

· 综述 ·

人多能干细胞在口腔组织工程中的研究进展

秦丽颖^{1#} 王琳^{1#} 钱澄艺¹ 周平^{2*} 郭艳玲^{1*}

(1甘肃卫生职业学院口腔医学院, 兰州 730207; 2兰州大学口腔医学院(医院), 兰州 730000)

摘要 肿瘤、外伤及细菌感染等因素常导致牙体缺损、牙列缺失及颌面部骨与软组织缺损等疾病。人多能干细胞(hPSCs)以其强大的自我更新能力和多向分化潜能, 为口腔组织工程实现组织结构与生物功能的同步重建提供了新的可能。该文围绕hPSCs在全牙、牙根、牙釉质、牙髓牙本质复合体、牙周组织、颌面部骨组织及口腔软组织再生中的应用进展进行综述。首先, 简要回顾了组织工程中干细胞的选择。随后, 系统梳理了hPSCs在上述方向中的研究现状, 重点归纳了其诱导分化策略、组织工程构建模式及体内再生效果, 详细阐述了颌面部骨组织、牙髓牙本质复合体再生相关内容, 同时梳理了全牙、牙釉质、口腔软组织再生现存的技术瓶颈。最后, 明确了hPSCs在口腔组织工程中的局限性并展望了其前景, 以为hPSCs在口腔再生医学中的进一步研究与应用提供参考。

关键词 人多能干细胞; 人诱导多能干细胞; 牙再生; 骨组织工程; 软组织再生

Research Progress of Human Pluripotent Stem Cells in Oral Tissue Engineering

QIN Liying^{1#}, WANG Lin^{1#}, QIAN Chengyi¹, ZHOU Ping^{2*}, GUO Yanling^{1*}¹School of Stomatology, Gansu Health Vocational College, Lanzhou 730207, China;²School of Stomatology, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China)

Abstract Dentition defects, dental defects, and abnormalities in the maxillofacial bone and soft tissues are frequently caused by tumors, trauma, and bacterial infections. In oral tissue engineering, hPSCs (human pluripotent stem cells) present novel opportunities for the concurrent rebuilding of tissue structure and biological function due to their capacity for self-renewal and multidifferentiation. This research reviews the advancement of hPSC applications in the regeneration of whole teeth, tooth roots, enamel, pulp-dentin complex, periodontal tissues, maxillofacial bone tissue, and oral soft tissues. It begins with a brief summary of stem cell selection in tissue engineering. The research status of hPSCs in various fields is then methodically reviewed, with an emphasis on their primary induction differentiation mechanisms, tissue engineering building models, and *in vivo* regeneration effects. It provides a detailed discussion of the regeneration of maxillofacial bone tissue and the pulp-dentin complex, while also identifying existing technical bottlenecks in the regeneration of whole teeth, enamel, and oral soft tissues. Finally, it discusses the limitations

收稿日期: 2026-03-23

接受日期: 2026-06-26

甘肃省教育厅“2024年高校教师创新基金”(批准号: 2024B-323)资助的课题

#共同第一作者

*通信作者。E-mail: Zhoup@lzu.edu.cn; 19039644696@163.com

Received: March 23, 2026

Accepted: June 26, 2026

This work was supported by the Gansu Provincial Department of Education 2024 University Teacher Innovation Fund (Grant No.2024B-323)

#These authors contributed equally to this work

*Corresponding authors. E-mail: Zhoup@lzu.edu.cn; 19039644696@163.com

of hPSCs in oral tissue engineering and their future prospects, aiming to provide a reference for further research and application of hPSCs in oral regenerative medicine.

