

骨髓间充质干细胞成骨分化在口腔医学中的应用

郭莎¹, 麦麦提艾力·麦麦提敏², 姚志涛^{1*}

¹新疆医科大学第一附属医院(附属口腔医院)口腔颌面创伤正颌外科, 新疆 乌鲁木齐

²新疆医科大学第一附属医院(附属口腔医院)口腔修复种植科, 新疆 乌鲁木齐

收稿日期: 2024年7月15日; 录用日期: 2024年8月9日; 发布日期: 2024年8月16日

摘要

来源于中胚层的骨髓间充质干细胞(BMSCs), 能够进行自我更新, 从而实现多种不同的发育方式。由于其易于体外扩增和外源基因导入等优点, 在骨缺损修复中具有广阔的应用前景。近年来, 随着组织工程学理论和技术的不断进步, 将BMSCs应用于颌骨缺损修复中取得了卓越的成果, 改善了颌骨缺损的治愈效果。基于此, 本文对骨髓间充质干细胞在口腔医学领域的应用和疗效作一综述, 以期临床医生提供更加科学的理论依据。

关键词

骨髓间充质干细胞, 颌骨缺损, 骨再生, 牙周组织再生

Application of Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells to Osteogenic Differentiation in Stomatology

Sha Guo¹, Mai Mai Tiaili·Mai Mai Timin², Zhitao Yao^{1*}

¹Orthognathic Surgery for Oral-Maxillofacial Trauma, The First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University (Affiliated Stomatological Hospital), Urumqi Xinjiang

²Department of Prosthodontic Implant, The First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University (Affiliated Stomatological Hospital), Urumqi Xinjiang

Received: Jul. 15th, 2024; accepted: Aug. 9th, 2024; published: Aug. 16th, 2024

*通讯作者。

文章引用: 郭莎, 麦麦提艾力·麦麦提敏, 姚志涛. 骨髓间充质干细胞成骨分化在口腔医学中的应用[J]. 临床医学进展, 2024, 14(8): 660-665. DOI: 10.12677/acm.2024.1482265

Abstract

Bone marrow mesenchymal stem cells (BMSCs) deriving from the mesoderm can self-renew and achieve a variety of different development modes. Because of its advantages of easy *in vitro* expansion and foreign gene introduction, it has a broad application prospect in bone defect repair. In recent years, with the continuous progress of tissue engineering theory and technology, the application of BMSCs in jaw defect repair has achieved excellent results and improved the healing effect of jaw defect. Based on this, this paper reviews the application and efficacy of bone marrow mesenchymal stem cells in stomatology, in order to provide more scientific theoretical basis for clinicians.

Keywords

Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells, Jaw Defect, Bone Regeneration, Periodontal Tissue Regeneration

Copyright © 2024 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

BMSCs 拥有良好的自身分化潜力,在特定的条件下,可以向成骨细胞,网状细胞,成纤维细胞等间质细胞进行分化,可用于骨缺损疾病的修复治疗[1]-[3],然而此过程需要复杂的技术支撑,仍面临着许多挑战。BMSCs 拥有良好的再生能力,已成为骨缺损修复领域重要的种子细胞[4] [5],可被用于体内外的治疗。如何进行牙周组织再生、如何干预颞下颌关节紊乱性疾病、如何进行颌面部骨缺损组织修复等问题正日益受到关注。如今在临床上任何形式的创伤、颌骨发育不足及遗传学疾病均可造成颌骨不同程度的缺损,及时有效地处理缺损的骨组织并恢复患者的各项生理功能非常重要。传统的口腔颌面部软组织缺损多以皮瓣移植为主,但易造成供体组织的损伤,BMSCs 作为组织缺损修复领域的重要种子细胞,在医学各个领域都涉及大量研究和应用[6],本文主要阐述 BMSCs 组织工程在口腔医学领域的最新应用,以期对口腔软硬组织修复与再生提供新的理论依据。

2. BMSCs 分离培养鉴定及成骨诱导

2.1. BMSCs 的分离培养

根据发现,骨髓中的干细胞体系包括造血干细胞、非造血系统的多向分化干细胞[7] [8]。研究表明,骨髓间充质干细胞在一定条件下可分化为间充质组织细胞群,如成骨细胞、网状细胞、成纤维细胞等,它们都是紧贴着细胞壁生长的,被称为骨髓基质干细胞[9]。BMSCs 在骨髓中含量仅占骨髓单核细胞的 0.001%~0.01%,且存活率低[10]。因此目前常用的细胞分选技术主要是全骨髓贴壁法、密度梯度离心法、流式细胞分选法等[11] [12]。

