

complicating colonic fistula successfully closed using the over-the-scope clip system[J]. Case Rep Gastroenterol, 2013,7(2):314-321.

[6] 朱维铭,李 宁.肠内营养[J].中国实用外科杂志,2001,21(8):506-510.

[7] 黎介寿.首选肠内营养的合理性[J].肠外与肠内营养,2013,20(6):321-323.

[8] 苏小林,徐王彦.鼻肠管及空肠营养性造口管早期肠内营养在上消化道肿瘤术后的临床应用比较分析[J].中国临床新医学,2012,5(8):750-753.

[9] Lallès JP. Intestinal alkaline phosphatase: novel functions and protective effects[J]. Nutr Rev, 2014,72(2):82-94.

[10] 黎介寿.肠内营养与肠屏障功能[J].肠外与肠内营养,2016,23(5):257-259.

[11] 张克俭,王远新,王晓娣,等.经胃镜快速放置空肠营养管[J].中华消化内镜杂志,2002,19(1):53.

[12] Tenenhaus M, Hansbrough JF, Zapata-Sirvent RL, et al. Supplementation of an elemental enteral diet with alanyl-glutamine decreases bacterial translocation in burned mice[J]. Burns, 1994,20(3):220-225.

[13] Blaser AR, Starkopf J, Kirsimägi Ü, et al. Definition, prevalence, and outcome of feeding intolerance in intensive care: a systematic review and meta-analysis[J]. Acta Anaesthesiol Scand, 2014,58(8):914-922.

[14] Schetz M, Casaer MP, Van den Berghe G. Does artificial nutrition improve outcome of critical illness? [J]. Crit Care, 2013,17(1):302.

[15] van Puffelen E, Vanhorebeek I, Joosten KFM, et al. Early versus late parenteral nutrition in critically ill, term neonates: a pre-planned secondary subgroup analysis of the PEPaNIC multicentre, randomised controlled trial [J]. Lancet Child Adolesc Health, 2018,2(7):505-515.

[16] Fizez T, Kerklaan D, Mesotten D, et al. Early versus late parenteral nutrition in critically ill children[J]. N Engl J Med, 2016,374(12):1111-1122.

[收稿日期 2020-04-24][本文编辑 余 军 吕文娟]

本文引用格式
汪 龙,麦 威,李 雷,等.三腔营养管在上消化道疾病治疗中的应用效果观察[J].中国临床新医学,2021,14(2):153-157.

论 著

人牙周膜干细胞条件培养液对 MC3T3-E1 细胞形态及增殖特性的影响

刘 焱, 赵晓霞, 王靖宇, 陈青宇, 仲 琳

基金项目:包头市医药卫生科技计划项目(编号:wsjj2019038)

作者单位:014060 内蒙古,包头医学院口腔医学院(刘 焱,陈青宇);010000 内蒙古,呼和浩特市第一医院神经内科(赵晓霞);014060 内蒙古,包头医学院第一附属医院口腔科(王靖宇,陈青宇,仲 琳)

作者简介:刘 焱(1984-),女,医学硕士,讲师,研究方向:牙周组织再生。E-mail:102012198@btmc.edu.cn

通讯作者:仲 琳(1982-),女,医学硕士,副主任医师,研究方向:牙周疾病的诊治与机制研究。E-mail:ddang_123@163.com

[摘要] **目的** 研究人牙周膜干细胞(hPDLSCs)-条件培养液(CM)对 MC3T3-E1 细胞形态及增殖特性的影响。**方法** 从健康前磨牙及第三磨牙的牙周膜(牙周韧带)组织分离 hPDLSCs 并进行培养,采用免疫荧光法检测所得细胞中波形丝蛋白(vimentin)、角蛋白(PCK)及早期间充质干细胞标志物 STRO-1 的表达,鉴定细胞来源。制备 hPDLSCs-CM 对 MC3T3-E1 细胞进行干预处理,比较干预组与对照组(未经 hPDLSCs-CM 处理)MC3T3-E1 细胞的形态特征和增殖能力。**结果** 免疫荧光染色显示,hPDLSCs 呈现 vimentin、STRO-1 阳性表达、PCK 阴性表达的特征。两组 MC3T3-E1 细胞均呈现长梭、多角的形态特征,贴壁生长。MTT 实验结果显示,两组 MC3T3-E1 细胞的数量及增殖活性均随培养时间的增长呈现上升趋势。在培养第 3 天、第 5 天和第 7 天,干预组 OD 值均显著大于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。细胞周期分析结果显示,干预组和对照组处于 $G_2/M + S$ 期的细胞比例分别为 $(31.43 \pm 0.59)\%$ 和 $(19.11 \pm 0.24)\%$,比较差异有统计学意义($t = 43.393$, $P = 0.000$)。**结论** hPDLSCs-CM 干预处理不影响 MC3T3-E1 细胞的形态特征,并可以增强其增殖能力。

