

牙源性干细胞外泌体调控牙髓再生的作用机制研究进展

陈跃敏

福建医科大学附属口腔医院 福建福州

【摘要】近年来，牙源性干细胞分泌的外泌体因其旁分泌调控作用成为研究热点。外泌体通过促进干细胞的增殖和迁移，诱导成牙本质细胞分化、血管网络重建及神经功能恢复，从而恢复牙髓生理功能。外泌体具有低免疫原性、无伦理争议及易储存等优势，但其临床应用仍面临分离技术标准化、最佳递送浓度及来源优化等挑战。因此，迫切需要对这些影响因素进行标准化和优化，以确保外泌体作为牙髓再生工具的最佳治疗效果，为口腔疾病治疗提供新策略。

【关键词】牙源性干细胞；外泌体；牙髓再生

【基金项目】福建省自然科学基金项目 2021J01800

【收稿日期】2025 年 5 月 23 日

【出刊日期】2025 年 6 月 25 日

【DOI】10.12208/j.ijcr.20250289

Advances in the regulatory mechanisms of dental-derived stem cell exosomes in pulp regeneration

Yuemin Chen

Affiliated Stomatological Hospital of Fujian Medical University, Fuzhou, Fujian

【Abstract】In recent years, exosomes secreted by dental-origin stem cells have become a research hotspot due to their paracrine regulatory functions. Exosomes promote the differentiation of odontoblasts, reconstruction of vascular networks, and restoration of neural functions, thereby restoring the physiological functions of dental pulp. Exosomes have advantages such as low immunogenicity, no ethical controversies, and ease of storage. However, their clinical application still faces challenges such as standardization of isolation techniques, optimization of delivery concentrations, and source optimization. Therefore, it is urgent to standardize and optimize these influencing factors to ensure the best therapeutic effect of exosomes as tools for dental pulp regeneration, providing new strategies for the treatment of oral diseases.

【Keywords】Dental-derived stem cells; Exosomes; Pulp regeneration

牙髓再生治疗被认为是治疗牙髓炎最有前景的策略，有望取代传统的根管治疗。随着牙髓干细胞（DPSCs）、人脱落乳牙牙髓干细胞（SHED）、根尖乳头干细胞（SCAP）等牙源性间充质干细胞（MSCs）相继被发现，越来越多的研究表明，MSC 移植可有效促进体内牙髓样组织再生^[1]。Huang 等人证实，将 DPSCs 和 SCAP 置于根管内并皮下植入小鼠体内，可诱导牙髓样组织形成，并伴有新牙本质沉积^[2]。随着对干细胞调控组织再生和修复机制的深入了解，研究人员已阐明了 MSCs 对牙髓再生的关键旁分泌作用。

据报道，来自骨髓间充质干细胞（BMMSCs）、脂肪间充质干细胞（AMSCs）和牙髓间充质干细胞的条件培养基（CM）可促进血管生成，并诱导牙髓干细胞（DPSCs）向成牙本质细胞分化^[3]。进一步的研究表明，间充质干细胞在促进血管生成和诱导组织再生方面的

作用主要取决于外泌体的多方面功能^[3]。因此，探索无需干细胞移植的牙髓再生新策略已成为再生牙髓病学的研究热点，越来越多的研究致力于应用外泌体来增强牙髓-牙本质复合体的再生潜能。

外泌体是几乎所有细胞分泌的纳米级细胞外囊泡，是细胞间通讯的关键介质^[4]。鉴于外泌体在运输包括核酸、蛋白质和脂质等各种生物分子方面的关键作用，其在再生医学中的潜在应用受到了广泛关注。关于外泌体用于牙髓再生的研究可追溯到 2016 年，当时 Huang 等人报道称，从经历成牙本质分化的牙髓干细胞中分离得到的外泌体在体外能显著促进牙髓干细胞向成牙本质细胞分化，并且在体内可诱导形成能大量表达成牙本质细胞相关蛋白的牙髓样组织，这首次证实了利用外泌体进行牙髓再生的可行性^[5]。

