

## 牙龈间充质干细胞用于组织再生的作用与优势

程靖媛<sup>1,2</sup>, 刘玥<sup>1,2</sup>, 蒋少云<sup>2</sup><https://doi.org/10.12307/2023.657>

投稿日期: 2022-07-28

采用日期: 2022-09-02

修回日期: 2022-09-26

在线日期: 2022-10-12

中图分类号:

R459.9; R392.2; R78

文章编号:

2095-4344(2023)19-03077-06

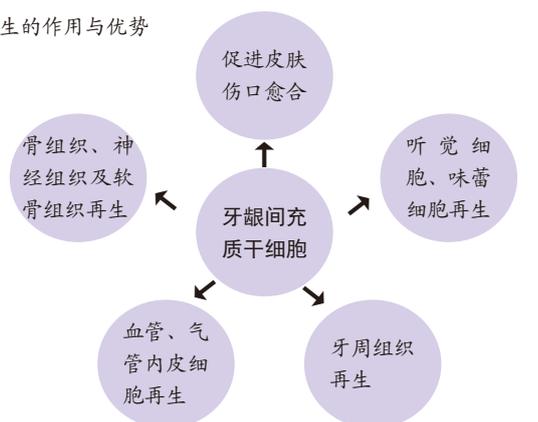
文献标识码: A

## 文章快速阅读: 牙龈间充质干细胞用于组织再生的作用与优势

## 文章特点—

△对牙龈间充质干细胞的来源、特点、培养方法及基因表型进行简要概述。

△分别介绍牙龈间充质干细胞在骨组织、神经组织、血管内皮细胞、听觉细胞、皮肤伤口愈合、软骨组织、牙周组织、气管内皮细胞及味蕾细胞等再生中的应用以及可能的机制,并讨论了其在未来临床治疗中的作用与可行性。



## 文题释义:

间充质干细胞: 是一类多功能干细胞, 具有自我更新和多向分化的能力, 在不同培养条件下可以分化为不同的细胞类型。

组织工程: 将细胞生物学和生物材料结合为一体用于组织器官再生的方法, 其应用中除了保证血液供应外, 还包括其他3个要素: 干细胞、支架材料和生长因子。

## 摘要

背景: 牙龈是牙周复合体的关键组成部分, 以其无瘢痕的创面愈合为特征。牙龈中的间充质干细胞具有多向分化潜能。近年来越来越多的研究显示牙龈间充质干细胞可用于多种组织再生。

目的: 就牙龈间充质干细胞在组织再生方面的研究进展做一综述。

方法: 检索近20年中国生物医学文献数据库(CBM)、CNKI数据库、PubMed数据库, 以“牙龈, 间充质干细胞, 干细胞, 再生, 组织, 支架材料”为中文检索词, 以“gingiva, mesenchymal stem cells, stem cell, regeneration, tissue, scaffold”为英文检索词, 根据文题和摘要进行初步筛选, 排除与文章主题不相关的文献, 最终纳入60篇文献进行综述。

结果与结论: ①牙龈间充质干细胞在体外诱导条件下, 可分化为成骨细胞、成软骨细胞、成脂细胞、内皮细胞、听觉细胞及味蕾细胞等; ②牙龈间充质干细胞与支架合用, 如藻酸盐3D支架、3D打印聚乳酸支架、3D胶原支架等, 可增强干细胞的组织再生潜能; ③加入生物活性因子如地塞米松、骨特异性生长因子、胰岛素样生长因子等, 可增强干细胞的组织再生潜能; ④然而目前构建制备的牙龈间充质干细胞递送支架载体尚不理想, 如较低的存活率及分化率, 这提示未来研究中应将重点更侧重于如何改善支架递送载体的效率, 早日实现干细胞组织再生的临床应用。

关键词: 牙龈; 间充质干细胞; 支架; 生物活性因子; 组织再生; 分化

## Effects and advantages of gingival mesenchymal stem cells in tissue regeneration

Cheng Jingyuan<sup>1,2</sup>, Liu Yue<sup>1,2</sup>, Jiang Shaoyun<sup>2</sup><sup>1</sup>School of Stomatology, Zunyi Medical University, Zunyi 563099, Guizhou Province, China; <sup>2</sup>Stomatological Center, Peking University Shenzhen Hospital & Guangdong Provincial High Level Clinical Key Specialty & Guangdong Province Engineering Research Center of Oral Disease Diagnosis and Treatment, Shenzhen 518036, Guangdong Province, China

Cheng Jingyuan, Master candidate, School of Stomatology, Zunyi Medical University, Zunyi 563099, Guizhou Province, China; Stomatological Center, Peking University Shenzhen Hospital &amp; Guangdong Provincial High Level Clinical Key Specialty &amp; Guangdong Province Engineering Research Center of Oral Disease Diagnosis and Treatment, Shenzhen 518036, Guangdong Province, China

Corresponding author: Jiang Shaoyun, DDS, PhD, Chief physician, Professor, Stomatological Center, Peking University Shenzhen Hospital &amp; Guangdong Provincial High Level Clinical Key Specialty &amp; Guangdong Province Engineering Research Center of Oral Disease Diagnosis and Treatment, Shenzhen 518036, Guangdong Province, China

<sup>1</sup>遵义医科大学口腔医学院, 贵州省遵义市 563099; <sup>2</sup>北京大学深圳医院口腔医学中心, 广东省高水平临床重点专科, 广东省口腔疾病诊疗技术工程技术研究中心, 广东省深圳市 518036

第一作者: 程靖媛, 女, 1996年生, 河北省秦皇岛市人, 汉族, 遵义医科大学在读硕士, 主要从事牙龈间充质干细胞的研究。

通讯作者: 蒋少云, 博士, 主任医师, 教授, 北京大学深圳医院口腔医学中心, 广东省高水平临床重点专科, 广东省口腔疾病诊疗技术工程技术研究中心, 广东省深圳市 518036

<https://orcid.org/0000-0002-9989-9508> (程靖媛)

基金资助: 深圳市科创委基金(JCYJ20190809093005699), 项目负责人: 蒋少云

引用本文: 程靖媛, 刘玥, 蒋少云. 牙龈间充质干细胞用于组织再生的作用与优势[J]. 中国组织工程研究, 2023, 27(19): 3077-3082.



Abstract

**BACKGROUND:** Gingiva is one of key components in periodontal complex, which is characterized by wound healing without scar. Gingival mesenchymal stem cells have multi-directional differentiation potential. In recent years, more and more studies have demonstrated that Gingival mesenchymal stem cells can be applied in the regeneration of certain tissues.

