

· 综述与专论 ·

# 人脱落乳牙牙髓干细胞治疗非口腔疾病的研究进展



扫描二维码  
查看原文

蒋志寒, 徐凌\*

**【摘要】** 人脱落乳牙牙髓干细胞 (SHEDs) 作为一类具有较强增殖能力且能够多向分化的牙源性干细胞, 易于获取且符合伦理要求, 在干细胞治疗中具有很大潜力。目前关于 SHEDs 在非口腔疾病中的治疗作用缺乏阐述, 本文就 SHEDs 在神经系统、消化系统、心血管系统、泌尿系统、免疫系统、内分泌系统及呼吸系统疾病中的最新治疗进展做一综述, 以期对 SHEDs 在非口腔疾病中的临床应用提供参考。

**【关键词】** 干细胞; 人脱落乳牙牙髓干细胞; 非口腔疾病; 综述

**【中图分类号】** R 329.24 **【文献标识码】** A DOI: 10.12114/j.issn.1007-9572.2022.0345

**【引用本文】** 蒋志寒, 徐凌. 人脱落乳牙牙髓干细胞治疗非口腔疾病研究进展 [J]. 中国全科医学, 2023, 26 (24): 3067-3073. DOI: 10.12114/j.issn.1007-9572.2022.0345. [www.chinagp.net]

JIANG Z H, XU L. Recent developments in stem cells from human exfoliated deciduous teeth in the treatment of non-oral diseases [J]. Chinese General Practice, 2023, 26 (24): 3067-3073.

## Recent Developments in Stem Cells from Human Exfoliated Deciduous Teeth in the Treatment of Non-oral Diseases

JIANG Zhihan, XU Ling\*

Department of Pulmonary and Critical Care Medicine, the Sixth People's Hospital Affiliated to Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200233, China

\*Corresponding author: XU Ling, Chief physician; E-mail: quanlingxu@163.com

**【Abstract】** Stem cells from human exfoliated deciduous teeth (SHEDs) are odontogenic stem cells with strong proliferation ability and multilineage differentiation potential. Due to their easy accessibility and limited ethical concerns, SHEDs have great potential in stem cell therapy. There is still a lack of literature on SHEDs in the treatment of non-oral diseases. This article reviews the latest developments in the use of SHEDs to treat diseases of the nervous, digestive, cardiovascular, urinary, immune, endocrine and respiratory systems. This review will inform the clinical application of SHEDs in non-oral diseases.

**【Key words】** Stem cells; Stem cells from human exfoliated deciduous teeth; Non oral diseases; Review

人脱落乳牙牙髓干细胞 (stem cells from human exfoliated deciduous teeth, SHEDs) 是来源于人脱落乳牙牙髓的一种间充质干细胞 (mesenchymal stem cells, MSCs), 是一种非造血多能干细胞, 于 2003 年由 MIURA 等<sup>[1]</sup>发现并命名。除 SHEDs 外, 牙源性干细胞还包括来源于成人恒牙牙髓的牙髓干细胞 (dental pulp stem cells, DPSCs)、牙周膜干细胞 (periodontal ligament stem cells, PDLSCs)、牙囊干细胞 (dental follicle stem cells, DFSCs)、根尖乳头干细胞 (stem cells from apical papilla, SCAPs) 和牙龈间充质干细胞 (gingival mesenchymal stem cells, GMSCs)<sup>[2]</sup>, 而人乳牙牙髓可通过非侵入性诊疗活动获得 (儿童自然脱落的

乳牙), 具有易于获取、高增殖能力、低免疫原性的特点, 符合伦理要求<sup>[3]</sup>, 故成为目前干细胞疗法研究中的热点。SHEDs 在口腔疾病中的应用已有诸多研究, 包括牙周再生<sup>[4]</sup>、牙髓再生<sup>[5]</sup>及颌面骨再生<sup>[6]</sup>等。此外, SHEDs 在非口腔疾病中的治疗作用正日益受到关注, 本文从 SHEDs 的生物学特性出发, 综述了 SHEDs 治疗神经系统、消化系统、心血管系统、泌尿系统、免疫系统、内分泌系统及呼吸系统等非口腔疾病的最新进展。

### 1 本文文献检索策略

计算机检索 PubMed、Embase、Web of Science、万方数据知识服务平台、维普网和中国知网 (CNKI) 数据库的相关文献, 检索时作者重点关注 2017—2022 年发表的文献。英文检索词包括 “stem cells from human exfoliated deciduous teeth” “dental follicle stem cells”, 中文检索词包括 “人脱落乳牙牙髓干细胞” “牙髓干细胞”, 同时追溯纳入相关文献的参考文献。纳入与本研究主题有关的各种体外研究、动物实验、临床试验等,

基金项目: 上海吴孟超医学科技基金 (JJHXM-2019038)

作者单位: 200233 上海市, 上海交通大学附属第六人民医院呼吸与危重症医学科

\*通信作者: 徐凌, 主任医师; E-mail: quanlingxu@163.com

本文数字出版日期: 2022-08-11

并排除重复发表和质量较差的文献。

## 2 SHEDs 的生物学特性

**2.1 细胞标记物** SHEDs 作为一类具有细胞增殖能力和多向分化潜能的非造血干细胞, 具有 MSCs 的细胞表型特征, 并表达多种细胞标记物, 包括 CD13、CD29、CD44、CD73、CD90、CD105、CD106、CD117、CD146、CD166、CD271、Stro-1 和 Stro-3, 但不表达造血干细胞标记物 CD34, 同时也不表达 CD3、CD8、CD11b、CD15、CD19、CD33、CD45、CD71 和 HLA-DR<sup>[7-8]</sup>。CD105 通常表达于内皮祖细胞, 而 CD146 为间充质干细胞的标志物, 有研究表明 SHEDs 比 DPSCs 表达更高水平的 CD105、CD146, 说明 SHEDs 可能具有更强的干细胞潜能<sup>[9]</sup>。