综上所述，本文聚焦于阐明外泌体调控牙髓再生

的作用和机制,以便为开发外泌体诱导的再生牙髓治疗策略奠定坚实基础,推动其临床转化。

1 外泌体在细胞增殖和迁移中的作用

牙髓再生治疗致力于牙髓-牙本质复合体的结构再生和功能重建,这涉及多个生物学过程,包括干细胞迁移与增殖、牙髓血管再生与神经再支配以及牙本质形成^[6]。干细胞的迁移和增殖启动了牙髓组织的再生与修复。当牙髓组织受损时,剩余健康组织中的 DPSCs 和根尖牙乳头干细胞 SCAP 等间充质干细胞会迁移至牙髓缺损处并迅速增殖,以补充干细胞的损失。研究已证实,外泌体可促进牙源性干细胞的迁移和增殖^[6]。正如 Ivica 等人所揭示的,牙髓组织分泌的外泌体可显著增强 BMMSCs 的增殖和迁移能力,这表明外泌体可招募根尖牙槽骨中的内源性 BMMSCs 至根管腔,以实现牙髓再生^[7]。进一步的研究表明,源自 DPSCs 的外泌体 (DPSC-Exo) 能够以剂量依赖的方式促进 DPSCs 的迁移,证实了 DPSC-Exo 在提高剩余健康牙髓组织中 DPSCs 的归巢潜能以及诱导内源性牙髓再生方面的关键作用。值得注意的是,先前的研究已阐明,基于外泌体,源自神经嵴的施万细胞可与 DPSCs 协同调节牙髓-牙本质复合体的再生与修复^[8,9]。一方面,源自施万细胞的外泌体可促进人牙髓细胞的增殖和多向分化^[9]。因此,施万细胞和 DPSCs 通过外泌体形成的正反馈机制进一步为增强 DPSCs 的生物学特性奠定了基础。

2 外泌体在成牙本质向分化中的作用

为实现结构和功能完整的牙髓-牙本质复合体再生,启动干细胞的多向分化潜能至关重要。当间充质干细胞被募集或植入牙髓损伤部位时,其主要任务之一是分化为成牙本质细胞并形成管状牙本质,以修复受损的牙齿硬组织,为重建牙髓保护屏障和恢复牙髓-牙本质复合体的生物学功能奠定基础。因此,诱导 MSCs 的成牙本质向分化已成为牙髓-牙本质复合体再生的关键任务之一。多项研究已证实,外泌体可促进干细胞的多向分化,因此其在牙髓再生方面具有广阔的应用前景^[10]。此前, Hu 等人在体外实验中揭示,成牙本质样分化的牙髓干细胞来源的外泌体可通过 TGF β 1/Smads 信号通路促进 DPSCs 的成牙本质向分化^[11]。与上述结果一致, Swanson 等人指出,牙髓干细胞来源的外泌体可在体外通过激活丝裂原活化蛋白激酶信号通路诱导 DPSCs 分化为成牙本质样细胞,显著促进牙本质涎磷蛋白、骨涎蛋白和血管内皮生长因子等成牙本质相关基因的表达,同时通过茜素红染色评估发现橙红色矿化结节的积累增加^[12]。此外,体内实验表明,

DPSCs-Exo 可显著促进新的管状牙本质的重建,并增加成牙本质样细胞的数量。值得注意的是,有报道称 DPSCs-Exo 还能极大地促进施万细胞中成牙本质相关标志物 (包括 DSPP、DMP1)、OCN 和 RUNX2 的 mRNA 表达水平,并显著促进红棕色钙结节的沉积^[8]。综上所述,上述结果表明 DPSC-Exo 在提高施万细胞和 DPSCs 的成牙本质能力方面具有巨大潜力。除 DPSCs-Exo 外, Zhuang 等人发现,在成骨诱导条件下,根尖牙乳头干细胞来源的外泌体 (SCAP-Exo) 可显著上调 BMMSCs 中 DSPP 的基因和蛋白表达水平,能够增强 BMMSCs 的成牙本质向分化和牙本质形成能力,从而有助于牙髓-牙本质复合体的再生^[13]。