**OBJECTIVE:** To review the researches of gingival mesenchymal stem cells in tissue regeneration.

**METHODS:** Retrieval of related-articles in nearly 20 years was conducted via China Biology Medicine (CBM), CNKI, PubMed databases. The search terms included "gingiva, mesenchymal stem cells, stem cell, regeneration, tissue, scaffold". After preliminary screening through reading titles and abstracts to exclude the articles that were not related to the topic, 60 articles were finally included for further analysis.

**RESULTS AND CONCLUSION:** (1) Gingival mesenchymal stem cells can be differentiated into osteoblasts, chondroblasts, lipoblasts, endothelial cells, auditory cells and taste bud cells under certain induction conditions *in vitro*. (2) The combination of gingival mesenchymal stem cells and scaffolds such as alginate 3D scaffolds, 3D-printed polylactic acid scaffolds and 3D collagen scaffolds, can enhance the tissue regeneration potential. (3) Bioactive factors such as dexamethasone, bone-specific growth factor and insulin-like growth factor, can also enhance the regenerative potential. (4) However, the current construction and preparation of scaffold to delivery gingival mesenchymal stem cells are not ideal such as low survival rate and differentiation rate. Future research should focus on how to improve the efficiency of scaffold in order to apply gingival mesenchymal stem cells to regenerate tissue in clinic.

**Key words:** gingiva; mesenchymal stem cell; scaffold; bioactive factor; tissue regeneration; differentiation

**Funding:** Shenzhen Science and Technology Innovation Commission Fund, No. JCYJ20190809093005699 (to JSY)

**How to cite this article:** CHENG JY, LIU Y, JIANG SY. Effect and advantages of gingival mesenchymal stem cells in tissue regeneration. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2023;27(19):3077-3082.

0 引言 Introduction

间充质干细胞可来源于人体的不同组织，如骨髓、脂肪、皮肤、脐带、胎盘和牙齿等<sup>[1-2]</sup>。与其他组织来源的间充质干细胞相比，来自牙科组织的成体间充质干细胞因其独特的发育起源、相对较快的增殖速度和稳定的基因表型在再生医学领域受到越来越多的关注<sup>[3-8]</sup>。2000年GRONTHOS等<sup>[9]</sup>将牙髓间充质干细胞(dental pulp mesenchymal stem cells, DPSCs)移植到免疫功能低下的小鼠体内时，产生了一种牙本质样结构，内衬成牙本质细胞样细胞，周围环绕着牙髓样间质组织。此后，间充质干细胞陆续从各种牙齿组织中分离出来，包括人脱落乳牙干细胞(stem cells of human exfoliated deciduous teeth, SHEDs)、牙周膜干细胞(periodontal ligament stem cells, PDLSCs)、牙滤泡干细胞(dental follicular stem cells, DFSCs)、牙根尖乳头干细胞(stem cells from the apical papilla, SCAPs)、牙龈间充质干细胞(gingival mesenchymal stem cells, GMSCs)等，这些干细胞与其他来源的间充质干细胞相似，特别是骨髓和脂肪间充质干细胞，具有强大的自我更新和多向分化潜能<sup>[10]</sup>。

最初研究人员发现在人类牙龈的固有结缔组织层中含有干细胞相关基因的表达(Stro-1、Oct-4和SSEA-4)，其中一些细胞共表达Oct4/Stro-1或Oct-4/SSEA-4<sup>[11]</sup>。随后，KIM等<sup>[12]</sup>从健康牙龈组织中分离出一个独特的祖细胞群，其特征是成纤维细胞样纺锤体形态，表达细胞表面标记物(CD73、CD90、CD105、SSEA-4和STRO-1)，但CD14(或CD11b)、CD34、CD45、CD79a(或CD19)和HLA-DP等造血细胞标记物呈阴性；体外培养表现为贴壁的、单核、成纤维细胞样，具有集落形成能力及多系分化能力<sup>[13]</sup>。随后，GMSCs用于组织再生引起研究者的广泛关注。基于目前的研究，GMSCs容易获得(如组织块法和酶消化法)和连续培养，具有较高的增长率，在体外增殖时间长，细胞表型稳定，可在体外不同诱导条件下，分化成骨细胞、软骨细胞、脂肪细胞、内皮细胞、神经细胞等细胞，在组织再生中具有重要临床应用潜力。

1 资料和方法 Data and methods

1.1 资料来源

1.1.1 检索人及检索时间 第一、二作者在2022年7月进行检索。

1.1.2 检索文献时限 2001-01-01/2022-07-28。

1.1.3 检索数据库 中国生物医学文献数据库(<http://www.sinomed.ac.cn/index.jsp>)；中国知网CNKI数据库(<https://www.cnki.net/>)；PubMed数据库(<https://pubmed.ncbi.nih.gov/>)。

1.1.4 检索词 以“牙龈，间充质干细胞，干细胞，再生，组织，支架材料”为中文检索词，以“gingiva, mesenchymal stem

cells, stem cell, regeneration, tissue, scaffold”为英文检索词。

1.1.5 检索文献类型 研究原著、系统综述、荟萃分析。

1.1.6 手工检索情况 无。

1.1.7 检索策略 以PubMed数据库检索策略为例，见图1。

```
#1 gingiva [Title/Abstract]
#2 mesenchymal stem cells [Title/Abstract]
#3 stem cell [Title/Abstract]
#4 #1 AND (#2 OR #3)
#5 regeneration [Title/Abstract]
#6 tissue[Title/Abstract]
#7 scaffold[Title/Abstract]
#8 ("2001/01/01"[Date-Completion]: "2022/07/28"[Date - Completion])
#9 #4 AND #5 AND #8, #4 AND #6 AND #8, #4 AND #7 AND #8
```

图1 | PubMed数据库检索策略

1.1.8 检索文献量 初检得到406篇文献，其中英文文献169篇，中文文献237篇。

1.2 入选标准

**纳入标准：**①所有有关牙龈间充质干细胞用于组织再生的相关文章；②同一领域中论点、论据可靠的文献。

**排除标准：**①重复性研究且与研究目的无相关性的文章；②资料无法提取的部分文献。

1.3 数据的提取及文献证据综合提炼 研究内容由2人独立提取并通过讨论解决分歧。信息记录侧重于牙龈间充质干细胞组织再生方面的相关文献。计算机初检得到406篇文献，通过阅读文题和摘要进行初步筛选，排除与文章主题不相关的文献，根据纳入标准和排除标准，最后纳入60篇文献进行综述，见图2。