2.2. BMSCs 的鉴定方法

国际细胞治疗学会(ISCT)于 2006 年提出了一系列关于 BMSCs 的最低定义标准[13],包括:① BMSCs 具有良好的贴壁黏附特征;② BMSCs 必须表达 CD73、CD105、CD90 等细胞抗原,不表达造血和内皮

细胞标志 CD45、CD34、CD14、CD11b; ③ BMSCs 可被诱导进行体外细胞分离, 通过流式细胞术进行细胞分选, 这样有助于更好地与造血干细胞区分[14] [15]。另外, 还可以通过体外实验证实 BMSCs 具有多向分化的能力[16]。

2.3. BMSCs 成骨诱导

成骨诱导培养基成分包括地塞米松(Dex)、 β -甘油磷酸钠(β -GP)和维生素 C (VitC), 这些都可以有效促进 BMSCs 的成骨分化[17]。地塞米松(Dex)是一种新发现的具有促成骨作用的药物, 其主要作用是通过调控成骨细胞中类胰岛素的分泌, 促进胶原蛋白的合成, 进而促进碱性磷酸酶阳性细胞聚集数量的增加[17]; β -丙三醇磷酸钠还可以通过活化碱性磷酸酶, 促进钙盐的沉积, 从而实现成骨细胞的成骨分化。它能够有效地促进成骨细胞的增殖和分化, 从而促进骨再生, 提高骨密度。目前最大的骨诱导因子骨形态发生蛋白、碱性成纤维细胞生长因子、血管内皮生长因子等均以 BMSCs 为靶点, 诱导 BMSCs 分化为软骨、成骨细胞, 具有成骨作用[18]。其它的可以利用中药的提取物进行分化[19], 物理的分化[20]和基因的作用分化。

2.4. BMSCs 成骨分化鉴定

通过光学或扫描电镜对液体培养基中的 BMSCs 进行形态学研究[21]; 碱性磷酸酶(ALP)是调控成骨细胞分化的关键因子, 其活性与 ALP 呈正相关, 通过 ALP 染色法[22] [23]可鉴定; 研究表明采用 Gomori 钙钴染色、Von-Kossa 染色、钙结节等方法观察 BMSCs 成骨分化的能力[18]。

3. BMSCs 在口腔颌面部骨缺损修复中的应用

3.1. BMSCs 治疗颌面部骨缺损

景彩霞[24]等人为使比格犬下颌骨缺损, 并将其与骨髓间充质干细胞联合移植至骨缺损处。结果提示 BMSCs 可能作为一种成骨诱导因子, 调控其成骨能力促进成骨, 以达到骨缺损的修复与重建。Osugi [25]等学者发现, 将含细胞因子的细胞培养基转移到骨缺损所在部位会出现更多的 BMSCs, 其可促进骨缺损的修复。由此可见, 骨损伤必然伴随骨量缺失。通常, 正常的骨组织具有较强的自愈能力, 可以在自身分泌的骨生长因子及其它细胞因子、激素等的协同效应下, 促进新骨的生成, 最终实现对损伤的骨组织的结构与功能的恢复。尽管已有大量将 BMSCs 运用在治疗骨缺损的基础研究, 但是仍需进一步增加对这种治疗方法的研究数量和样本量, 以便更好地了解它的具体机制。

3.2. 牙槽骨缺损

BMSCs 具有重要的组织工程学意义, 它不仅能够提供骨髓细胞, 还可以有效改善软骨损伤的症状。孙琦[26]等学者研究发现在 6 周的干预期, 模型组与 BMSCs 组牙槽骨缺损部位的骨密度(BMD)增加, TRAP 蛋白表达降低($P < 0.05$), 这说明 BMSCs 可以有效促进牙槽骨缺损部位的再生修复, 从而提高牙槽骨缺损患者的治愈率。Jiang [27]等将大鼠上颌磨牙拔除后, 将 BMSCs-Bio-Oss-bFGF 复合物种植于术区, 结果显示手术后的 BMD 显著高于其它组, 以上结果表明, BMSC-Bio-Oss-bFGF 复合体对牙槽窝修复有较好的促进作用, 并对骨组织有较好的保护作用。

Behnia [28]等在牙槽突缺损处植入 BMSCs-HA-TCP 复合物混合血小板衍生生长因子(PDGF), 骨量提高到 51.3%, 取得较为满意的成果[29]。通过实验结果可以得出结论, 含有 PDGF 的骨髓间充质干细胞(BMSCs)可以更好地促进成骨, 从而实现牙槽骨缺损修复的效果, 这对于牙槽骨缺损治疗具有重要意义。