**2.2 干细胞潜能** 与骨髓间充质干细胞 (bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs) 相比, SHEDs 具有相似的免疫表型、更强的免疫应答作用<sup>[10]</sup>、增殖能力、干细胞潜能<sup>[11]</sup>。其在体外培养中可以传代 140 次以上, 远高于 BMSCs 的 30~50 次和 DPSCs 的 60~120 次<sup>[2]</sup>。与人脐带间充质干细胞相比, SHEDs 在增殖、迁移、促进神经突起生长和软骨分化方面表现出更好的能力<sup>[12]</sup>。SHEDs 还能在长期低温保存后存活并维持未分化状态, 移植后具有低免疫反应性<sup>[13]</sup>。有研究表明, 与 DPSCs 相比 SHEDs 表现出更强的神经和血管生成方面的潜力, 可能归因于 SHEDs 来源于儿童脱落乳牙, 具有其独特的不成熟性<sup>[14]</sup>, 这种不成熟性为其带来了更强的自我更新、增殖及多向分化能力<sup>[15]</sup>。有研究显示, SHEDs 作为来源于胚胎神经嵴的外胚层间充质干细胞, 不仅可分化为外胚层的成牙本质细胞、神经元、角膜上皮细胞、视网膜光感受器样细胞、表皮细胞, 还能分化为中胚层的脂肪细胞、软骨细胞、成骨细胞、内皮细胞、平滑肌细胞、成纤维细胞以及内胚层的肝系细胞、胰岛样细胞<sup>[2, 16-17]</sup>。SHEDs 的这些特点使其成为组织工程和细胞治疗领域中最有价值的干细胞来源。

## 3 SHEDs 在神经系统疾病上的应用

神经元的再生能力具有局限性, 神经元凋亡后难以再生, 继发的神经系统功能性损害常不可逆。而 SHEDs 因其神经嵴来源的特性, 可向神经源性细胞分化并分泌神经营养因子, 在神经系统疾病中的应用最为广泛。

在中枢神经系统疾病方面, 目前的动物研究显示 SHEDs 对阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD)<sup>[18]</sup>、帕金森病 (Parkinson's disease, PD)<sup>[19]</sup>、慢性脑缺血 (Chronic cerebral ischemia, CCI)<sup>[20]</sup>、多发性硬化症 (Multiple sclerosis, MS)<sup>[21]</sup>、缺血缺氧性脑病 (Hypoxic-Ischemic encephalopathy, HIE)、脊髓损伤<sup>[22-23]</sup> 有治疗作用。

目前对 PD 的研究较多, 已明确的机制有: SHEDs

经诱导形成多巴胺能神经元、旁分泌作用、免疫调节以及 SHEDs 的条件培养基 (conditioned medium from stem cells derived from human exfoliated deciduous teeth, SHED-CM) 及外泌体的治疗作用等<sup>[24]</sup>。WANG 等<sup>[25]</sup> 发现 SHEDs 可以在体外神经干细胞优化的培养基中被诱导形成神经样球体, 这些 SHEDs 衍生的球体与多种细胞因子共同孵育后可分化为包含特定多巴胺能神经元的细胞群。将这类细胞群通过注射移植入 6-羟多巴胺诱导的 PD 大鼠的纹状体, 有助于改善大鼠的行为障碍<sup>[26]</sup>。此外, 多项研究将 SHED-CM 移植至 PD 大鼠的纹状体中, 发现其可通过保护神经元免受 6-羟多巴胺的毒性损害以及加速周围神经突的生长, 从而对 PD 起到一定的治疗作用<sup>[27-28]</sup>。SHEDs 的外泌体也有类似作用<sup>[29]</sup>, 将其与 6-羟多巴胺诱导的多巴胺能神经元共培养, 可抑制神经元的凋亡。这些研究提示了 SHEDs 的神经保护作用。

除了分化为多巴胺能神经元外, SHEDs 还可以通过调节神经胶质细胞、旁分泌作用等促进脊髓损伤后的功能恢复。将大鼠于第 9 胸椎水平进行椎板切除术, 以破坏脊髓, 1 h 后将 SHEDs 注射于病灶部位, 相比于脊髓损伤组, SHEDs 治疗组损伤 1 周后的运动评定量表评分有显著改善, 并且持续至第 6 周<sup>[30]</sup>。这提示在神经损伤中 SHEDs 具有早期治疗效果。

亦有研究表明, 将 SHEDs 诱导为神经前体细胞, 并通过 Stoppini 法与听觉脑干切片共培养, 可上调 SHEDs 螺旋神经节神经元相关标志物的表达水平, 并出现细胞内钙振荡, 提示 SHEDs 对感音神经性听力损失有治疗潜力<sup>[31-32]</sup>。LI 等<sup>[33]</sup> 发现 SHEDs 具有分化成光感受器样细胞的潜力, 将诱导后的 SHEDs 或 SHED-CM 注射于视网膜色素变性小鼠的视网膜下腔, 可通过抗细胞凋亡作用改善视网膜电图反应及光感受器的变性程度, 并能够改变光感受器外节的结构, 故对视网膜变性有一定治疗作用。

通过对 SHEDs 的研究, 还可以从神经生物学角度解释某些神经系统疾病的发生、发展。自闭症谱系障碍是一种由于神经系统失调导致的发展障碍的统称。一项开展于日本的研究从 3 例患该病的儿童和 3 例正常儿童中获取 SHEDs, 将其分化为多巴胺能神经元, 结果显示来自患病儿童多巴胺能神经元的最大神经突长度和每个细胞的总分支数低于正常儿童, 可能与神经突内线粒体活性和分布减少以及细胞内线粒体数量减少有关<sup>[34]</sup>。另一项日本的研究发现从唐氏综合征患儿获取的 SHEDs 分化成多巴胺能神经元后同样表现出神经突分支形成的减少<sup>[35]</sup>。这些发现可能有助于改变早期自闭症谱系障碍及唐氏综合征患者的治疗方式。