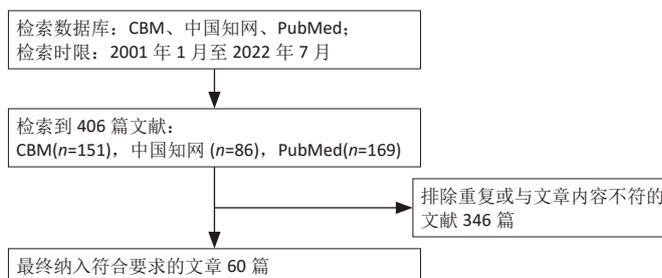


图2 | 文献筛选流程图

2 结果 Results

2.1 GMSCs与骨组织再生 目前研究显示GMSCs可以单独使用，也可以与支架或载体结合使用，支架或载体是具有适当力学性能的3D多孔基质，能够促进干细胞附着、增殖、迁移和分化<sup>[14]</sup>。此外，支架还可以为细胞提供机械支撑，保护细胞免受体内有

害环境的影响,同时填补缺陷空间、传递生物活性因子,从而引导所需的组织形成<sup>[15]</sup>。GMSCs常用的支架材料包括天然聚合物、合成聚合物和复合材料<sup>[16]</sup>,见图3。

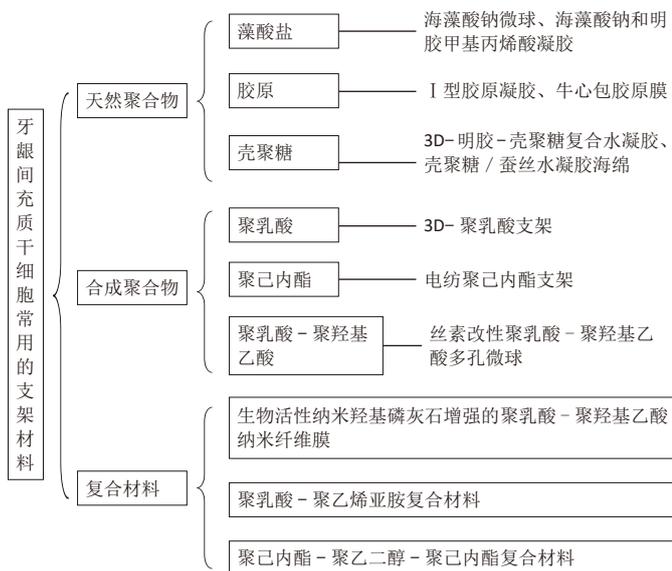


图3 | 牙龈间充质干细胞常用的支架材料

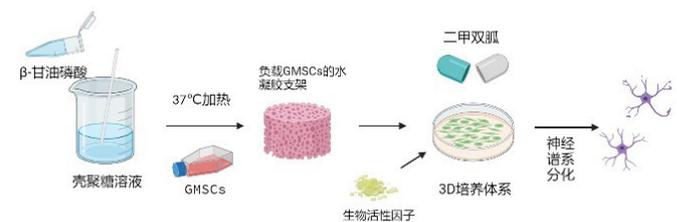
藻酸盐作为一种天然高分子材料,是从褐色海藻中提取的天然多糖,具有独特的性能,包括温和的凝胶能力、生物黏附能力和生物相容性<sup>[17]</sup>。可注射、可降解的海藻酸钠微球递送载体直径较小,是分子运输的理想选择,它可以促进营养物质和氧气向内扩散,提高GMSCs的存活率,同时藻酸盐3D支架的包封不会影响干细胞的特性,在成骨诱导培养基中GMSCs可定向分化为成骨细胞<sup>[18]</sup>。AL-QADHI等<sup>[19]</sup>利用兔胫骨缺损模型的研究表明,GMSCs或骨髓间充质干细胞与纳米骨支架材料联合使用与未加载支架相比,明显增强了新骨的形成,GMSCs和骨髓间充质干细胞表现出相似程度的骨再生潜能,提示GMSCs可能是一种可与骨髓间充质干细胞相媲美的骨再生细胞来源。另外,BioRipar(BioR)牛心包胶原膜作为一种新型三维胶原支架,同时,抗坏血酸是一种重要的抗氧化分子,可参与细胞外基质的分泌和成骨诱导,PIZZICANNELLA等<sup>[20]</sup>将两者联合使用作为GMSCs的递送载体,证明I型胶原 $\alpha 1$ 链蛋白编码基因、成骨特异性转录因子抗体2、骨形态形成蛋白2/4和骨桥蛋白的表达均上调,以及二者联合应用能够增强GMSCs的成骨分化能力。细胞外囊泡含有大量miRNA、mRNA和蛋白质。最近发现,间充质干细胞衍生的细胞外囊泡可在再生医学中作为间充质干细胞的替代疗法<sup>[21]</sup>。除与上述支架材料合用外,DIOMEDE等<sup>[22]</sup>将3D打印的聚乳酸支架与GMSCs细胞外囊泡植入遭受颅盖皮质骨损伤的大鼠体内,通过计算机断层扫描评估,颅骨损伤处出现骨组织修复。

为了更好地指导和促进成骨分化,各种支架或载体的设计方案不断被改进,如改变支架的结构(孔隙大小、刚度和形状);改变材料的降解速度;改变和调整羟基磷灰石与磷酸三钙的比例;向聚乳酸支架中引入生物活性因子如地塞米松或维生素C、骨特异性生长因子,或在聚乳酸支架中添加磷酸二氢钙和水合硅酸钙等矿物质填充物来进行生化刺激,从而促使GMSCs更好地实现骨再生<sup>[23]</sup>。乳酸银以剂量依赖性的方式对种植体表面的伴放线放线杆菌表现出抗菌活性,DINIZ等<sup>[24]</sup>将GMSCs封装在含有0.50 mg/mL乳酸银的精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸三肽偶联海藻酸盐水凝胶微球上,实验表明其不仅能够抑制伴放线聚集杆菌的生长,显著降低悬浮液中的细菌负荷,还能增强GMSCs

的成骨特性,为未来治疗种植体周围炎和骨组织工程技术提供了新的方法。刘焱杉等<sup>[25]</sup>利用复乳-溶剂挥发法合成聚乳酸-聚羟基乙酸(poly lactic acid-poly glycolic acid, PLGA)多孔微球,并对其表面进行丝素蛋白改性,负载在丝素改性的PLGA多孔微球上的GMSCs可实现初期黏附、增殖,且有明显的钙结节沉积,为进一步修复牙槽骨缺损提供了科学依据。