[关键词] 人牙周膜干细胞; 条件培养液; MC3T3-E1 细胞; 细胞形态; 增殖

[中图分类号] R 787 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2021)02-0157-05
doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2021.02.09

Effects of conditioned medium of human periodontal ligament stem cells on cell morphology and proliferative characteristics of mouse embryonic osteoblasts cells *LIU Yan, ZHAO Xiao-xia, WANG Jing-yu, et al. School of Stomatology, Baotou Medical College, Inner Mongolia 014060, China*

[Abstract] **Objective** To study the effects of conditioned medium (CM) of human periodontal ligament stem cells (hPDLSCs) on cell morphology and proliferative characteristics of mouse embryonic osteoblasts (MC3T3-E1) cells. **Methods** The hPDLSCs were isolated from the pericementum (periodontal ligament) tissues of the healthy premolars and the third molars, and were cultured. Immunofluorescence was used to detect the expressions of vimentin, pan cytokeratin (PCK) and the early mesenchymal stem cell marker STRO-1 in the obtained cells to identify the source of the cells. The CM of hPDLSCs (hPDLSCs-CM) were prepared for the intervention treatment of MC3T3-E1 cells, and the morphological characteristics and proliferation ability of MC3T3-E1 cells were compared between the intervention group and the control group (without treatment of hPDLSCs-CM). **Results** Immunofluorescence staining showed that hPDLSCs showed the characteristics of vimentin and STRO-1 positive expressions, and PCK negative expression. The MC3T3-E1 cells in both groups showed the morphological characteristics of long spindles and polygons, and adherent growth. The results of methyl thiazolyl tetrazolium (MTT) experiment showed that the number and proliferation activity of MC3T3-E1 cells in the two groups showed an upward trend with the increase of culture time. On the 3rd, 5th and 7th day of culture, the OD value of the intervention group was significantly greater than that of the control group, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). The results of cell cycle analysis showed that the proportion of cells in $G_2/M + S$ phase in the intervention group and the control group were $(31.43 \pm 0.59)\%$ and $(19.11 \pm 0.24)\%$, respectively, and the difference was statistically significant ($t = 43.393, P = 0.000$). **Conclusion** Intervention with hPDLSCs-CM does not affect the morphological characteristics of MC3T3-E1 cells, and can enhance their proliferation ability.

[Key words] Human periodontal ligament stem cells (hPDLSCs); Conditioned medium (CM); Mouse embryonic osteoblasts (MC3T3-E1) cells; Cell morphology; Proliferation

牙周炎症会破坏牙周支持组织,若治疗不及时甚至会导致牙齿松动、脱落及口颌系统结构与功能受损^[1]。它还与多种全身性疾病,如冠心病、糖尿病、慢性呼吸系统疾病、胃炎以及高血压等的发生、发展密切相关^[2]。随着病程的进展,牙周炎症会引发牙槽骨细胞的一系列功能学变化,甚至导致细胞凋亡,这是牙齿丧失稳定性、咀嚼功能下降的最主要因素,因此,新生成骨对于牙周组织修复和再生尤为重要。有效治疗牙周炎症的关键是消除局部及全身刺激因素、控制感染,并使已丧失的牙周组织实现修复与再生^[3]。组织工程理论、材料和技术的不断发展给牙周支持组织再生带来了新的机遇和挑战^[4]。作为牙周组织工程研究中公认的首选种子细胞——人牙周膜干细胞(human periodontal ligament stem cells, hPDLSCs)具有良好的组织同源性、自我增殖活力和多向分化潜能^[5]。在适宜诱导条件下, hPDLSCs 可以形成牙槽骨-牙周膜-牙骨质复合体结构,实现真正意义上的牙周组织再生^[6]。然而,干细胞治疗存在着许多问题^[7]:移植后生存能力降低;潜在的致癌、致畸风险;包装、转运、贮存及治疗方法缺乏统一化、标准化等。来源于间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)的条件培养基(conditioned medium, CM)富含