在外周神经损伤方面, SHEDs 及其衍生物也展现

出了治疗潜力。外周神经损伤包括不同方法引起的坐骨神经损伤（糖尿病周围神经病变模型<sup>[36]</sup>、坐骨神经横断模型<sup>[37]</sup>）、面神经损伤<sup>[38]</sup>、喉上神经损伤<sup>[39]</sup>。SHEDs及其衍生物的移植途径主要为尾静脉注射或在病变处植入，其治疗作用主要是通过向施旺细胞分化、分泌神经营养因子、促进血管生成、免疫调节及促进M2型巨噬细胞形成等所致。

#### 4 SHEDs在消化系统疾病上的应用

多项研究发现SHEDs可分化为表达肝细胞特征的干细胞，在肝脏的慢性损伤及其再生中显示了治疗潜力，此外其对于肝脏急性期损伤也有改善作用。YUNIARTHA等<sup>[17]</sup>建立四氯化碳诱导的C57BL/6J小鼠慢性肝纤维化模型，通过脾静脉输注SHEDs转化形成的肝细胞样细胞（SHED-converted hepatocyte-like cells, SHED-Heps），使之通过脾静脉-门静脉系统进入肝脏，研究发现SHED-Heps可以整合入肝脏中，并诱导胆管细胞的生成，从而使肝内胆管系统再生，改善胆汁淤积；在体外培养中，SHED-Heps可在肿瘤坏死因子- $\alpha$ （tumor necrosis factors- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ ）的刺激下促进胆管生成，显示了SHEDs在肝脏再生中的潜力。TAKAHASHI等<sup>[40]</sup>将SHED-Heps形成的细胞球体通过手术移植到四氯化碳诱导的慢性肝纤维化小鼠左侧肝脏中，发现SHED-Heps不仅改善了移植侧的肝组织纤维化，对其他肝叶的纤维化同样有改善作用。由于四氯化碳可诱导肝脏中转化生长因子- $\beta$ 和TNF- $\alpha$ 的过度表达<sup>[41]</sup>，而转化生长因子- $\beta$ 和TNF- $\alpha$ 有增强肝细胞迁移的作用<sup>[42-43]</sup>，因此其他肝叶纤维化的改善可能是这些细胞因子刺激SHED-Heps进行了肝叶间的迁移所致。MUTO等<sup>[44]</sup>通过尾静脉注射SHED-CM至四氯化碳诱导的非酒精性肝炎小鼠模型中，发现小鼠外周血中肝酶水平显著下降，其机制可能与其抑制肝脏中的巨噬细胞活化有关。此外，该研究发现治疗后小鼠外周血中的三酰甘油和游离脂肪酸浓度降低，但未发现其对肝脏脂肪沉积的改善作用，故SHEDs及其衍生物在治疗脂肪肝方面的作用还有待进一步探讨。

在急性肝损伤方面，FUJIYOSHI等<sup>[45]</sup>通过让铜转运P型ATP酶突变的LEC大鼠接受铜过度负荷诱导形成暴发性肝功能衰竭，以模拟威尔森氏病（Wilson's disease, WD），之后通过脾静脉输注SHED-Heps，发现SHED-Heps可通过旁分泌作用减少氧化应激，延长LEC大鼠的寿命，这提示SHED-Heps对WD可能有治疗作用。ZHOU等<sup>[46]</sup>先予C57小鼠尾静脉注射SHEDs细胞，7d后应用刀豆蛋白A造模形成急性肝损伤，发现SHEDs可通过抑制核因子- $\kappa$ B通路介导的肝细胞凋亡减轻肝损伤。

目前已有的多项研究显示SHEDs在动物消化系统

疾病模型中发挥了重要治疗作用，能减轻急性肝损伤，改善肝纤维化，再生肝内胆管系统，关于消化系统其他器官，比如食管、胃、肠道等，鲜见SHEDs治疗作用的相关报道。

#### 5 SHEDs在心血管系统疾病上的应用

目前已有研究证实SHEDs的衍生物可以通过调节血管生成及抗炎等作用，在心肌缺血再灌注损伤中有治疗作用。

SHED-CM可增加人脐静脉内皮细胞的细胞活力，增加原代内皮细胞的迁移数量，诱导人脐静脉内皮细胞形成复杂管状结构。研究者进一步将大鼠降主动脉切片于含有SHED-CM的培养基中共同孵育，2周后发现其可以延长大鼠主动脉新生血管长度，提示SHED-CM可通过刺激原代内皮细胞增殖而促进血管生成<sup>[47]</sup>。另外2021年WU等<sup>[48]</sup>的研究发现SHEDs聚集体衍生的外泌体可通过表达miR-26a促进血管生成，而这与2022年LIU等<sup>[49]</sup>的研究结论相反，该研究发现SHEDs衍生的外泌体可通过表达miR-100-5p和miR-1246抑制血管生成，从而达到抗肿瘤作用。这可能与两者的培养方法和条件不同有关，前者通过SHEDs的聚集体产生，并在培养时加入了维生素C，而后者则是常规二维方式培养细胞。SHEDs衍生的外泌体在血管生成研究中的矛盾之处与近年来报道的MSCs衍生的外泌体对血管生成的双重作用相似。MSCs来源的外泌体可促进血管生成<sup>[50]</sup>、加快伤口愈合，但在一定条件下也可抑制血管形成<sup>[51]</sup>。因此，探究不同条件下干细胞外泌体的作用方向对于今后的临床应用至关重要。

YAMAGUCHI等<sup>[52]</sup>在缺血再灌注小鼠模型中研究了SHED-CM对心肌损伤的影响。小鼠心肌缺血再灌注后5min予尾静脉注射SHED-CM，结果表明SHED-CM可减少心肌梗死的面积、降低心肌中的细胞凋亡和炎症细胞因子〔主要是TNF- $\alpha$ 、白介素（IL-6）和IL- $\beta$ 〕水平，同时该研究发现SHED-CM对心肌细胞的抗凋亡作用强于骨髓源性干细胞的条件培养基或脂肪源性干细胞的条件培养基。