GMSCs除与支架载体合用外,也可以单独使用。KANDALAM等<sup>[26]</sup>在无胸腺裸鼠中通过手术构建一个7 mm×1 mm×1 mm的上颌牙槽骨缺损,在骨缺损中填充骨形态形成蛋白及预分化的GMSCs,在术后4周和8周使用苏木精-伊红染色,通过微计算机断层扫描和组织学评估新骨形成,结果表明在骨缺损移植细胞组术后4周或8周时,骨再生显著增强。总之,GMSCs在体外诱导培养条件下可分化为成骨细胞,为骨组织再生工程提供理想选择。

2.2 GMSCs与神经再生 成年哺乳动物中枢及周围神经系统缺乏再生能力,无法替换受损的神经元细胞(包括神经元和神经胶质细胞)并重建树突状连接,原因可能是神经元祖细胞的再生功能有限,其次局部微环境尤其是胶质瘢痕,抑制神经再生。移植GMSCs疗法主要通过提供神经祖细胞并改善神经系统受损部位的局部微环境来促进神经再生。GMSCs起源于神经嵴干细胞,有研究表明GMSCs可在体外分化为神经谱系<sup>[27]</sup>,如GMSCs可被诱导为神经祖细胞,并表达神经祖细胞表面标志物,如巢蛋白、神经生长因子受体(p75/NGFR)、Pax6和 $\beta$ -微管蛋白<sup>[28]</sup>,见图4。



图注: GMSCs 为牙龈间充质干细胞

图4 | GMSCs 被诱导为神经祖细胞并表达神经祖细胞表面标志物

研究表明,在不同的实验条件下,GMSCs及其衍生的细胞外囊泡产物具有外周神经再生潜能,其机制可能是细胞外囊泡中存在参与神经元发育的胶质细胞源性神经营养因子家族配体和神经营养因子<sup>[29]</sup>。ZHANG等<sup>[30]</sup>的研究发现,在特定培养条件下人类GMSCs可以重编程为神经间充质干细胞,无需向细胞中引入特定的转录因子,其中RhoA/ROCK介导的肌球蛋白细胞骨架的非肌肉肌球蛋白II依赖性收缩和YAP1激活在该过程中起着关键作用。GMSCs具有聚集成紧凑3D球体的倾向,这些球体可以产生自己的基质。当在2D或3D胶原支架下培养时,GMSCs球体比贴壁细胞更能分化成神经元和施万细胞样细胞;另外,在小鼠坐骨神经挤压损伤模型中发现移植到损伤部位的人GMSCs可以分化为神经元细胞,其机制可能是通过髓鞘调节剂c-Jun和Krox-20/EGR2来促进施万细胞的髓鞘再生<sup>[30]</sup>。外泌体作为细胞旁分泌的重要物质与其母体细胞生物学功能相似,还能有效规避母体细胞应用时的缺点和限制,是一种安全的干细胞替代物<sup>[31]</sup>。RAO等<sup>[32]</sup>利用大鼠坐骨神经节段缺损模型,发现几丁质导管负载GMSCs及其外泌体显著增加了神经纤维的数量和直径以及髓鞘的厚度。而且,源自GMSCs衍生的细胞外囊泡可明显促进受损小鼠坐骨神经的轴突再生和功能恢复,c-JUN在外周神经损伤和再生过程中可以促使施万细胞修复表型<sup>[33]</sup>。

GMSCs不仅在周围神经损伤中具有强大的再生潜能,而

且被证明可促进脊髓损伤的修复。经富含辣木素脂质体预处理的 GMSCs 静脉注射到脊髓损伤小鼠中, 可以通过抑制局部炎症反应和抑制凋亡通路, 促进脊髓损伤的修复, 其机制可能是经辣木素处理的 GMSCs 具有抗炎和抗凋亡活性, 通过降低 Bax、caspase 3 和 caspase 9 的表达来影响凋亡途径, 并下调环氧化酶 2、胶质纤维酸性蛋白和炎性细胞因子, 如白细胞介素 1 $\beta$  和白细胞介素 6 的水平, 来恢复脊髓正常形态<sup>[34]</sup>。SUBBARAYAN 等<sup>[35]</sup>建立了一个大鼠半切面脊髓损伤模型, 并将咖啡酸生物偶联水凝胶包裹的人 GMSCs 移植到受损部位, 结果显示 GMSCs 可明显减轻脊髓局部炎症反应, 并能促进脊髓组织神经细胞的移植和再生, 同时促进新的突触囊泡形成和功能改善。这些发现提示了 GMSCs 在脊髓损伤再生治疗中的潜在应用。

GMSCs 和支架的联合方法已被作为神经退行性疾病的潜在治疗工具。从健康供体中分离出的 GMSCs 与聚乳酸支架联合应用, 发现参与神经传导的营养因子信号和 PI3K/Akt 通路的基因被上调; 相反, 神经生长基因的促凋亡和负调节因子被下调; 此外, SC-GMSCs 中的巢蛋白和生长相关蛋白 43 蛋白水平增加, 证实了聚乳酸支架可促进 GMSCs 向神经元表型分化和存活<sup>[36]</sup>。另外, ANSARI 等<sup>[37]</sup>将 GMSCs 封装在具有适当弹性的海藻酸盐/透明质酸水凝胶支架中, 结果证实 GMSCs 与海藻酸盐/透明质酸的 3D 可注射细胞传递支架的联合使用可促进神经组织的再生。

**2.3 GMSCs 与血管内皮再生** 衰老或损伤的内皮细胞会损害血管内皮的完整性, 导致血管老化、内狭窄等一系列疾病, 如动脉粥样硬化、糖尿病等, 预防或减轻内皮细胞损伤, 加速血管内皮完整性的恢复成为预防这些疾病的关键。

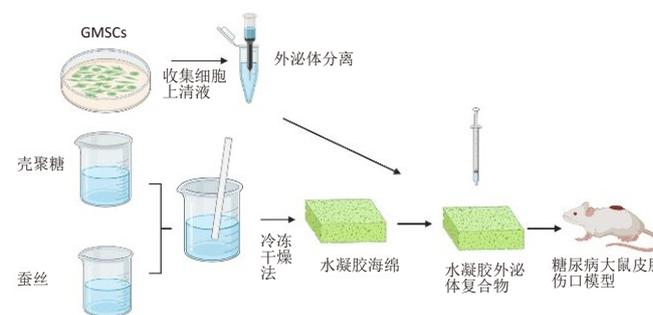
已有研究表明 GMSCs 可减轻血管内皮细胞衰老及损伤, 并刺激血管生成。YANG 等<sup>[38]</sup>发现 GMSCs 在与成熟的血管内皮细胞共培养时具有向内皮细胞系分化的能力, 且均处于向内皮细胞系分化的早期阶段; 此外, 抗血管内皮生长因子抗体能够抑制 GMSCs 向内皮细胞的分化, 表明抗血管内皮生长因子在 GMSCs 向内皮细胞的分化中发挥重要作用。JIN 等<sup>[39]</sup>利用慢病毒转染技术构建碱性成纤维细胞生长因子 2 基因修饰 GMSCs 模型, 与内皮细胞共培养 3 d 后, 反转录-聚合酶链反应及蛋白质印迹实验的结果表明, 碱性成纤维细胞生长因子 2 基因的过表达促进 GMSCs 旁分泌血管生成相关的生长因子, 从而获得一种优化的、促进血管生成的条件培养基。