3 外泌体在血管生成中的作用

丰富的血管网络可为再生牙髓提供充足的氧气和营养物质,并排出二氧化碳等代谢产物。因此,血管生成是决定牙髓-牙本质复合体再生成功的关键因素,也是恢复牙髓组织正常生理功能的先决条件。有研究报道, DPSCs-Exo 可在体外诱导人脐静脉内皮细胞 (HUVECs) 增殖,并促进血管样管状结构的形成,表现为环和节点数量、管长度明显增加,以及血管生成相关基因和蛋白 (如 VEGF 和 Ang-2) 的表达上调,这为体内促进血管形成和牙髓功能恢复奠定了基础^[14]。据 Zhang 等人报道,在牙周膜干细胞 (PDLSCs) 中应用抑制剂 GW4869 以减少外泌体分泌后,与 PDLSCs 共培养的 HUVECs 形成管状结构的能力显著受到抑制,同时网络、环和分支点的数量以及管长度显著减少。此外,血管生成标志物 CD31 和 VEGFA 的表达也大幅减弱,这证明 PDLSCs 可通过外泌体介导的途径促进 HUVECs 的血管生成^[15]。Xian 等人将牙髓细胞来源的外泌体 (DPC-Exo) 与 HUVECs 共培养,观察到血管网络的形成和管长度显著增加^[16]。相应地,进一步研究发现, VEGFA、VEGFR2 和 MMP-9 的 mRNA 水平以及 VEGFA、MMP-9 和 FGF-2 的蛋白表达水平均显著上调。在潜在分子机制方面,该研究揭示,给予 DPC-Exo 可显著增强 HUVECs 中 p38 MAPK 的磷酸化,从而通过激活 p38 MAPK 信号通路促进血管生成。根据 Wu 等人最近的报道,脱落乳牙牙髓干细胞聚集体来源的外泌体 (SA-Exo) 显著促进了 SHED 和 HUVECs 中新形成血管的管长度、节点、连接点和分支数量,以及血管生成相关标志物 (包括 VEGF、Ang 和 PDGF) 的表达,这表明 SA-Exo 不仅能促进 HUVECs 的血管生成潜能,还能直接增强 SHED 的内皮分化潜能^[17]。总体而言,这些研究结果表明,外泌体在增强牙髓血管再

生方面具有巨大潜力,这有利于牙髓-牙本质复合体再生的发展。

4 外泌体在神经再生中的作用

牙髓神经的再生和感觉功能的恢复对于完全重建牙髓-牙本质复合体至关重要。牙源性间充质干细胞和 SHED 均起源于颅神经嵴,是神经组织发育的前体细胞^[18]。因此,与其他来源的 MSCs 相比,这些牙源性干细胞在诱导牙髓神经再生方面显示出巨大潜力。已证实 DPSCs 可通过旁分泌机制,分泌神经生长因子、脑源性神经营养因子和胶质细胞源性神经营养因子来促进神经再生,从而表现出良好的神经保护作用^[19]。因此,有理由认为 DPSCs-Exo 具有促进神经再生和神经功能恢复的能力。根据 Mao 等人的研究,牙龈来源的间充质干细胞外泌体(GMSC-Exo)的局部递送在促进小鼠受损坐骨神经的轴突再生和功能恢复方面发挥了关键作用^[20]。尽管目前缺乏直接与外泌体促进牙髓神经再生的作用和机制相关的研究,但现有实验结果表明,牙源性干细胞分泌的外泌体在恢复牙髓神经功能方面具有巨大潜力。

与基于干细胞的牙髓再生相比,外泌体具有获取成本低、来源广泛、生物相容性好和安全性高等优势^[7]。在再生牙髓病学领域,外泌体已显示出巨大的治疗潜力,为牙髓再生治疗的发展和临床转化提供了强大动力。然而,必须指出的是,基于外泌体的牙髓再生治疗策略仍面临多重挑战和局限。首先,外泌体的均质化生产是阻碍其临床转化和应用的一个主要障碍,目前仍缺乏能够精确分离外泌体的方法。其次,适用于临床治疗的外泌体的最佳来源、浓度、亲代细胞培养环境、表征和修饰方法尚未明确。因此,迫切需要对这些影响因素进行标准化和优化,以确保外泌体作为牙髓再生工具的最佳治疗效果,实现安全有效的应用。