#### 6 SHEDs在泌尿系统疾病上的应用

目前已发现SHEDs通过发挥其抗炎作用在动物急性肾损伤和慢性肾病模型中均有治疗作用。

HATTORI等<sup>[53]</sup>通过夹闭小鼠左肾动脉和静脉以诱导肾缺血，形成急性肾损伤模型，之后将SHEDs或BMSCs分别注射入肾囊内，研究发现SHEDs组血清肌酐和血尿素氮水平显著低于对照组，而BMSCs无明显治疗作用。进一步研究发现，SHEDs组小鼠肾脏中的炎症细胞因子〔MIP-2、IL-1 $\beta$ 和单核细胞趋化蛋白-1（MCP-1）〕水平显著降低，而BMSCs组炎症细胞因子水平与对照组相似。一项对于糖尿病肾病模型小鼠的

研究显示,尾静脉注射 SHEDs 或 BMSCs 均能降低空腹血糖水平,但 SHEDs 治疗组较 BMSCs 治疗组血糖降低的持续时间更长,此外,SHEDs 还能抑制小鼠血脂的升高,并使尿白蛋白排泄减少、肾小球基底膜病变改善<sup>[54]</sup>。

### 7 SHEDs 在免疫系统疾病上的应用

SHEDs 具有低免疫反应性及免疫调节功能,在动物类风湿性关节炎、系统性红斑狼疮、干燥综合征及自身免疫性肝炎等疾病中有治疗作用。

ISHIKAWA 等<sup>[55]</sup>将 SHED-CM 通过尾静脉注射于抗 II 型胶原抗体诱导的类风湿性关节炎模型小鼠中,发现 SHED-CM 通过 MCP-1 和 ED-Siglec-9 的协同作用,诱导具有抗炎作用的 M2 巨噬细胞,从而达到抗炎作用,并通过下调 RANKL 受体的表达,抑制 RANKL 诱导的破骨细胞生成而显著减轻关节破坏、改善关节炎症状。因此,SHED-CM 有望成为一种新兴的抗炎、修复手段。YAMAHA 等<sup>[10]</sup>将 SHEDs 或 BMSCs 通过尾静脉输注到系统性红斑狼疮小鼠体内,结果与 BMSCs 相比,SHEDs 在降低 IL-17 水平方面效果更明显,SHEDs 组小鼠的抗 dsDNA IgG 和 IgM 以及 ANA 的血清水平较 BMSCs 组显著降低,同时血清肌酐水平下降,尿蛋白排泄减少。体外研究发现,将 SHEDs 与经过抗 CD3 特异性抗体处理的人单个核细胞共培养,激活的人单个核细胞能够在共培养系统中诱导部分 SHEDs 死亡。当使用 Transwell 共培养系统将 SHEDs 与人单个核细胞分离或使用抗 FasL 中和抗体处理后,SHEDs 未再显示细胞死亡,表明 Fas/FasL 通路可诱导 SHEDs 死亡,这也为后续如何增强 SHEDs 移植效力提供了思路。SHEDs 还可以通过影响 T 细胞达到免疫调节作用。YANG 等<sup>[56]</sup>发现尾静脉注射 SHEDs 可使小鼠唾液流速增加,且高于 BMSCs 组,从而改善干燥综合征的相关症状。这可能与 SHEDs 调节 Treg/Th17 平衡有关。而 SHEDs 通过降低 CD<sub>3</sub><sup>+</sup> 和 CD<sub>4</sub><sup>+</sup>T 细胞水平,减少 Th1 细胞分泌 TNF- $\alpha$  及干扰素  $\gamma$  等炎症因子,进而改善小鼠自身免疫性肝炎的肝脏损伤<sup>[57]</sup>。

SHEDs 一方面具有低免疫反应性,可以作用于机体而不产生排异反应,另一方面 SHEDs 可以通过诱导抗炎型巨噬细胞、影响 T 淋巴细胞、调节细胞因子水平等多种途径发挥强大的免疫调节作用。

### 8 SHEDs 在内分泌系统疾病上的应用

SHEDs 在内分泌系统疾病上的应用主要集中于糖尿病的相关治疗,其可通过改善胰岛  $\beta$  细胞功能,刺激胰岛素分泌等途径降低血糖水平。

KANAFI 等<sup>[58]</sup>将 SHEDs 衍生的胰岛细胞簇装在具有生物相容性的胶囊中,将其通过皮下移植到链脲佐菌素诱导的糖尿病小鼠中,发现 SHEDs 治疗组在 3~4 周内血糖恢复正常,且作用持续 >60 d。RAO 等<sup>[59]</sup>给 GK

大鼠提供高脂饮食形成 2 型糖尿病模型,之后尾静脉注射 SHEDs,观察 8 周,发现 SHEDs 可通过降低一系列糖代谢途径中的激酶来改善高血糖、胰岛素抵抗,减轻胰岛和肝损伤。

目前有 2 项注册临床研究与 SHEDs 治疗糖尿病相关。一项针对 1 型糖尿病,尚处于早期研究阶段,另一项针对 2 型糖尿病<sup>[60]</sup>,共纳入 24 例患者,在 42 d 的治疗期内,患者接受了 3 次 SHEDs 静脉输注,结果表明,SHEDs 可部分改善胰岛  $\beta$  细胞功能,改善接受胰岛素治疗的 2 型糖尿病患者的血糖水平,显著降低每日所需胰岛素剂量,其机制可能与 SHEDs 诱导分化成胰岛细胞簇有关。胰岛细胞簇是一类表达胰腺标志物的细胞簇,以葡萄糖依赖性方式分泌胰岛素和 C 肽<sup>[61]</sup>,从而起到降低血糖的作用。