GMSCs 向内皮细胞分化、防止血管狭窄和动脉粥样硬化的机制尚需进一步深入研究, 以实现这类疾病的细胞移植治疗。

**2.4 GMSCs 与听觉细胞再生** 哺乳动物的感觉神经性听力损失是由于内耳感觉上皮细胞的不可逆损伤而发生的, 并且治疗选择非常有限。听觉祖细胞的再生有望成为治疗感觉神经性听力损失的方法, 因此, 寻找合适且易于获取的干细胞来源以恢复听力具有极大的挑战。PARK 等<sup>[40]</sup>证明了 GMSCs 衍生的细胞外囊泡对顺铂诱导的耳毒性听力损失具有保护作用, 并且提高外泌体表面标志物 CD63 和热激蛋白 70 的蛋白水平可降低顺铂对听觉毛细胞的药物毒性, 继而修复耳蜗损伤。POURAGHAEI 等<sup>[41]</sup>证明将 GMSCs 与生物活性因子, 如碱性成纤维细胞生长因子、胰岛素样生长因子和表皮生长因子连用, 与适当的支架材料, 如优化的 3D 支架, 基于肽修饰的藻酸盐和基质胶的混合水凝胶支架组合使用可用于恢复听力, 促进听力祖细胞的再生。

**2.5 GMSCs 与加速皮肤伤口愈合和软组织再生** 一项临床研究证明了间充质干细胞及其产物, 如条件培养液和细胞外囊泡, 在各种皮肤疾病治疗中的潜在应用<sup>[42]</sup>。ZHANG 等<sup>[43]</sup>将人 GMSCs 注射到具有免疫能力的小鼠体内, 发现 GMSCs 可以迁移到局部皮肤创面上, 进而加速皮肤创面愈合, 促进创面部位再上皮化

及血管生成, 并抑制局部炎症细胞反应。在机制上, GMSCs 主要通过抑制炎症细胞、下调促炎细胞因子 (如肿瘤坏死因子  $\alpha$ ) 和上调抗炎细胞因子水平 (如白细胞介素 10), 进而抑制损伤皮肤的炎症反应。另外, JIANG 等<sup>[44]</sup>证明了 24 h 低氧刺激显著促进 GMSCs 对皮肤创口的修复能力, 提示了低氧预处理可以促进 GMSCs 在组织再生领域中的治疗潜力。最近, SHAFIEE 等<sup>[45]</sup>的一项研究表明, 3D 打印的医用级聚己内酯敷料和 GMSCs 结合的局部应用可以增强伤口的生理闭合。GMSCs 除了与聚己内酯敷料联合使用外, KALACHAVEEDU 等<sup>[46]</sup>还在全层切除伤口的大鼠模型中, 局部植入了富含草药的纳米纤维支架, 并植入入 GMSCs, 结果显示二者的联合应用能改善伤口愈合情况并促进组织修复, 且瘢痕极小。MAGNE 等<sup>[47]</sup>发现白细胞介素 1 $\beta$  介导的 GMSCs 在体外可促进细胞迁移、加速真皮-表皮连接的形成和减轻炎症, 并可在体内改善表皮替代移植和加速皮肤创面愈合。SHI 等<sup>[48]</sup>成功分离出 GMSCs 外泌体, 并采用冷冻干燥法制备了壳聚糖-蚕丝水凝胶海绵, 并将其作为 GMSCs 外泌体的递送支架载体, 证明二者通过促进胶原蛋白的再上皮化、沉积和重塑, 促进血管生成和神经元向内生长, 有效促进糖尿病大鼠皮肤创面愈合, 为 GMSCs 来源的外泌体在非侵入性皮肤组织修复中的应用提供了一种新的思路和方法, 见图 5。



图注: GMSCs 为牙髓间充质干细胞  
图 5 | GMSCs 来源的外泌体 + 壳聚糖 - 蚕丝水凝胶海绵促进糖尿病大鼠皮肤创面愈合

GMSCs 可与水凝胶同时使用用于软组织再生<sup>[49]</sup>。水凝胶的生化 and 物理特性还可以专门定制以模拟各种干细胞在体内的天然微环境<sup>[50]</sup>。封装在水凝胶中的 GMSCs 不仅能够减少炎症的发生, 而且还能够提高干细胞形成软组织再生潜力<sup>[51]</sup>。ANSARI 等<sup>[49]</sup>开发了一种海藻酸盐-甲基丙烯酸胺水凝胶配方, 将 GMSCs 封装在开发的水凝胶中, 封装在水凝胶中的 GMSCs 不仅能够保持活力, 同时可以促进胶原蛋白的沉积, 进而促进软组织的再生。MOSHAVERINIA 等<sup>[52]</sup>开发了一种用于封装 GMSCs 的负载转化生长因子  $\beta 3$  的精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸偶联海藻酸盐微球的递送系统, 将其移植到免疫低下的小鼠体内, 体外分化 4 周后, 显示出与肌腱再生相关的基因标志物, 如 Scleraxis(Scx), 这表明 GMSCs 有望成为肌腱修复或再生一种替代治疗选择。

**2.6 GMSCs 与其他组织再生** 为了测试 GMSCs 在软骨再生中的应用, MOSHAVERINIA 等<sup>[53]</sup>将 GMSCs 包裹在转化生长因子  $\beta$  负载的精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸偶联海藻酸盐微球中, 并移植到裸鼠背表面, 8 周后体内显示出软骨形成, 为颞下颌关节盘的再生提供了新的治疗方案。其次, GMSCs 可用于牙周组织的再生中。FAWZY EL-SAYED 等<sup>[54]</sup>建立了一个小型猪实验性牙周炎模型, 经过刮治、根面平整及牙周翻瓣术, 将含有白细胞介素 1 受体拮抗剂的透明质酸合成水凝胶为载体的 GMSCs 注射到牙周缺损