其旁分泌的生物活性因子,且规避了干细胞移植的各种风险,是替代干细胞治疗的理想方案^[8,9]。本研究通过酶消化组织块法获取原代 hPDLSCs 进行培养,鉴定细胞来源后制备 hPDLSCs-CM。选用具有单一定向成骨分化生物学特性的小鼠胚胎成骨细胞前体细胞 MC3T3-E1 以 hPDLSCs-CM 对其进行干预,探讨干预组和常规培养组的细胞形态特征及增殖能力的改变情况,为其在牙周组织工程的应用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料和仪器 选取 16~18 周岁因正畸治疗需拔除的健康前磨牙及第三磨牙 52 颗,由包头医学院第一附属医院口腔科提供。所有牙无龋坏、无牙髓及根尖周病变,无牙周疾病,无黏膜疾病。所有纳入个体无系统疾病。患者知情同意并签署同意书。DMEM 培养基(Hyclon,美国);胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)(Hyclon,美国);0.25% 胰蛋白酶-乙二胺四乙酸(ethylene diamine tetraacetic acid, EDTA)(Hyclon,美国);青霉素(河北石家庄华北制药);链霉素(河北石家庄华北制药);I 型胶原酶(Sigma,美国);小鼠抗人角蛋白(pan cytokeratin, PCK)、小鼠抗人波形丝蛋白(vimentin)、小鼠抗人 STRO-1 单克

隆抗体(Dako, 丹麦);羊抗小鼠四甲基异硫氰酸罗丹明标记的免疫球蛋白 G(immunoglobulin G-tetramethyl rhodamine isothiocyanate, IgG-TRITC)荧光二抗、荧光染料 Hoechst33258(Sigma, 美国);二甲基亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO)、四甲基偶氮唑盐(methyl thiazolyl tetrazolium, MTT)、细胞周期与细胞凋亡检测试剂盒(碧云天)。倒置相差显微镜及照相系统(Olympus, 日本);荧光显微镜(BX61 + DP-71, Olympus, 日本);SpectraMax M2 酶联免疫检测仪(Molecular Devices, 美国);FACSCanto II 流式细胞仪(BD, 美国)。

1.2 酶消化组织块法获取 hPDLSCs 并制备 hPDLSCs-CM 对待拔牙体周围组织以 75% 乙醇充分消毒后, 拔除牙齿, 离体牙立刻置于含高倍双抗的 DMEM 培养基, 送至超净台。采用磷酸缓冲盐溶液(phosphate buffer saline, PBS)充分冲洗根面 3 ~ 5 次后刮取根中 1/3 的牙周膜, 修剪为约 1 mm³ 大小的组织块, 置于 3 mg/ml 的 I 型胶原酶溶液中, 37 °C 条件下作用 1 h, 离心弃上清, 以含 10% FBS 的 DMEM 培养液吹匀所得沉淀, 平铺于培养皿底部, 置 37 °C、5% CO₂ 细胞培养箱中进行培养。培养 2 d 后予首次全量换液, 后每 3 d 换液 1 次。当细胞长至铺满培养皿底部 70% ~ 80% 时进行消化、传代。当第 3 代 hPDLSCs 长满皿底约 80% 时, 在无血清培养基条件下继续培养 24 h 后收集上清, 即为 hPDLSCs-CM, 备用。

1.3 免疫荧光染色法检测 vimentin、PCK 及 STRO-1 的表达情况 制备 hPDLSCs 的细胞爬片, 应用免疫荧光染色技术检测细胞中 vimentin、PCK 和 STRO-1 的表达情况。PBS 漂洗后, 以预冷的 4% 多聚甲醛固定细胞 30 min, 1% 牛血清白蛋白(albumin from bovine serum, BSA)封闭 30 min, 加入特异性一抗, 孵育过夜。次日以 PBS 冲洗 2 ~ 3 次, 避光加入二抗孵育 1 h, 以 Hoechst33258 对细胞核进行复染 5 min, 甘油封片、标记, 镜下观察 vimentin、PCK 及 STRO-1 的表达情况。