### 9 SHEDs 在呼吸系统疾病上的应用

目前关于牙源性干细胞在呼吸系统疾病方面的研究较少,主要集中于急性肺损伤 (acute lung injury, ALI),且多使用的是 DPSCs。2018 年,苏晓磊等<sup>[62]</sup>采用脂多糖诱导大鼠肺泡巨噬细胞损伤的方法模拟 ALI 细胞模型,并与 DPSCs 来源的外泌体共同培养,发现后者对脂多糖诱导的 ALI 有改善作用,其机制可能与抑制 MAPK 和核因子  $\kappa$ B 信号通路的激活,从而降低炎症因子水平有关,不过目前还缺乏相关动物实验证据。2021 年,GENG 等<sup>[63]</sup>发现,与脐带血间充质干细胞相比,DPSCs 可以诱导人肺上皮细胞更好地分泌抗炎细胞因子,尤其是 IL-4 和 IL-10,而 DPSCs 的外泌体在下调 IL-6 和上调 IL-4 方面较 DPSCs 更显著。

关于 SHEDs 在呼吸系统疾病中的研究仅查找到 2 篇。2015 年,一项研究使用博来霉素诱导小鼠 ALI,然后尾静脉注射 SHEDs 或 SHED-CM,发现其可减轻小鼠肺损伤和体质量的下降,并提高存活率,且 SHEDs 和 SHED-CM 的治疗效果相似<sup>[64]</sup>,提示 SHEDs 介导的治疗效果大部分是通过旁分泌作用实现的。进一步研究发现,SHED-CM 可减弱博来霉素诱导的促炎反应,诱导抗炎 M2 型肺泡巨噬细胞的形成,产生抗炎/组织再生环境。此外通过调节 T 淋巴细胞,下调炎症因子水平及 IgE 水平,SHEDs 可改善小鼠的鼻部症状和组织炎症浸润,从而对过敏性鼻炎有一定治疗作用<sup>[65]</sup>。

### 10 展望

牙源性干细胞自发现以来就因为其高度增殖、多向分化、容易获取而备受关注。脱落乳牙作为一种更易获取且此前仅作为医疗废物的干细胞来源,有着更加广阔的应用前景。SHEDs 从脱落乳牙中获取,目前主要应用于口腔疾病的治疗中,如牙周组织、牙本质组织及颌骨的再生<sup>[66]</sup>,然而 SHEDs 在其他系统疾病中也有着治疗潜力,因为其与神经系统有着共同的胚胎发育起源,

SHEDs 在神经系统疾病的应用可能更有前景。

但目前的 SHEDs 相关研究结果主要来源于动物实验, 仍有许多临床应用问题亟待解决。首先在安全性方面, 虽然 SHEDs 具有低免疫反应性的特点, 且已有临床研究证实同种异体 SHEDs 移植可安全地用于 2 型糖尿病患者<sup>[60]</sup>, 其不良反应轻微, 仅表现为一过性发热 (11.11%)、疲劳 (4.17%)、皮疹 (1.39%), 但还需更多大型临床研究来证实。其次, 在培养条件上, 从脱落乳牙的细胞分离、培养到冷冻保存等方面, 均需要有严格的标准以及监管条例。最后, 在移植途径选择上, 目前主要为静脉输注或者注射于病灶周围 (如周围神经病变模型中将细胞植入两侧神经断端之间<sup>[37]</sup>, 急性肾损伤模型中将细胞注入肾囊<sup>[53]</sup>, 视网膜色素变性模型中将细胞注入视网膜下腔<sup>[33]</sup>), 而针对不同疾病, 干细胞移植途径选择上的差异性还需进一步研究。此外, 移植细胞的数量和移植次数、移植细胞的预处理、移植效力的提高<sup>[67]</sup>以及牙库的建设<sup>[68]</sup>均是今后临床应用中需要考虑的因素。

作者贡献: 蒋志寒、徐凌提出选题方向, 进行文章的构思及设计; 蒋志寒完成收集文献并整理, 撰写论文; 徐凌负责文章的质量控制及审阅修订, 对文章整体负责, 监督管理。