3.3. 牙周组织再生

牙周炎可造成牙周组织进行性损伤,临床上常用的治疗方法有:龈上洁治、龈下刮治以及系统应用抗生素等,这些方法达到保持治疗效果的目的。牙周炎最好的疗法是获得新生牙骨质和牙槽骨。Gomez 等[30]将 BMSCs 作为种子细胞,在达到修复牙周骨缺损的同时,可有效地促进牙周组织的再生。Liu [31]等利用水凝胶技术,将 BMSCs 源性小细胞外囊泡(BMSC-sEVs)注入实验性牙周炎大鼠模型中,研究显示, BMSC-sEV 可以调控巨噬细胞极化,并上调 TGF- β 1 的表达,从而影响 OPG-RANKL-RANK 通路,有效调节了破骨细胞功能,进一步减轻了牙周炎病变,有效促进牙周组织再生。毫无疑问,组织工程学是具有可行性和前景的牙周组织再生的有效策略。

3.4. 种植体周围的骨再生

为了更好地治疗严重缺损的人牙槽骨,Yamada [32]等学者将 BMSCs 与血小板血浆(PRP)作为种子细胞的研究,将两者复合物植入骨缺损部位,并在其表面包覆一层可诱导骨再生的薄膜,最终在成骨后植入种植体。研究显示由于 BMSCs 和 PRP 复合物在种植体周围的作用可引起骨高度增加、非透射区增加。刘茜[33]等研究者对 PRP 如何促进种植体周围的骨组织再生进行了深入地探究。通过 Micro CT 及硬组织切片得出 BMSCs 膜片与 PRP 联合使用可以促进 β -TCP 种植体周围骨组织的再生,加强骨结合能力。这为种植学在恢复口腔功能方面的应用提供有力的依据。

3.5. 颞下颌关节紊乱病

TMJD 是临床上的常见病,目前以保守治疗为主。Jose [34]等利用支架材料与 BMSCs,成功构建出与正常髁突组织形态相似的骨-软骨复合体。研究显示 BMSCs 可通过分泌生长因子或供给营养来促进 TMJ 的修复,Du 等[35]认为 BMSCs 可通过自身或旁分泌的小分子物质促进损伤组织修复。

4. 结语

综上所述,近年来有关 BMSCs 的研究和应用取得了很大的进步,其特点是移植简便,成本低廉,不易产生免疫排斥反应,因此在临床实践中具有广阔的发展前景。大量的临床试验证明,骨髓间充质干细胞是一种极具潜力的骨缺损修复材料。BMSCs 能通过体内外与支架材料共培养及通过调控骨髓间充质干细胞外泌体有关信号通路等方式可治疗颌骨缺损、牙槽骨缺损、牙周组织再生、种植体周围的骨再生及颞下颌关节紊乱病,这对有关口腔医学的研究有一定的启示。但其具体作用机理尚不明确,仍有待进一步研究,以利于进一步开展功能分析、临床试验和长期随访。

参考文献

- [1] Casado-Díaz, A., Santiago-Mora, R., Jiménez, R., Caballero-Villarraso, J., Herrera, C., Torres, A., *et al.* (2008) Cryopreserved Human Bone Marrow Mononuclear Cells as a Source of Mesenchymal Stromal Cells: Application in Osteoporosis Research. *Cytotherapy*, **10**, 460-468. <https://doi.org/10.1080/14653240802192644>
- [2] Zhang, X., Jiang, X., Jiang, S., Cai, X., Yu, S. and Pei, G. (2021) Schwann Cells Promote Prevascularization and Osteogenesis of Tissue-Engineered Bone via Bone Marrow Mesenchymal Stem Cell-Derived Endothelial Cells. *Stem Cell Research & Therapy*, **12**, Article No. 382. <https://doi.org/10.1186/s13287-021-02433-3>
- [3] Piroso, A., Gottardi, R., Alexander, P.G. and Tuan, R.S. (2018) Engineering In-Vitro Stem Cell-Based Vascularized Bone Models for Drug Screening and Predictive Toxicology. *Stem Cell Research & Therapy*, **9**, Article No. 112. <https://doi.org/10.1186/s13287-018-0847-8>
- [4] Weng, Y., Wang, Z., Sun, J., Han, L., Li, X., Wu, B., *et al.* (2021) Engineering of Axially Vascularized Bone Tissue Using Natural Coral Scaffold and Osteogenic Bone Marrow Mesenchymal Stem Cell Sheets. *Journal of Stomatology, Oral and Maxillofacial Surgery*, **122**, 397-404. <https://doi.org/10.1016/j.jormas.2021.01.013>
- [5] Xian, H., Luo, D., Wang, L., Cheng, W., Zhai, W., Lian, K., *et al.* (2020) Platelet-Rich Plasma-Incorporated Autolo-