1.4 MC3T3-E1 细胞的培养与干预 通过国家实验细胞资源共享服务平台购入 MC3T3-E1 细胞系, 常规培养、传代, 选取第 4 代生长旺盛的 MC3T3-E1 细胞用于后续干预实验。其中, 干预组 MC3T3-E1 细胞在含 50% hPDLSCs-CM + 50% 常规 DMEM 培养液(DMEM 培养液 + 10% FBS)条件下进行培养; 对照组在常规 DMEM 培养液中进行培养。

1.5 不同处理组 MC3T3-E1 细胞的增殖能力检测 取生长状态良好的干预组和对照组 MC3T3-E1 细胞, 以 2×10^4 cells/cm² 密度接种于 96 孔板中, 每孔 100 μ l,

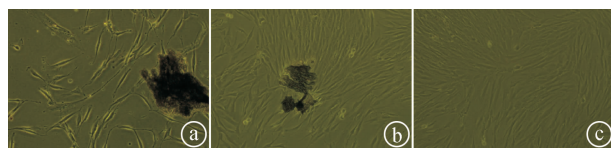
每组设 5 个重复孔。按各组培养条件继续培养 1、3、5、7 d, 培养结束后, 每个孔加 20 μ l MTT 溶液, 37 °C、5% CO₂ 条件下继续孵育 4 h, 吸弃上清后再向各孔加入 150 μ l DMSO, 振荡 10 ~ 15 min。采用 SpectraMax M2 酶联免疫检测仪测定 490 nm 波长处各孔吸光度值(OD 值)。

1.6 不同处理组 MC3T3-E1 细胞的细胞周期检测 分别收集干预组和对照组的 MC3T3-E1 各约 3×10^6 个, 制成单细胞悬液, 离心后加入 70% 乙醇吹打充分混匀, 4 °C 过夜, 每组设 5 个重复管。次日离心后吸弃乙醇上清, 避光下各加入 50 μ g/ml 的碘化丙锭 1 ml, 4 °C 环境下染色 30 min, 通过 200 目尼龙筛网, 经 FACSCanto II 流式细胞仪测定两组 MC3T3-E1 细胞的细胞周期。

1.7 统计学方法 应用 SPSS17.0 统计软件进行数据分析, 计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 组间比较采用成组 *t* 检验。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

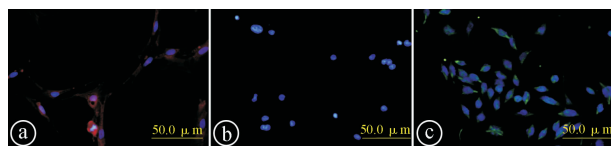
2 结果

2.1 hPDLSCs 的形态观察及 vimentin、PCK 及 STRO-1 的表达情况 原代培养 hPDLSCs 14 d 可见细胞以组织块为中心, 呈环绕、散在分布, 细胞形态为长梭形或多边形、胞体丰满, 贴壁生长(见图 1①)。培养 21 d 后, 细胞增多, 可达 80% 汇合, 形态均一, 呈放射状、旋涡状紧密排列于组织块周围(见图 1②)。传代后, 细胞的形态特征与原代相同, 呈成纤维细胞样长梭、多角形特征, 束状整齐排布(见图 1③)。经免疫荧光染色可见 hPDLSCs 中 vimentin 阳性表达, 胞浆红染, 胞核蓝染(见图 2①); PCK 阴性表达, 胞浆未被染色, 仅见胞核蓝染(见图 2②)。提示 hPDLSCs 为间充质来源, 未有上皮细胞污染。STRO-1 阳性表达, 胞浆绿染, 胞核蓝染(见图 2③)。



①原代培养 14 d; ②原代培养 21 d; ③传代培养的 hPDLSCs

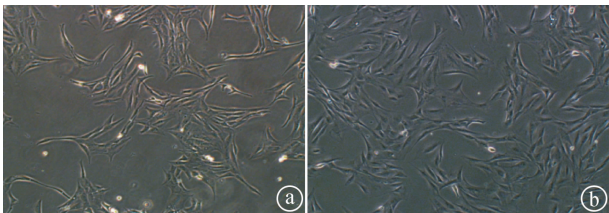
图 1 倒置相差显微镜观察 hPDLSCs 所见($\times 100$)