本文无利益冲突。

#### 参考文献

- [1] MIURA M, GRONTHOS S, ZHAO M R, et al. SHED: stem cells from human exfoliated deciduous teeth [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100 (10): 5807-5812. DOI: 10.1073/pnas.0937635100.
- [2] HAN Y Y, ZHANG L L, ZHANG C F, et al. Guiding lineage specific differentiation of SHED for target tissue/organ regeneration [J]. *Curr Stem Cell Res Ther*, 2021, 16 (5): 518-534. DOI: 10.2174/1574888X15666200929125840.
- [3] MARTINEZ SAEZ D, SASAKI R T, NEVES A D, et al. Stem cells from human exfoliated deciduous teeth: a growing literature [J]. *Cells Tissues Organs*, 2016, 202 (5/6): 269-280. DOI: 10.1159/000447055.
- [4] MA L, MAKINO Y, YAMAZA H, et al. Cryopreserved dental pulp tissues of exfoliated deciduous teeth is a feasible stem cell resource for regenerative medicine [J]. *PLoS One*, 2012, 7 (12): e51777. DOI: 10.1371/journal.pone.0051777.
- [5] YANG X T, MA Y, GUO W H, et al. Stem cells from human exfoliated deciduous teeth as an alternative cell source in bio-root regeneration [J]. *Theranostics*, 2019, 9 (9): 2694-2711. DOI: 10.7150/thno.31801.
- [6] SUI B, CHEN C, KOU X, et al. Pulp stem cell-mediated functional pulp regeneration [J]. *J Dent Res*, 2019, 98 (1): 27-35. DOI: 10.1177/0022034518808754.
- [7] SUCHÁNEK J, VISEK B, SOUKUP T, et al. Stem cells from human exfoliated deciduous teeth— isolation, long term cultivation and phenotypical analysis [J]. *Acta Medica (Hradec Kralove)*, 2010, 53 (2): 93-99. DOI: 10.14712/18059694.2016.66.
- [8] SHI X, MAO J, LIU Y. Pulp stem cells derived from human permanent and deciduous teeth: biological characteristics and therapeutic applications [J]. *Stem Cells Transl Med*, 2020, 9 (4): 445-464. DOI: 10.1002/sctm.19-0398.
- [9] WANG X, SHA X J, LI G H, et al. Comparative characterization of stem cells from human exfoliated deciduous teeth and dental pulp stem cells [J]. *Arch Oral Biol*, 2012, 57 (9): 1231-1240. DOI: 10.1016/j.archoralbio.2012.02.014.
- [10] YAMAZA T, KENTARO A, CHEN C, et al. Immunomodulatory properties of stem cells from human exfoliated deciduous teeth [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2010, 1 (1): 5. DOI: 10.1186/srct5.
- [11] KUNIMATSU R, NAKAJIMA K, AWADA T, et al. Comparative characterization of stem cells from human exfoliated deciduous teeth, dental pulp, and bone marrow-derived mesenchymal stem cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 501 (1): 193-198. DOI: 10.1016/j.bbrc.2018.04.213.
- [12] YANG C, CHEN Y, ZHONG L W, et al. Homogeneity and heterogeneity of biological characteristics in mesenchymal stem cells from human umbilical cords and exfoliated deciduous teeth [J]. *Biochimie Biol Cell*, 2020, 98 (3): 415-425. DOI: 10.1139/bcb-2019-0253.
- [13] LEE S H, LOOI C Y, CHONG P P, et al. Comparison of isolation, expansion and cryopreservation techniques to produce stem cells from human exfoliated deciduous teeth (SHED) with better regenerative potential [J]. *Curr Stem Cell Res Ther*, 2021, 16 (5): 551-562. DOI: 10.2174/1574888X15666200928110923.
- [14] SAKAI V T, ZHANG Z, DONG Z, et al. SHED differentiate into functional odontoblasts and endothelium [J]. *J Dent Res*, 2010, 89 (8): 791-796. DOI: 10.1177/0022034510368647.
- [15] CHHABRA R, RAO S M, KUMAR B M, et al. Characterization of stem cells from human exfoliated deciduous anterior teeth with varying levels of root resorption [J]. *J Clin Pediatr Dent*, 2021, 45 (2): 104-111. DOI: 10.17796/1053-4625-45.2.6.
- [16] MOHD NOR N H, BERAHIM Z, AZLINA A, et al. Identification of novel fibroblast-like cells from stem cells from human exfoliated deciduous teeth [J]. *Clin Oral Investig*, 2019, 23 (11): 3959-3966. DOI: 10.1007/s00784-019-02827-x.
- [17] YUNIARTHA R, YAMAZA T, SONODA S, et al. Cholangiogenic potential of human deciduous pulp stem cell-converted hepatocyte-like cells [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2021, 12 (1): 57. DOI: 10.1186/s13287-020-02113-8.
- [18] MITA T, FURUKAWA-HIBI Y, TAKEUCHI H, et al. Conditioned medium from the stem cells of human dental pulp improves cognitive function in a mouse model of Alzheimer's disease [J]. *Behav Brain Res*, 2015, 293: 189-197. DOI: 10.1016/j.bbr.2015.07.043.
- [19] GNANASEGARAN N, GOVINDASAMY V, MANI V, et al. Neuroimmunomodulatory properties of DPSCs in an in vitro model of Parkinson's disease [J]. *IUBMB Life*, 2017, 69 (9): 689-699. DOI: 10.1002/iub.1655.