参考文献

- [1] Xie Z, Shen Z, Zhan P, et al. Functional Dental Pulp Regeneration: Basic Research and Clinical Translation. *Int J Mol Sci*. 2021. 22(16): 8991.
- [2] 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. *Tissue Eng Part A*. 2010. 16(2): 605-15.
- [3] Xuan K, Li B, Guo H, et al. Deciduous autologous tooth stem cells regenerate dental pulp after implantation into injured teeth. *Sci Transl Med*. 2018. 10(455): eaaf3227 [pii].
- [4] Li Y, Zhu Z, Li S, et al. Exosomes: compositions, biogenesis, and mechanisms in diabetic wound healing. *J Nanobiotechnology*. 2024. 22(1): 398.
- [5] Huang CC, Narayanan R, Alapati S, Ravindran S. Exosomes as biomimetic tools for stem cell differentiation: Applications in dental pulp tissue regeneration. *Biomaterials*. 2016. 111: 103-115.
- [6] Zou J, Mao J, Shi X. Influencing factors of pulp-dentin complex regeneration and related biological strategies. *Zhejiang Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*. 2022. 51(3): 350-361.
- [7] Ivica A, Ghayor C, Zehnder M, Valdec S, Weber FE. Pulp-Derived Exosomes in a Fibrin-Based Regenerative Root Filling Material. *J Clin Med*. 2020. 9(2): 491.
- [8] Li J, Ju Y, Liu S, Fu Y, Zhao S. Exosomes derived from lipopolysaccharide-preconditioned human dental pulp stem cells regulate Schwann cell migration and differentiation. *Connect Tissue Res*. 2021. 62(3): 277-286.
- [9] Li Z, Liang Y, Pan K, et al. Schwann cells secrete extracellular vesicles to promote and maintain the proliferation and multipotency of hDPCs. *Cell Prolif*. 2017. 50(4): e12353.
- [10] Abdik H, Avsar Abdik E, Hızlı Deniz AA, Taşlı PN, Şahin F. A Novel Virtue in Stem Cell Research: Exosomes and Their Role in Differentiation. *Adv Exp Med Biol*. 2019. 1144: 133-146.
- [11] Hu X, Zhong Y, Kong Y, Chen Y, Feng J, Zheng J. Lineage-specific exosomes promote the odontogenic differentiation of human dental pulp stem cells (DPSCs) through TGFβ1/smads signaling pathway via transfer of microRNAs. *Stem Cell Res Ther*. 2019. 10(1): 170.
- [12] Swanson WB, Gong T, Zhang Z, et al. Controlled release of odontogenic exosomes from a biodegradable vehicle mediates dentinogenesis as a novel biomimetic pulp capping therapy. *J Control Release*. 2020. 324: 679-694.
- [13] Zhuang X, Ji L, Jiang H, et al. Exosomes Derived from Stem Cells from the Apical Papilla Promote Dentine-Pulp Complex Regeneration by Inducing Specific Dentinogenesis. *Stem Cells Int*. 2020. 2020: 5816723.

- [14] Li B, Xian X, Lin X, et al. Hypoxia Alters the Proteome Profile and Enhances the Angiogenic Potential of Dental Pulp Stem Cell-Derived Exosomes. *Biomolecules*. 2022. 12(4): 575.
- [15] Zhang Z, Shuai Y, Zhou F, et al. PDLSCs Regulate Angiogenesis of Periodontal Ligaments via VEGF Transferred by Exosomes in Periodontitis. *Int J Med Sci*. 2020. 17(5): 558-567.
- [16] Xian X, Gong Q, Li C, Guo B, Jiang H. Exosomes with Highly Angiogenic Potential for Possible Use in Pulp Regeneration. *J Endod*. 2018. 44(5): 751-758.
- [17] Wu M, Liu X, Li Z, et al. SHED aggregate exosomes shuttled miR-26a promote angiogenesis in pulp regeneration via TGF- β /SMAD2/3 signalling. *Cell Prolif*. 2021. 54(7): e13074.
- [18] Chai Y, Jiang X, Ito Y, et al. Fate of the mammalian cranial neural crest during tooth and mandibular morphogenesis. *Development*. 2000. 127(8): 1671-9.
- [19] Luo L, He Y, Wang X, et al. Potential Roles of Dental Pulp Stem Cells in Neural Regeneration and Repair. *Stem Cells Int*. 2018. 2018: 1731289.
- [20] 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.
- 版权声明:** ©2025 作者与开放获取期刊研究中心 (OAJRC) 所有。本文章按照知识共享署名许可条款发表。
<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

**OPEN ACCESS**