①vimentin 表达阳性, 胞浆红染, 胞核蓝染; ②PCK 表达阴性, 胞核蓝染; ③STRO-1 表达阳性, 胞浆绿染, 胞核蓝染

图 2 荧光显微镜观察 hPDLSCs 的细胞特异性标志物所见(免疫荧光染色, $\times 400$)

2.2 两组 MC3T3-E1 细胞的形态观察结果 镜下可见干预组和对照组细胞的形态一致、均为长梭形或多角形,细胞呈“漩涡状”紧密排列,CM 处理组的细胞数量较对照组明显增多。见图 3。



①CM 处理组; ②对照组

图3 倒置相差显微镜观察两组 MC3T3-E1 细胞形态所见(×100)

2.3 两组 MC3T3-E1 细胞的增殖能力比较 两组 MC3T3-E1 细胞的数量及增殖活性均随培养时间的增长呈现上升趋势。在培养第 3 天、第 5 天和第 7 天,干预组 OD 值均显著大于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

表1 两组 MC3T3-E1 细胞的增殖能力比较[$n=5,(\bar{x}\pm s),OD$ 值]

组 别	第 1 天	第 3 天	第 5 天	第 7 天
干预组	0.23 ± 0.02	0.57 ± 0.03	0.74 ± 0.03	1.04 ± 0.05
对照组	0.25 ± 0.04	0.34 ± 0.06	0.58 ± 0.02	0.86 ± 0.06
<i>t</i>	0.896	7.628	9.923	5.087
<i>P</i>	0.397	0.000	0.000	0.001

2.4 两组 MC3T3-E1 细胞的细胞周期情况 干预组和对照组处于 G_0/G_1 期的细胞比例分别为 $(65.50 \pm 0.28)\%$ 和 $(78.82 \pm 0.86)\%$,两组比较差异有统计学意义($t = 32.943, P = 0.000$)。两组处于 $G_2/M + S$ 期的细胞比例分别为 $(31.43 \pm 0.59)\%$ 和 $(19.11 \pm 0.24)\%$,两组比较差异有统计学意义($t = 43.393, P = 0.000$)。说明 hPDLSCs-CM 更能促进 MC3T3-E1 进入 DNA 合成期,发生细胞分裂、加速增殖。见图 4。

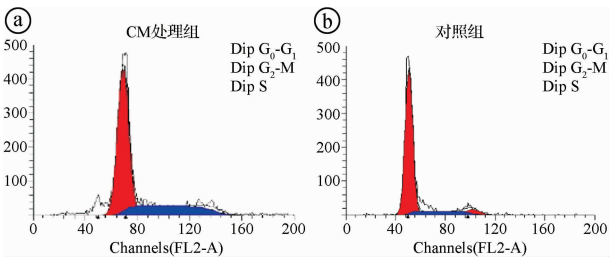


图4 流式细胞仪检测两组细胞周期结果图

3 讨论

3.1 《全国第四次口腔健康流行病学调查报告》显示,我国成人组和老年组的牙周健康率均低于 10%,55~64 岁年龄段人群的牙周健康率更是仅为 5%,这说明牙周病的防治已成为亟待解决的口腔健康问题。在控制感染的同时获得牙周支持组织的再生、

重建是牙周病治疗的终极目标。牙周治疗可以有效清除致病菌,延缓、阻止牙周炎的进展,但受制于机体修复的自限性,病变区域难以获得牙周组织的新生^[10]。引导组织再生技术虽然可以获得一定的牙周附着和骨内缺损修复,但目前仍存在易形成长结合上皮、再生硬组织的功能较差、手术适应证窄、生物膜降解时易塌陷等问题^[11],对于牙周组织的正常结构和功能的构建,远未达到医师和患者所期望的理想结果。