- [20] ZHU S, MIN D Y, ZENG J H, et al. Transplantation of stem cells from human exfoliated deciduous teeth decreases cognitive impairment from chronic cerebral ischemia by reducing neuronal apoptosis in rats [J]. *Stem Cells Int*, 2020, 2020: 6393075. DOI: 10.1155/2020/6393075.
- [21] SHIMOJIMA C, TAKEUCHI H, JIN S J, et al. Conditioned medium from the stem cells of human exfoliated deciduous teeth ameliorates experimental autoimmune encephalomyelitis [J]. *J Immunol*, 2016, 196 (10): 4164–4171. DOI: 10.4049/jimmunol.1501457.
- [22] KITASE Y, SATO Y, UEDA K, et al. A novel treatment with stem cells from human exfoliated deciduous teeth for hypoxic-ischemic encephalopathy in neonatal rats [J]. *Stem Cells Dev*, 2020, 29 (2): 63–74. DOI: 10.1089/scd.2019.0221.
- [23] MATSUBARA K, MATSUSHITA Y, SAKAI K, et al. Secreted ectodomain of sialic acid-binding Ig-like lectin-9 and monocyte chemoattractant protein-1 promote recovery after rat spinal cord injury by altering macrophage polarity [J]. *J Neurosci*, 2015, 35 (6): 2452–2464. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.4088–14.2015.
- [24] KEMP K, DEY R, COOK A, et al. Mesenchymal stem cell-derived factors restore function to human frataxin-deficient cells [J]. *Cerebellum*, 2017, 16 (4): 840–851. DOI: 10.1007/s12311–017–0860–y.
- [25] WANG J S, WANG X, SUN Z L, et al. Stem cells from human-exfoliated deciduous teeth can differentiate into dopaminergic neuron-like cells [J]. *Stem Cells Dev*, 2010, 19 (9): 1375–1383. DOI: 10.1089/scd.2009.0258.
- [26] ZHANG N, LU X J, WU S C, et al. Intrastratial transplantation of stem cells from human exfoliated deciduous teeth reduces motor defects in Parkinsonian rats [J]. *Cytotherapy*, 2018, 20 (5): 670–686. DOI: 10.1016/j.jcyt.2018.02.371.
- [27] FUJII H, MATSUBARA K, SAKAI K, et al. Dopaminergic differentiation of stem cells from human deciduous teeth and their therapeutic benefits for Parkinsonian rats [J]. *Brain Res*, 2015, 1613: 59–72. DOI: 10.1016/j.brainres.2015.04.001.
- [28] CHEN Y R, LAI P L, CHIEN Y, et al. Improvement of impaired motor functions by human dental exfoliated deciduous teeth stem cell-derived factors in a rat model of Parkinson's disease [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21 (11): E3807. DOI: 10.3390/ijms21113807.
- [29] JARMALAVICIUTE A, TUNAITIS V, PIVORAITE U, et al. Exosomes from dental pulp stem cells rescue human dopaminergic neurons from 6-hydroxy-dopamine-induced apoptosis [J]. *Cytotherapy*, 2015, 17 (7): 932–939. DOI: 10.1016/j.jcyt.2014.07.013.
- [30] NICOLA F, MARQUES M R, ODORCYK F, et al. Stem cells from human exfoliated deciduous teeth modulate early astrocyte response after spinal cord contusion [J]. *Mol Neurobiol*, 2019, 56 (1): 748–760. DOI: 10.1007/s12035–018–1127–4.
- [31] GONMANEE T, SRITANAUDOMCHAI H, VONGSAVAN K, et al. Neuronal differentiation of dental pulp stem cells from human permanent and deciduous teeth following coculture with rat auditory brainstem slices [J]. *Anat Rec (Hoboken)*, 2020, 303 (11): 2931–2946. DOI: 10.1002/ar.24368.
- [32] GONMANEE T, THONABULSOMBAT C, VONGSAVAN K, et al. Differentiation of stem cells from human deciduous and permanent teeth into spiral ganglion neuron-like cells [J]. *Arch Oral Biol*, 2018, 88: 34–41. DOI: 10.1016/j.archoralbio.2018.01.011.
- [33] LI X X, YUAN X J, ZHAI Y, et al. Treatment with stem cells from human exfoliated deciduous teeth and their derived conditioned medium improves retinal visual function and delays the degeneration of photoreceptors [J]. *Stem Cells Dev*, 2019, 28 (22): 1514–1526. DOI: 10.1089/scd.2019.0158.
- [34] NGUYEN H T N, KATO H, MASUDA K, et al. Impaired neurite development associated with mitochondrial dysfunction in dopaminergic neurons differentiated from exfoliated deciduous tooth-derived pulp stem cells of children with autism spectrum disorder [J]. *Biochem Biophys Rep*, 2018, 16: 24–31. DOI: 10.1016/j.bbrep.2018.09.004.
- [35] PHAM T T M, KATO H, YAMAZA H, et al. Altered development of dopaminergic neurons differentiated from stem cells from human exfoliated deciduous teeth of a patient with Down syndrome [J]. *BMC Neurol*, 2018, 18 (1): 132. DOI: 10.1186/s12883–018–1140–2.
- [36] XIE J, RAO N Q, ZHAI Y, et al. Therapeutic effects of stem cells from human exfoliated deciduous teeth on diabetic peripheral neuropathy [J]. *Diabetol Metab Syndr*, 2019, 11: 38. DOI: 10.1186/s13098–019–0433–y.
- [37] 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. DOI: 10.1089/scd.2015.0104.
- [38] KANO F, MATSUBARA K, UEDA M, et al. Secreted ectodomain of sialic acid-binding ig-like lectin-9 and monocyte chemoattractant protein-1 synergistically regenerate transected rat peripheral nerves by altering macrophage polarity [J]. *Stem Cells*, 2017, 35 (3): 641–653. DOI: 10.1002/stem.2534.
- [39] TSURUTA T, SAKAI K, WATANABE J, et al. Dental pulp-derived stem cell conditioned medium to regenerate peripheral nerves in a novel animal model of dysphagia [J]. *PLoS One*, 2018, 13 (12): e0208938. DOI: 10.1371/journal.pone.0208938.
- [40] TAKAHASHI Y, YUNIARTHA R, YAMAZA T, et al. Therapeutic potential of spheroids of stem cells from human exfoliated deciduous teeth for chronic liver fibrosis and hemophilia A [J]. *Pediatr Surg Int*, 2019, 35 (12): 1379–1388. DOI: 10.1007/s00383–019–04564–4.
- [41] YUNIARTHA R, YAMAZA T, SONODA S, et al. Cholangiogenic potential of human deciduous pulp stem cell-converted hepatocyte-like cells [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2021, 12 (1): 57. DOI: 10.1186/s13287–020–02113–8.
- [42] DAL N E, AFAGH A, KANIT N, et al. TGF- $\beta$  1 promotes cell migration in hepatocellular carcinoma by suppressing REELIN expression [J]. *Gene*, 2020, 724: 143923. DOI: 10.1016/j.gene.2019.06.013.
- [43] KASTL L, SAUER S, BEISSBARTH T, et al. TNF- $\alpha$  stimulation enhances ROS-dependent cell migration via NF- $\kappa$ B activation in liver cells [J]. *Free Radic Biol Med*, 2014, 75 (Suppl 1):