区域,并覆盖胶原膜,4个月后骨、牙骨质样物质和牙周膜出现明显再生。YU等<sup>[55]</sup>将GMSCs细胞膜片移植到比格犬牙齿III类分叉缺陷区域,术后8周观察到新形成的穿通纤维锚定在新再生的牙骨质中。这些都提示GMSCs移植有望成为牙周手术的新疗法<sup>[56-57]</sup>。ZENG等<sup>[58]</sup>发现与GMSCs共培养的软骨细胞在形成软骨基质时,产生大量的“基质结合细胞外囊泡”,在轻度、短期脱细胞后进一步保存在无细胞软骨细胞外基质中,从而形成了软骨基质结合细胞外囊泡贴片,将其植入到兔气管前外侧壁缺损处,实验结果表明气管祖细胞-基底上皮细胞显著增殖,以及修复细胞中Janus激酶2/信号转导和转录激活因子1通路被激活,为实现气管置换提供了新方法。除此之外,YUAN等<sup>[59]</sup>发现麝香酮通过Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路促进GMSCs的成脂分化的潜能,为GMSCs和麝香酮在组织工程和再生医学中的应用提供理论依据。GMSCs还可用于味蕾的再生,ZHANG等<sup>[60]</sup>建立了大鼠临界大小的舌缺损模型,发现GMSCs或其衍生的外泌体可用于I、II和III型味蕾细胞的再生,这表明GMSCs及其衍生物在舌癌患者的术后味觉重建中具有潜在的应用前景。

GMSCs在组织再生方面的典型研究汇总,见表1。

表1 | GMSCs在组织再生方面的典型研究汇总

作者	发表年份	研究主要方法	主要结果	主要结论
AL-QADHI等 <sup>[19]</sup>	2020	动物模型	与未加载支架相比,GMSCs或BMSCs与纳米骨支架材料联合使用明显增强新骨形成	GMSCs可能是一种可与BMSCs相媲美的骨再生来源
CAI等 <sup>[28]</sup>	2022	基础研究	含有二甲双胍的壳聚糖水凝胶促进了GMSCs神经再生相关蛋白的上调	GMSCs分化为神经元样细胞,神经相关标志物的表达显著增强
YANG等 <sup>[38]</sup>	2021	基础研究	GMSCs在与成熟的内皮细胞共培养时具有向内皮细胞系分化的能力,且均处于向内皮细胞系分化的早期阶段	GMSCs可向血管内皮细胞分化
PARK等 <sup>[40]</sup>	2021	基础研究	GMSCs衍生的细胞外囊泡对顺铂诱导的耳毒性听力损失具有保护作用	GMSCs可向听觉祖细胞分化,听觉祖细胞的再生有望成为治疗感觉神经性听力损失的有希望方法
MOSHAVERINIA等 <sup>[52]</sup>	2014	动物模型	GMSCs的负载转化生长因子 $\beta$ 3的精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸偶联海藻酸盐微球的共递送系统,将其移植到免疫低下的小鼠体内,体外分化4周后,显示出与肌腱再生相关的基因标志物	GMSCs有望成为肌腱修复或再生一种替代治疗选择

表注:GMSCs为牙龈间充质干细胞;BMSCs为骨髓间充质干细胞

### 3 总结与展望 Summary and prospects

总之,GMSCs可以与支架或载体联合使用,也可以单独使用,在体外诱导培养条件下,可分化为成骨细胞、神经细胞、血管内皮细胞、听觉细胞,加速成骨、皮肤伤口愈合及软组织再生等。此外,海藻酸钠、聚乳酸和聚半胱氨酸可作为生物降解支架材料用于GMSCs的封装;各种生长因子的添加可获得所需的分化和表型;三维球体培养系统可以优化GMSCs的特性以提高组织工程性能。

然而,它们在再生医学领域中的应用仍然存在较多的局限性:①较低的存活率及分化率,人工构建的3D培养体系稳定性尚有不足;②在不同情况下调控GMSCs增殖和分化的分子机制尚未完全阐明;③各种支架材料的生物相容性及机械强度尚不理想;④对GMSCs的理解大多基于体外实验和体内动物研究,缺少长期的临床效果评估。在将来有必要开展临床试验研究,证实GMSCs在促进骨、肌肉、神经和牙周等组织再生的作用,为其在医学中的潜在用途提供更多证据。

作者贡献:论文设计为程靖媛和蒋少云;资料收集与分析为程靖媛和刘玥;论文撰写为程靖媛;审校为通讯作者蒋少云。

利益冲突:文章的全部作者声明,在课题研究和文章撰写过程中不存在利益冲突。

开放获取声明:这是一篇开放获取文章,根据《知识共享许可协议》“署名-非商业性使用-相同方式共享4.0”条款,在合理引用的情况下,允许他人以非商业性目的基于原文内容编辑、调整和扩展,同时允许任何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链接该文献,并为之建立索引,用作软件的输入数据或其它任何合法用途。

版权转让:文章出版前全体作者与编辑部签署了文章版权转让协议。

出版规范:文章撰写遵守了《系统综述和荟萃分析报告规范》(PRISMA声明);出版前经过专业反剽窃文献检测系统进行3次文字和图表查重;经小同行外审专家双盲审稿,同行评议认为符合期刊发稿宗旨。