3.2 相较于传统治疗方法,组织工程技术利用干细胞的定向分化潜能发挥修复作用,给牙周组织修复和再生提出了新思路。有研究^[12]通过体内示踪植入的 MSCs 发现,仅有 <1% 的干细胞归巢并定植于病变缺损区发挥促进组织再生的作用,而绝大多数的 MSCs 仅附着于待修复组织的表面,这说明直接发挥生物学功能、参与组织再生和修复的主要细胞并不是 MSCs。另有研究^[13]表明,比起“分化、替代受损细胞”,再生过程中移植的干细胞主要通过旁分泌机制释放多种生物活性分子(如趋化因子、生长因子等),从而构建、优化局部微环境,趋化病变周围的健康干细胞/祖细胞迁徙至损伤部位进行增殖、分化,减少受损细胞发生凋亡和炎症反应,促进组织新生血管,并可通过调节细胞免疫功能等多重效应诱导组织再生。Osugi 等^[14]将人 MSCs-CM 作用于小鼠颅骨缺损模型,经 CT 检查发现,干预后颅骨骨量生成增多;同时体内细胞示踪技术发现,经 MSCs-CM 处理后被标记的小鼠 MSCs 迁移到病变缺损区的细胞量显著增多,并能检测到明显的血管新生。上述研究结果均表明 MSCs-CM 可以调动内源性 MSCs 的归巢,并能正向调节血管新生和新骨形成。

3.3 本研究通过酶消化组织块法获得 hPDLSCs,并经免疫荧光染色证实所得细胞呈现 vimentin 阳性表达、PCK 阴性表达的状态,说明其来源于间充质,而非上皮来源。目前尚无明确的研究结论给出一种或几种特殊的 hPDLSC 标志物。2004 年,Seo 等^[5]最早成功分离获得 hPDLSCs,并使用早期 MSCs 的标志物 STRO-1 等作为其标志物。本研究也发现所得 hPDLSCs 呈现 STRO-1 阳性表达,以此验证细胞来源。

3.4 MC3T3-E1 细胞具有单一定向成骨分化的各种生物学特性,因而被广泛应用于成骨相关的体外细胞实验研究中^[15]。MC3T3-E1 细胞形态符合成纤维细胞样特性,为长梭形或多角形,生长特性为贴壁生长。经 hPDLSCs-CM 干预作用后,MC3T3-E1 细胞形态与常规培养组的细胞形态一致,均为长梭形

或多角形,说明 hPDSCs-CM 不会导致 MC3T3-E1 细胞形态特征发生改变。类似结果在许多干细胞条件培养基的研究中被证实^[7,14],这可能与 MSCs 的旁分泌功能密切相关。MSCs 生长过程中会将一些活性物质,如生长因子、血管生成因子、激素、细胞因子、细胞外基质蛋白、细胞外基质蛋白酶和激素等分泌到培养环境中,这些活性物质不仅对维持干细胞自身的未分化状态和存活具有关键作用,还可以影响其他细胞的生长和(或)功能,保持其原有的典型的细胞形态,且不会明显改变细胞体积^[16]。细胞增殖能力是反映生物学活性的重要指标之一,组织的生长、修复与重建都需要依靠细胞的增殖来完成^[17]。本研究通过 MTT 法和细胞周期分析检测 hPDSCs-CM 对 MC3T3-E1 细胞增殖活力的影响,结果显示,hPDSCs-CM 干预可促进 MC3T3-E1 细胞增殖,且可正向促进 MC3T3-E1 细胞进入 DNA 合成期,加速细胞发生有丝分裂。类似结果也在其他的体内、外实验中得以证实。Hendudari 等^[18]发现联合骨髓 MSCs-CM 与激光有利于人皮肤成纤维细胞在高糖培养基中的生长。Nagata 等^[19]将牙周膜干细胞 CM 植入大鼠牙周缺损组织,获得了较好的牙周组织再生,并且缺损的再生效果与条件培养液的浓度显著相关。这些效应与 MSCs-CM 的趋化性能、免疫调节功能、细胞生长支持功能、抗细胞凋亡及血管生成功能等相关,但具体的机制尚无定论,有待进一步研究。

综上所述,本实验证实了 hPDSCs-CM 干预可在不改变 MC3T3-E1 细胞形态特征的情况下增强其增殖能力。为研究干细胞衍生物 CM 应用于牙周疾病及修复骨组织缺损的临床治疗提供了参考依据。但是,本研究对于具体干细胞培养液的内容物质没有进行深入检测,后续实验还将进一步在体外细胞水平及牙周炎的动物模型中验证 hPDSCs-CM 对于成骨效应所发挥的作用。

参考文献

- [1] 孟焕新. 2018 年牙周病和植体周病国际新分类简介[J]. 中华口腔医学杂志, 2019, 54(2): 73-78.
- [2] Linden GJ, Lyons A, Scannapieco FA. Periodontal systemic associations: review of the evidence[J]. J Clin Periodontol, 2013, 40(4 Suppl): S8-S19.
- [3] Shaikh MS, Ullah R, Lone MA, et al. Periodontal regeneration: a bibliometric analysis of the most influential studies[J]. Regen Med, 2019, 14(12): 1121-1136.
- [4] Liu H, Peng H, Wu Y, et al. The promotion of bone regeneration by nanofibrous hydroxyapatite/chitosan scaffolds by effects on integrin-BMP/Smad signaling pathway in BMSCs[J]. Biomaterials, 2013, 34(18): 4404-4417.