- S32. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2014.10.765.
- [44] MUTO H, ITO T, TANAKA T, et al. Conditioned medium from stem cells derived from human exfoliated deciduous teeth ameliorates NASH via the Gut-Liver axis [J]. *Sci Rep*, 2021, 11 (1): 18778. DOI: 10.1038/s41598-021-98254-8.
- [45] FUJIYOSHI J, YAMAZA H, SONODA S, et al. Therapeutic potential of hepatocyte-like-cells converted from stem cells from human exfoliated deciduous teeth in fulminant Wilson's disease [J]. *Sci Rep*, 2019, 9 (1): 1535. DOI: 10.1038/s41598-018-38275-y.
- [46] ZHOU Y K, ZHU L S, HUANG H M, et al. Stem cells from human exfoliated deciduous teeth ameliorate concanavalin A-induced autoimmune hepatitis by protecting hepatocytes from apoptosis [J]. *World J Stem Cells*, 2020, 12 (12): 1623-1639. DOI: 10.4252/wjsc.v12.i12.1623.
- [47] KATO M, TSUNEKAWA S, NAKAMURA N, et al. Secreted factors from stem cells of human exfoliated deciduous teeth directly activate endothelial cells to promote all processes of angiogenesis [J]. *Cells*, 2020, 9 (11): E2385. DOI: 10.3390/cells9112385.
- [48] WU M L, LIU X M, LI Z H, et al. SHED aggregate exosomes shuttled miR-26a promote angiogenesis in pulp regeneration via TGF- $\beta$ /SMAD2/3 signalling [J]. *Cell Prolif*, 2021, 54 (7): e13074. DOI: 10.1111/cpr.13074.
- [49] LIU P P, ZHANG Q, MI J, et al. Exosomes derived from stem cells of human deciduous exfoliated teeth inhibit angiogenesis in vivo and in vitro via the transfer of miR-100-5p and miR-1246 [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2022, 13 (1): 89. DOI: 10.1186/s13287-022-02764-9.
- [50] QIU X Y, LIU J, ZHENG C X, et al. Exosomes released from educated mesenchymal stem cells accelerate cutaneous wound healing via promoting angiogenesis [J]. *Cell Prolif*, 2020, 53 (8): e12830. DOI: 10.1111/cpr.12830.
- [51] HO I A, TOH H C, NG W H, et al. Human bone marrow-derived mesenchymal stem cells suppress human glioma growth through inhibition of angiogenesis [J]. *Stem Cells*, 2013, 31 (1): 146-155. DOI: 10.1002/stem.1247.
- [52] YAMAGUCHI S, SHIBATA R, YAMAMOTO N, et al. Dental pulp-derived stem cell conditioned medium reduces cardiac injury following ischemia-reperfusion [J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 16295. DOI: 10.1038/srep16295.
- [53] HATTORI Y, KIM H, TSUBOI N, et al. Therapeutic potential of stem cells from human exfoliated deciduous teeth in models of acute kidney injury [J]. *PLoS One*, 2015, 10 (10): e0140121. DOI: 10.1371/journal.pone.0140121.
- [54] RAO N Q, WANG X T, XIE J, et al. Stem cells from human exfoliated deciduous teeth ameliorate diabetic nephropathy in vivo and in vitro by inhibiting advanced glycation end product-activated epithelial-mesenchymal transition [J]. *Stem Cells Int*, 2019, 2019: 2751475. DOI: 10.1155/2019/2751475.
- [55] ISHIKAWA J, TAKAHASHI N, MATSUMOTO T, et al. Factors secreted from dental pulp stem cells show multifaceted benefits for treating experimental rheumatoid arthritis [J]. *Bone*, 2016, 83: 210-219. DOI: 10.1016/j.bone.2015.11.012.
- [56] YANG N, LIU X M, CHEN X, et al. Stem cells from exfoliated deciduous teeth transplantation ameliorates Sjogren's syndrome by secreting soluble PD-L1 [J]. *J Leukoc Biol*, 2022, 111 (5): 1043-1055. DOI: 10.1002/JLB.6MA0921-752RR.
- [57] 朱凌肃. 脱落乳牙牙髓干细胞治疗小鼠自身免疫性肝炎的研究 [D]. 郑州: 郑州大学, 2019.
- [58] KANAFI M M, RAJESHWARI Y B, GUPTA S, et al. Transplantation of islet-like cell clusters derived from human dental pulp stem cells restores normoglycemia in diabetic mice [J]. *Cytotherapy*, 2013, 15 (10): 1228-1236. DOI: 10.1016/j.jcyt.2013.05.008.
- [59] RAO N Q, WANG X T, ZHAI Y, et al. Stem cells from human exfoliated deciduous teeth ameliorate type II diabetic mellitus in Goto-Kakizaki rats [J]. *Diabetol Metab Syndr*, 2019, 11: 22. DOI: 10.1186/s13098-019-0417-y.
- [60] LI W W, JIAO X, SONG J Y, et al. Therapeutic potential of stem cells from human exfoliated deciduous teeth infusion into patients with type 2 diabetes depends on basal lipid levels and islet function [J]. *Stem Cells Transl Med*, 2021, 10 (7): 956-967. DOI: 10.1002/ctm.20-0303.
- [61] GOVINDASAMY V, RONALD V S, ABDULLAH A N, et al. Differentiation of dental pulp stem cells into islet-like aggregates [J]. *J Dent Res*, 2011, 90 (5): 646-652. DOI: 10.1177/0022034510396879.
- [62] 苏晓磊, 汪坤, 刘月, 等. 牙髓干细胞来源外泌体对急性肺损伤的作用及机制研究 [J]. *军事医学*, 2018, 42 (2): 130-137. DOI: 10.7644/j.issn.1674-9960.2018.02.011.
- [63] GENG P P, ZHANG Y N, ZHANG H, et al. HGF-modified dental pulp stem cells mitigate the inflammatory and fibrotic responses in paraquat-induced acute respiratory distress syndrome [J]. *Stem Cells Int*, 2021, 2021: 6662831. DOI: 10.1155/2021/6662831.
- [64] WAKAYAMA H, HASHIMOTO N, MATSUSHITA Y, et al. Factors secreted from dental pulp stem cells show multifaceted benefits for treating acute lung injury in mice [J]. *Cytotherapy*, 2015, 17 (8): 1119-1129. DOI: 10.1016/j.jcyt.2015.04.009.
- [65] DAI Y Y, NI S Y, MA K, et al. Stem cells from human exfoliated deciduous teeth correct the immune imbalance of allergic rhinitis via Treg cells in vivo and in vitro [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2019, 10 (1): 39. DOI: 10.1186/s13287-019-1134-z.
- [66] 李晓霞, 方滕姣子, 余湜, 等. 人乳牙牙髓干细胞在干细胞治疗中的应用 [J]. *华西口腔医学杂志*, 2017, 35 (5): 533-537. DOI: 10.7518/hxkq.2017.05.017.
- [67] IWANAKA T, YAMAZA T, SONODA S, et al. A model study for the manufacture and validation of clinical-grade deciduous dental pulp stem cells for chronic liver fibrosis treatment [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2020, 11 (1): 134. DOI: 10.1186/s13287-020-01630-w.
- [68] ZALAF B R, BRINGEL M, JORGE P K, et al. A biobank of stem cells of human exfoliated deciduous teeth: overview of applications and developments in Brazil [J]. *Cells Tissues Organs*, 2020, 209 (1): 37-42. DOI: 10.1159/000506677.

(收稿日期: 2022-10-20; 修回日期: 2022-12-05)

(本文编辑: 赵跃翠)