as a scaffold in regenerative endodontics; a case series[J]. J Endod, 2017, 43(3): 401–408.
- [23] He J, Cai Y, Luo LM, et al. Hypoxic adipose mesenchymal stem cells derived conditioned medium protects myocardial infarct in rat[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2015, 19(22): 4397–4406.
- [24] Sugimura–Wakayama Y, Katagiri W, Osugi M, et al. Peripheral nerve regeneration by secretomes of stem cells from human exfoliated deciduous teeth[J]. Stem Cells Dev, 2015, 24(22): 2687–2699.
- [25] Rosa V, Zhang Z, Grande RH, et al. Dental pulp tissue engineering in full–length human root canals[J]. J Dent Res, 2013, 92(11): 970–975.
- [26] Widbiller M, Driesen RB, Eidt A, et al. Cell homing for pulp tissue engineering with endogenous dentin matrix proteins[J]. J Endod, 2018, 44(6): 956–962.
- [27] Shivashankar VY, Johns DA, Maroli RK, et al. Comparison of the effect of PRP, PRF and induced bleeding in the revascularization of teeth with necrotic pulp and open apex; a triple blind randomized clinical trial[J]. J Clin Diagn Res, 2017, 11(6): ZC34–39.
- [28] Ray HL Jr, Marcelino J, Braga R, et al. Long–term follow up of revascularization using platelet–rich fibrin[J]. Dent Traumatol, 2016, 32(1): 80–84.
- [29] Young CS, Terada S, Vacanti JP, et al. Tissue engineering of complex tooth structures on biodegradable polymer scaffolds[J]. J Dent Res, 2002, 81(10): 695–700.
- [30] Li J, Chen M, Wei X, et al. Evaluation of 3D–printed polycaprolactone scaffolds coated with freeze–dried platelet–rich plasma for bone regeneration[J]. Materials (Basel), 2017, 10(7): E831.
- [31] Hassan MI, Sultana N. Characterization, drug loading and antibacterial activity of nanohydroxyapatite/ polycaprolactone (nHA/PCL) electrospun membrane[J]. 3 Biotech, 2017, 7(4): 249.
- [32] Malikmammadov E, Tanir TE, Kiziltay A, et al. PCL–TCP wet spun scaffolds carrying antibiotic–loaded microspheres for bone tissue engineering[J]. J Biomater Sci Polym Ed, 2017, 29(7–9): 805–824.
- [33] Saghir MA, Asatourian A, Sorenson CM, et al. Role of angiogenesis in endodontics; contributions of stem cells and proangiogenic and antiangiogenic factors to dental pulp regeneration[J]. J Endod, 2015, 41(6): 797–803.
- [34] Utzinger U, Baggett B, Weiss JA, et al. Large–scale time series microscopy of neovessel growth during angiogenesis[J]. Angiogenesis, 2015, 18(3): 219–232.
- [35] Saberi–Karimian M, Katsiki N, Caraglia M, et al. Vascular endothelial growth factor; an important molecular target of curcumin[J]. Crit Rev Food Sci Nutr, 2017. DOI: 10.1080/10408398.2017.1366892.
- [36] Li X, Hou J, Wu B, et al. Effects of platelet–rich plasma and cell coculture on angiogenesis in human dental pulp stem cells and endothelial progenitor cells[J]. J Endod, 2014, 40(11): 1810–1814.
- [37] Dissanayaka WL, Hargreaves KM, Jin L, 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.
- [38] Hsiao ST, Lokmic Z, Peshavariya H, et al. Hypoxic conditioning enhances the angiogenic paracrine activity of human adipose–derived stem cells[J]. Stem Cells Dev, 2013, 22(10): 1614–1623.
- [39] Mortada I, Mortada R, Al Bazzal M. Dental pulp stem cells and neurogenesis[J]. Adv Exp Med Biol, 2017. DOI: 10.1007/5584_2017_71.
- [40] Gnanasegaran N, Govindasamy V, Abu Kasim NH. Differentiation of stem cells derived from carious teeth into dopaminergic–like cells[J]. Int Endod J, 2016, 49(10): 937–949.
- [41] Ahluwalia A, Jones MK, Hoa N, et al. NGF protects endothelial cells from indomethacin–induced injury through activation of mitochondria and upregulation of IGF–1[J]. Cell Signal, 2017, 40: 22–29.
- [42] Hitchon C, Wong K, Ma G, et al. Hypoxia–induced production of stromal cell–derived factor 1 (CXCL12) and vascular endothelial growth factor by synovial fibroblasts[J]. Arthritis Rheum, 2002, 46(10): 2587–2597.
- [43] 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.
- [44] Wang F, Jia Y, Liu J, et al. Dental pulp stem cells promote regeneration of damaged neuron cells on the cellular model of Alzheimer’s disease[J]. Cell Biol Int, 2017, 41(6): 639–650.
- [45] Chang CC, Chang KC, Tsai SJ, et al. Neurogenic differentiation of dental pulp stem cells to neuron–like cells in dopaminergic and motor neuronal inductive media[J]. J Formos Med Assoc, 2014, 113(12): 956–965.

(责任编辑:冉明会)