- [5] Seo BM, Miura M, Gronthos S, et al. Investigation of multipotent postnatal stem cells from human periodontal ligament[J]. Lancet, 2004, 364(9429): 149-155.
- [6] Yamada Y, Ueda M, Hibi H, et al. A novel approach to periodontal tissue regeneration with mesenchymal stem cells and platelet-rich plasma using tissue engineering technology: a clinical case report[J]. Int J Periodontics Restorative Dent, 2006, 26(4): 363-369.
- [7] Murray IR, Corselli M, Petrigliano FA, et al. Recent insights into the identity of mesenchymal stem cells: implications for orthopaedic applications[J]. Bone Joint J, 2014, 96-B(3): 291-298.
- [8] Vizoso FJ, Eiro N, Cid S, et al. Mesenchymal stem cell secretome: toward cell-free therapeutic strategies in regenerative medicine[J]. Int J Mol Sci, 2017, 18(9): 1852.
- [9] Veneruso V, Rossi F, Vilella A, et al. Stem cell paracrine effect and delivery strategies for spinal cord injury regeneration[J]. J Control Release, 2019, 300: 141-153.
- [10] 赵庆扬, 李建民, 张晓东, 等. 牙周基础治疗影响慢性牙周炎伴咬合创伤患牙转归的临床分析[J]. 中国临床新医学, 2017, 10(5): 437-439.
- [11] Aichelmann-Reidy ME, Reynolds MA. Predictability of clinical outcomes following regenerative therapy in intrabony defects[J]. J Periodontol, 2008, 79(3): 387-393.
- [12] Han J, Menicanin D, Gronthos S, et al. Stem cells, tissue engineering and periodontal regeneration[J]. Aust Dent J, 2014, 59(Suppl 1): 117-130.
- [13] Park SR, Kim JW, Jun HS, et al. Stem cell secretome and its effect on cellular mechanisms relevant to wound healing[J]. Mol Ther, 2018, 26(2): 606-617.
- [14] Osugi M, Katagiri W, Yoshimi R, et al. Conditioned media from mesenchymal stem cells enhanced bone regeneration in rat calvarial bone defects[J]. Tissue Eng Part A, 2012, 18(13-14): 1479-1489.
- [15] Arai M, Shibata Y, Pugdee K, et al. Effects of reactive oxygen species (ROS) on antioxidant system and osteoblastic differentiation in MC3T3-E1 cells[J]. IUBMB Life, 2007, 59(1): 27-33.
- [16] 邱纪玲, 王晓彤, 周灏雯, 等. 间充质干细胞条件培养液修复多种疾病损伤的潜能[J]. 中国组织工程研究, 2019, 23(29): 4743-4748.
- [17] 许艳, 刘如明, 王诺鑫, 等. 干细胞衰老分子机制的研究进展[J]. 实用医学杂志, 2019, 35(12): 1891-1894.
- [18] Hendudari F, Piryaee A, Hassani SN, et al. Combined effects of low-level laser therapy and human bone marrow mesenchymal stem cell conditioned medium on viability of human dermal fibroblasts cultured in a high-glucose medium[J]. Lasers Med Sci, 2016, 31(4): 749-757.
- [19] Nagata M, Iwasaki K, Akazawa K, et al. Conditioned medium from periodontal ligament stem cells enhances periodontal regeneration[J]. Tissue Eng Part A, 2017, 23(9-10): 367-377.

[收稿日期 2020-09-18][本文编辑 余军 吕文娟]

本文引用格式

刘焱, 赵晓霞, 王靖宇, 等. 人牙周膜干细胞条件培养液对 MC3T3-E1 细胞形态及增殖特性的影响[J]. 中国临床新医学, 2021, 14(2): 157-161.