- gous Granular Bone Grafts Improve Outcomes of Post-Traumatic Osteonecrosis of the Femoral Head. *The Journal of Arthroplasty*, **35**, 325-330. <https://doi.org/10.1016/j.arth.2019.09.001>
- [6] 李焕萍, 刘春蓉, 张永亮. 骨髓间充质干细胞在医学领域中的研究与应用[J]. 中国组织工程研究, 2007, 11(28): 5622-5625.
- [7] Friedenstein, A.J., Piatetzky-Shapiro, I.I. and Petrakova, K.V. (1966) Osteogenesis in Transplants of Bone Marrow Cells. *Development*, **16**, 381-390. <https://doi.org/10.1242/dev.16.3.381>
- [8] Friedenstein, A.J., Petrakova, K.V., Kurolesova, A.I. and Frolova, G.P. (1968) Heterotopic Transplants of Bone Marrow. *Transplantation*, **6**, 230-247. <https://doi.org/10.1097/00007890-196803000-00009>
- [9] Kuznetsov, S.A., Krebsbach, P.H., Satomura, K., Kerr, J., Riminucci, M., Benayahu, D., *et al.* (1997) Single-Colony Derived Strains of Human Marrow Stromal Fibroblasts Form Bone After Transplantation *in Vivo*. *Journal of Bone and Mineral Research*, **12**, 1335-1347. <https://doi.org/10.1359/jbmr.1997.12.9.1335>
- [10] Hoch, A.I. and Leach, J.K. (2014) Concise Review: Optimizing Expansion of Bone Marrow Mesenchymal Stem/Stromal Cells for Clinical Applications. *Stem Cells Translational Medicine*, **3**, 643-652. <https://doi.org/10.5966/sctm.2013-0196>
- [11] Nicodemou, A. and Danisovic, L. (2017) Mesenchymal Stromal/stem Cell Separation Methods: Concise Review. *Cell and Tissue Banking*, **18**, 443-460. <https://doi.org/10.1007/s10561-017-9658-x>
- [12] Deryugina, E.I. and Muller-Sieburg, C.E. (1993) Stromal Cells in Long Term Cultures to the Elucidation of Hematopoietic Development. *Critical Reviews in Immunology*, **13**, 115-150.
- [13] Meppelink, A.M., Wang, X., Bradica, G., Barron, K., Hiltz, K., Liu, X., *et al.* (2016) Rapid Isolation of Bone Marrow Mesenchymal Stromal Cells Using Integrated Centrifuge-Based Technology. *Cytotherapy*, **18**, 729-739. <https://doi.org/10.1016/j.jcyt.2016.03.291>
- [14] 李强强, 谢亚东, 张怀斌, 等. SD 大鼠骨髓间充质干细胞分离培养及鉴定的实验研究[J]. 现代生物医学进展, 2021, 21(13): 2410-2414, 2446.
- [15] 胡超然, 邱冰, 周祝兴, 等. 3D 打印聚己内酯/纳米羟基磷灰石复合支架与骨髓间充质干细胞的体外生物相容性[J]. 中国组织工程研究, 2020, 24(4): 589-595.
- [16] 陈燕, 姜胜军, 彭友俭. 骨髓间充质干细胞来源的外泌体对成骨细胞增殖和分化的影响[J]. 口腔医学研究, 2019, 35(4): 401-404.
- [17] Langenbach, F. and Handschel, J. (2013) Effects of Dexamethasone, Ascorbic Acid and β -Glycerophosphate on the Osteogenic Differentiation of Stem Cells *in Vitro*. *Stem Cell Research & Therapy*, **4**, Article No. 117. <https://doi.org/10.1186/scri328>
- [18] Lin, Z., Wang, J., Lin, L., Zhang, J., Liu, Y., Shuai, M., *et al.* (2013) Effects of BMP2 and VEGF165 on the Osteogenic Differentiation of Rat Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells. *Experimental and Therapeutic Medicine*, **7**, 625-629. <https://doi.org/10.3892/etm.2013.1464>
- [19] 张科强, 刘一, 王宝刚, 等. 体外冲击波诱导骨髓间充质干细胞向成骨细胞转化过程中 c-fos、c-jun 的表达[J]. 山东医药, 2008, 48(4): 63-64.
- [20] 胡炜, 俞兴, 徐林. 骨髓基质细胞诱导分化成骨方法及相关研究进展[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2009, 13(1): 169-172.
- [21] 胡孝丽, 王佳宇, 余和东, 等. 大鼠胎鼠成骨细胞的培养及初步鉴定[J]. 临床口腔医学杂志, 2016, 32(4): 207-210.
- [22] Tang, X.K., Cheng, W., Xu, B., *et al.* (2013) Experimental Study on the Isolated Culture of Osteocytes and Identification of Osteoblasts in Rats. *Chinese Journal of Traumatology*, **26**, 227-231.
- [23] Xu, L.L., Sun, X.J., Hao, X.X., *et al.* (2015) Osteogenic Induction of Human Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells Cultured in Complex Medium. *Journal of Clinical Rehabilitative Tissue Engineering Research*, **19**, 1501-1505.
- [24] 景彩霞, 刘昌奎, 谭新颖, 等. 骨髓间充质干细胞与同种异体骨复合修复犬下颌骨缺损: 成骨能力检测[J]. 中国组织工程研究, 2015(14): 2138-2143.
- [25] Osugi, M., Katagiri, W., Yoshimi, R., Inukai, T., Hibi, H. and Ueda, M. (2012) Conditioned Media from Mesenchymal Stem Cells Enhanced Bone Regeneration in Rat Calvarial Bone Defects. *Tissue Engineering Part A*, **18**, 1479-1489. <https://doi.org/10.1089/ten.tea.2011.0325>
- [26] 孙琦, 王丽霞, 吕继连. 骨髓间充质干细胞对大鼠牙槽骨缺损再生修复的影响[J]. 中华老年口腔医学杂志, 2022, 20(4): 193-197.
- [27] Jiang, Y.H., Shang, Y., Zou, D.H., *et al.* (2022) Effect of Rat Allogeneic BMSCs-Bio-Oss-bFGF Compound on Tooth Extraction Healing: A Micro-CT Study. *Shanghai Journal of Stomatology*, **31**, 38-43.