### 4 参考文献 References

- MEHDIPOUR A, EBRAHIMI A, SHIRI-SHAHSAVAR MR, et al. The potentials of umbilical cord-derived mesenchymal stem cells in the treatment of multiple sclerosis. *Rev Neurosci*. 2019;30(8):857-868.
- HEO JS, CHOI Y, KIM HS, et al. Comparison of molecular profiles of human mesenchymal stem cells derived from bone marrow, umbilical cord blood, placenta and adipose tissue. *Int J Mol Med*. 2016;37(1):115-125.
- SAMSONRAJ RM, RAGHUNATH M, NURCOMBE V, et al. Concise review: multifaceted characterization of human mesenchymal stem cells for use in regenerative medicine. *Stem Cells Transl Med*. 2017;6(12):2173-2185.
- VASANTHAN J, GURUSAMY N, RAJASINGH S, et al. Role of human mesenchymal stem cells in regenerative therapy. *Cells*. 2020;10(1):54-67.
- DOMINICI M, LE BLANC K, MUELLER I, et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*. 2006;8(4):315-317.
- LI N, HUA J. Interactions between mesenchymal stem cells and the immune system. *Cell Mol Life Sci*. 2017;74(13):2345-2360.
- LIU X, WANG Z, SONG W, et al. Systematically transplanted human gingiva-derived mesenchymal stem cells regulate lipid metabolism and inflammation in hyperlipidemic mice with periodontitis. *Exp Ther Med*. 2020;19(1):672-682.
- GAO X, CAO Z. Gingiva-derived mesenchymal stem cells and their potential applications in oral and maxillofacial diseases. *Curr Stem Cell Res Ther*. 2020;15(1):43-53.
- GRONTHOS S, MANKANI M, BRAHIM J, et al. Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) in vitro and in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000;97(25):13625-13630.
- SHANG L, SHAO J, GE S. Immunomodulatory functions of oral mesenchymal stem cells: Novel force for tissue regeneration and disease therapy. *Leukoc Biol*. 2021;110(3):539-552.
- GRAWISH ME. Gingival-derived mesenchymal stem cells: An endless resource for regenerative dentistry. *World J Stem Cells*. 2018;10(9):116-118.
- KIM D, LEE AE, XU Q, et al. Gingiva-derived mesenchymal stem cells: potential application in tissue engineering and regenerative medicine—a comprehensive review. *Front Immunol*. 2021;16(12):667221.
- 刘晓璇, 徐全臣. 牙龈间充质干细胞的研究进展 [J]. 青岛大学医学院学报, 2018, 54(1):119-122.
- YANG S, LEONG KF, DU Z, et al. The design of scaffolds for use in tissue engineering. Part I. Traditional factors. *Tissue Eng*. 2001;7(6):679-689.
- DRURY JL, MOONEY DJ. Hydrogels for tissue engineering: scaffold design variables and applications. *Biomaterials*. 2003;24(24):4337-4351.
- HAN J, MENICANIN D, GRONTHOS S, et al. Stem cells, tissue engineering and periodontal regeneration. *Aust Dent*. 2014;59(1):117-130.
- 王法程, 郝鹏杰, 卢志山. 牙龈间充质干细胞递送支架载体的研究进展 [J]. 口腔医学, 2022, 42(2):170-175.
- MOSHAVERINIA A, CHEN C, AKIYAMA K, et al. Alginate hydrogel as a promising scaffold for dental-derived stem cells: an in vitro study. *Mater Sci Mater Med*. 2012;23(12):3041-3051.
- AL-QADHI G, SOLIMAN M, ABOU-SHADY I, et al. Gingival mesenchymal stem cells as an alternative source to bone marrow mesenchymal stem cells in regeneration of bone defects: In vivo study. *Tissue Cell*. 2020;63(3):101325.