-
- [28] Behnia, H., Khojasteh, A., Soleimani, M., Tehranchi, A., Khoshzaban, A., Keshel, S.H., *et al.* (2009) Secondary Repair of Alveolar Clefts Using Human Mesenchymal Stem Cells. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, **108**, e1-e6. <https://doi.org/10.1016/j.tripleo.2009.03.040>
- [29] Behnia, H., Khojasteh, A., Soleimani, M., Tehranchi, A. and Atashi, A. (2012) Repair of Alveolar Cleft Defect with Mesenchymal Stem Cells and Platelet Derived Growth Factors: A Preliminary Report. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*, **40**, 2-7. <https://doi.org/10.1016/j.jcms.2011.02.003>
- [30] Gómez-Florit, M., Monjo, M. and Ramis, J.M. (2015) Quercitrin for Periodontal Regeneration: Effects on Human Gingival Fibroblasts and Mesenchymal Stem Cells. *Scientific Reports*, **5**, Article No. 16593. <https://doi.org/10.1038/srep16593>
- [31] Liu, L., Guo, S., Shi, W., Liu, Q., Huo, F., Wu, Y., *et al.* (2021) Bone Marrow Mesenchymal Stem Cell-Derived Small Extracellular Vesicles Promote Periodontal Regeneration. *Tissue Engineering Part A*, **27**, 962-976. <https://doi.org/10.1089/ten.tea.2020.0141>
- [32] Yamada, Y., Hara, K., Nakamura, S., Ueda, M., Ito, K. and Nagasaka, T. (2013) Minimally Invasive Approach with Tissue Engineering for Severe Alveolar Bone Atrophy Case. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, **42**, 260-263. <https://doi.org/10.1016/j.ijom.2012.07.003>
- [33] 刘茜, 周炜, 刘欢, 等. 骨髓间充质干细胞细胞膜片复合富血小板血浆促进种植体周围骨组织再生的研究[J]. 实用口腔医学杂志, 2018, 34(2): 206-210.
- [34] Jose, A., Coco, B.J., Milligan, S., Young, B., Lappin, D.F., Bagg, J., *et al.* (2010) Reducing the Incidence of Denture Stomatitis: Are Denture Cleansers Sufficient? *Journal of Prosthodontics*, **19**, 252-257. <https://doi.org/10.1111/j.1532-849x.2009.00561.x>
- [35] Du, Z., Wei, C., Cheng, K., Han, B., Yan, J., Zhang, M., *et al.* (2013) Mesenchymal Stem Cell-Conditioned Medium Reduces Liver Injury and Enhances Regeneration in Reduced-Size Rat Liver Transplantation. *Journal of Surgical Research*, **183**, 907-915. <https://doi.org/10.1016/j.jss.2013.02.009>