- [20] PIZZICANNELLA J, MARCONI GD, PIERDOMENICO SD, et al. Bovine pericardium membrane, gingival stem cells, and ascorbic acid: a novel team in regenerative medicine. *Eur J Histochem*. 2019;63(3):3064-3072.
- [21] KESHTKAR S, AZARPIRA N, GHAHREMANI MH. Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles: novel frontiers in regenerative medicine. *Stem Cell Res Ther*. 2018;9(1):63-71.
- [22] DIOMEDE F, GUGLIANDOLO A, CARDELLI P, et al. Three-dimensional printed PLA scaffold and human gingival stem cell-derived extracellular vesicles: a new tool for bone defect repair. *Stem Cell Res Ther*. 2018; 9(1):104-124.
- [23] AL-QADHI G, ABOUSHADY I, AL-SHARABI N. The gingiva from the tissue surrounding the bone to the tissue regenerating the bone: a systematic review of the osteogenic capacity of gingival mesenchymal stem cells in preclinical studies. *Stem Cells Int*. 2021; 2021(5):6698100.
- [24] DINIZ IM, CHEN C, ANSARI S, et al. Gingival mesenchymal stem cell (gmsc) delivery system based on RGD-coupled alginate hydrogel with antimicrobial properties: a novel treatment modality for peri-implantitis. *J Prosthodont*. 2016;25(2):105-115.
- [25] 刘焱杉, 吴海林, 贾智, 等. 丝素改性聚乳酸-羧基乙酸共聚物多孔微球作为牙龈间充质干细胞递送载体的研究 [J]. *高等学校化学学报*, 2019,40(11):2419-2426.
- [26] KANDALAM U, KAWAI T, RAVINDRAN G, et al. Predifferentiated gingival stem cell-induced bone regeneration in rat alveolar bone defect model. *Tissue Eng Part A*. 2021;27(5-6):424-436.
- [27] RAO SR, SUBBARAYAN R, DINESH MG, et al. Differentiation of human gingival mesenchymal stem cells into neuronal lineages in 3D bioconjugated injectable protein hydrogel construct for the management of neuronal disorder. *Exp Mol Med*. 2016;48(2):209-219.
- [28] CAI S, LEI T, BI W, et al. Chitosan hydrogel supplemented with metformin promotes neuron-like cell differentiation of gingival mesenchymal stem cells. *Int J Mol Sci*. 2022;23(6):3276-3292.
- [29] SILVESTRO S, CHIRICOSTA L, GUGLIANDOLO A, et al. Extracellular vesicles derived from human gingival mesenchymal stem cells: a transcriptomic analysis. *Genes (Basel)*. 2020;11(2):118-137.
- [30] ZHANG Q, NGUYEN PD, SHI S, et al. Neural crest stem-like cells non-genetically induced from human gingiva-derived mesenchymal stem cells promote facial nerve regeneration in rats. *Mol Neurobiol*. 2018;55(8):6965-6983.
- [31] 王思拓, 时权, 杨烁, 等. 牙龈间充质干细胞来源外泌体对成骨样细胞 MC3T3-E1 体外增殖和成骨分化的影响 [J]. *解放军医学院学报*, 2022,43(4):442-448.
- [32] RAO F, ZHANG D, FANG T, et al. Exosomes from human gingiva-derived mesenchymal stem cells combined with biodegradable chitin conduits promote rat sciatic nerve regeneration. *Stem Cells Int*. 2019; 2019(4):2546367.
- [33] MAO Q, NGUYEN PD, SHANTI RM, et al. Gingiva-derived mesenchymal stem cell-extracellular vesicles activate schwann cell repair phenotype and promote nerve regeneration. *Tissue Eng Part A*. 2019;25(11-12): 887-900.
- [34] MAMMANA S, GUGLIANDOLO A, CAVALLI E, et al. Human gingival mesenchymal stem cells pretreated with vesicular moringin nanostructures as a new therapeutic approach in a mouse model of spinal cord injury. *Tissue Eng Regen Med*. 2019;13(7):1109-1121.
- [35] SUBBARAYAN R, BARATHIDASAN R, RAJA STK, et al. Human gingival derived neuronal cells in the optimized caffeic acid hydrogel for hemitranssection spinal cord injury model. *Cell Biochem*. 2020;121(3): 2077-2088.
- [36] GUGLIANDOLO A, DIOMEDE F, CARDELLI P, et al. Transcriptomic analysis of gingival mesenchymal stem cells cultured on 3D bio printed scaffold: A promising strategy for neuro regeneration. *Biomed Mater Res A*. 2018;106(1):126-137.
- [37] ANSARI S, DINIZ IM, CHEN C, et al. Human periodontal ligament- and gingiva-derived mesenchymal stem cells promote nerve regeneration when encapsulated in alginate/hyaluronic acid 3d scaffold. *Adv Healthc Mater*. 2017;6(24):10-30.
- [38] YANG K, XIE D, LIN W, et al. Adipose mesenchymal stem cells and gingival mesenchymal stem cells have a comparable effect in endothelium repair. *Exp Ther Med*. 2021;22(6):1415-1425.
- [39] JIN S, YANG C, HUANG J, et al. Conditioned medium derived from FGF-2-modified GMSCs enhances migration and angiogenesis of human umbilical vein endothelial cells. *Stem Cell Res Ther*. 2020;11(1):68-79.
- [40] PARK DJ, PARK JE, LEE SH, et al. Protective effect of MSC-derived exosomes against cisplatin-induced apoptosis via heat shock protein 70 in auditory explant model. *Nanomedicine*. 2021;38(5):102447.
- [41] POURAGHAEI S, MOZTARZADEH F, CHEN C, et al. Microenvironment can induce development of auditory progenitor cells from human gingival mesenchymal stem cells. *ACS Biomater Sci Eng*. 2020;6(4):2263-2273.
- [42] GOLCHIN A, FARAHAANY TZ, KHOJASTEH A, et al. The clinical trials of mesenchymal stem cell therapy in skin diseases: an update and concise review. *Curr Stem Cell Res Ther*. 2019;14(1):22-33.
- [43] ZHANG QZ, SU WR, SHI SH, et al. Human gingiva-derived mesenchymal stem cells elicit polarization of m2 macrophages and enhance cutaneous wound healing. *Stem Cells*. 2010;28(10):1856-1868.
- [44] JIANG CM, LIU J, ZHAO JY, et al. Effects of hypoxia on the immunomodulatory properties of human gingiva-derived mesenchymal stem cells. *Dent Res*. 2015;94(1):69-77.
- [45] SHAFIEE A, CAVALCANTI AS, SAIDY NT, et al. Convergence of 3D printed biomimetic wound dressings and adult stem cell therapy. *Biomaterials*. 2021;268(6):120558.
- [46] KALACHAVEEDU M, JENIFER P, PANDIAN R, et al. Fabrication and characterization of herbal drug enriched Guar galactomannan based nanofibrous mats seeded with GMSC's for wound healing applications. *Int J Biol Macromol*. 2020;148(7):737-749.
- [47] MAGNE B, DEDIER M, NIVET M, et al. IL-1 $\beta$ -Primed mesenchymal stromal cells improve epidermal substitute engraftment and wound healing via matrix metalloproteinases and transforming growth factor- $\beta$ 1. *Invest Dermatol*. 2020;140(3):688-698.
- [48] SHI Q, QIAN Z, LIU D, et al. GMSC-derived exosomes combined with a chitosan/silk hydrogel sponge accelerates wound healing in a diabetic rat skin defect model. *Front Physiol*. 2017;8(6):904-919.
- [49] ANSARI S, CHEN C, XU X, et al. Muscle tissue engineering using gingival mesenchymal stem cells encapsulated in alginate hydrogels containing multiple growth factors. *Ann Biomed Eng*. 2016;44(6):1908-1920.
- [50] YIN S, CAO Y. Hydrogels for large-scale expansion of stem cells. *Acta Biomater*. 2021;128(6):1-20.
- [51] KHAYAMBASHI P, IYER J, PILLAI S, et al. Hydrogel encapsulation of mesenchymal stem cells and their derived exosomes for tissue engineering. *Int J Mol Sci*. 2021;22(2):684-698.
- [52] MOSHAVERINIA A, XU X, CHEN C, et al. Application of stem cells derived from the periodontal ligament or gingival tissue sources for tendon regeneration. *Biomaterials*. 2014;35(9):2642-2650.
- [53] MOSHAVERINIA A, XU X, CHEN C, et al. Dental mesenchymal stem cells encapsulated in an alginate hydrogel co-delivery microencapsulation system for cartilage regeneration. *Acta Biomater*. 2013;9(12):9343-9350.
- [54] FAWZY EL-SAYED KM, MEKHEMAR MK, BECK-BROICHSITTER BE, et al. Periodontal regeneration employing gingival margin-derived stem/progenitor cells in conjunction with IL-1ra-hydrogel synthetic extracellular matrix. *J Clin Periodontol*. 2015;42(5):448-457.
- [55] YU X, GE S, CHEN S, et al. Human gingiva-derived mesenchymal stromal cells contribute to periodontal regeneration in beagle dogs. *Cells Tissues Organs*. 2013;198(6):428-437.
- [56] 邓蔡, 张丽, 厉丹, 等. 牙龈间充质干细胞与牙周膜干细胞膜片牙周再生能力的实验研究 [J]. *西部医学*, 2018,30(12):1738-1741.
- [57] SUN W, WANG Z, XU Q, et al. The treatment of systemically transplanted gingival mesenchymal stem cells in periodontitis in mice. *Exp Ther Med*. 2019;17(3):2199-2205.
- [58] ZENG T, YUAN P, LIANG L, et al. Cartilaginous extracellular matrix enriched with human gingival mesenchymal stem cells derived "matrix bound extracellular vesicles" enabled functional reconstruction of tracheal defect. *Adv Sci (Weinh)*. 2022;9(2):2102735.
- [59] YUAN WX, WANG XX, ZHENG DH, et al. Muscone promotes The adipogenic differentiation of human gingival mesenchymal stem cells by inhibiting the Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway. *Drug Des Devel Ther*. 2019;13(3):3291-3306.
- [60] ZHANG Y, SHI S, XU Q, et al. SIS-ECM laden with GMSCs-derived exosomes promote taste bud regeneration. *J Dent Res*. 2019;98(2):225-233.

(责任编辑: ZN, ZH)