Keywords human pluripotent stem cells; human induced pluripotent stem cells; tooth regeneration; bone tissue engineering; soft tissue regeneration

颌面部组织缺损严重影响口腔的功能和美观,过去几十年来,牙体缺损或缺失常使用材料修复,而颌面部骨组织缺损则使用自体骨移植或异体骨移植^[1-3]。然而,修复材料性能待改进,供体部位损伤和移植组织数量有限等问题意味着仍需开发新技术以进一步提升治疗效果。因此,基于支架、生长因子和干细胞的组织工程技术应运而生^[4]。

组织工程领域的最终目标是将干细胞分化为祖细胞或体细胞,以替代损伤器官中的缺陷细胞,其应用形式可分为两种,一种是体外诱导干细胞分化为靶细胞后,将其移植至缺损区域使其参与组织修复;另一种是直接向组织缺损部位(如外伤引起骨缺损)植入干细胞,使其在局部内环境或生长因子辅助下进一步在体内分化为目的细胞。组织工程中使用的干细胞主要包括人多能干细胞(human pluripotent stem cells, hPSCs)和人间充质干细胞(human mesenchymal stem cells, hMSCs)。其中hPSCs包括人诱导多能干细胞(human induced pluripotent stem cells, hiPSCs)和人胚胎干细胞(human embryonic stem cells, hESCs)。而用于口腔组织工程的hMSCs主要包括来自颌面部骨髓的骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs)与牙源性hMSCs包括牙髓干细胞(dental pulp stem cells, DPSCs)、牙周膜干细胞(periodontal ligament stem cells, PDLSCs)、根尖牙乳头干细胞(stem cells from apical papilla, SCAPs)、乳牙牙髓干细胞(stem cells from human exfoliated deciduous teeth, SHEDs)和牙囊干细胞(dental follicle stem cells, DFSCs)等。其中BMSCs适合用于牙槽骨再生,因为其来源于骨髓,与牙槽骨组织具有相似性,而牙源性hMSCs则适用于牙本质、牙髓和牙周组织等外胚间充质来源组织的再生^[5-7]。此外,局部注射的hMSCs具有抗炎和免疫调节功能,可作为牙周炎治疗的种子细胞^[8-10]。目前,基于hMSCs的组织工程已应用于牙周组织、牙槽骨及牙髓再生的临床试验,多项随机对照研究表明其安全性良

好,且再生效果较为理想^[11],2023年的一项Meta分析纳入了5项随机对照试验、118例患者,结果显示hMSCs治疗组在牙龈附着水平、牙周袋深度和骨缺损修复方面优于传统手术治疗^[12]。但需注意,hMSCs仅具备向间充质谱系分化的潜能,而天然牙发育则是多要素(包括上皮细胞、间充质细胞等功能细胞,神经、血管等附属组织,以及局部免疫微环境)协同调控的结果。更为重要的是,hMSCs的生长能力会受供者的影响,其在体外培养过程中存在扩增能力有限、容易衰老等问题,难以储备足够数量的种子细胞用于组织再生。

相比之下,hPSCs具有无限的自我更新能力和体外分化为任何成体细胞的能力,这一独特特性为组织工程中所必须的细胞提供了永不枯竭的资源。可以说,hMSCs主要促进特定组织修复,而hPSCs则具有实现复杂口腔组织和器官真正生物再生的潜力,这使其成为了口腔组织再生未来发展的关键方向。其中从囊胚未分化的内细胞群中提取的hESCs虽然具有无限增殖潜能,但是存在免疫排斥和医学伦理问题,并不适用于组织工程。而由体细胞重编程而来的hiPSCs被证实具有与hESCs相同的表型,且其解决了免疫排斥和伦理道德问题,增加了干细胞自体移植治疗的可行性,被认为是组织工程理想的种子细胞来源^[13]。迄今为止,已成功从牙髓、口腔黏膜、牙龈、牙周膜(periodontal ligament, PDL)等不同口腔组织,脱落的皮肤组织甚至是尿液中重编程了hiPSCs,以hiPSCs为基础的口腔组织工程在牙齿缺失、牙体缺损、牙周组织再生和颌面部骨重建中具有广泛的治疗前景^[14-16]。其中,在重编程供体细胞的筛选中,相较于皮肤成纤维细胞,牙源性细胞是更为理想的细胞来源。牙源性干细胞来源于拔除或脱落的牙齿,属于临床废弃组织,可无额外创伤获得,且被证实具有更高的重编程效率。更重要的是,源自牙组织的hiPSCs保留了其神经嵴来源的部分表观遗传记忆,这可能促进其向成牙、牙周、神经和颅面谱系分化^[17]。这些独特的生物学特性使得源自口腔

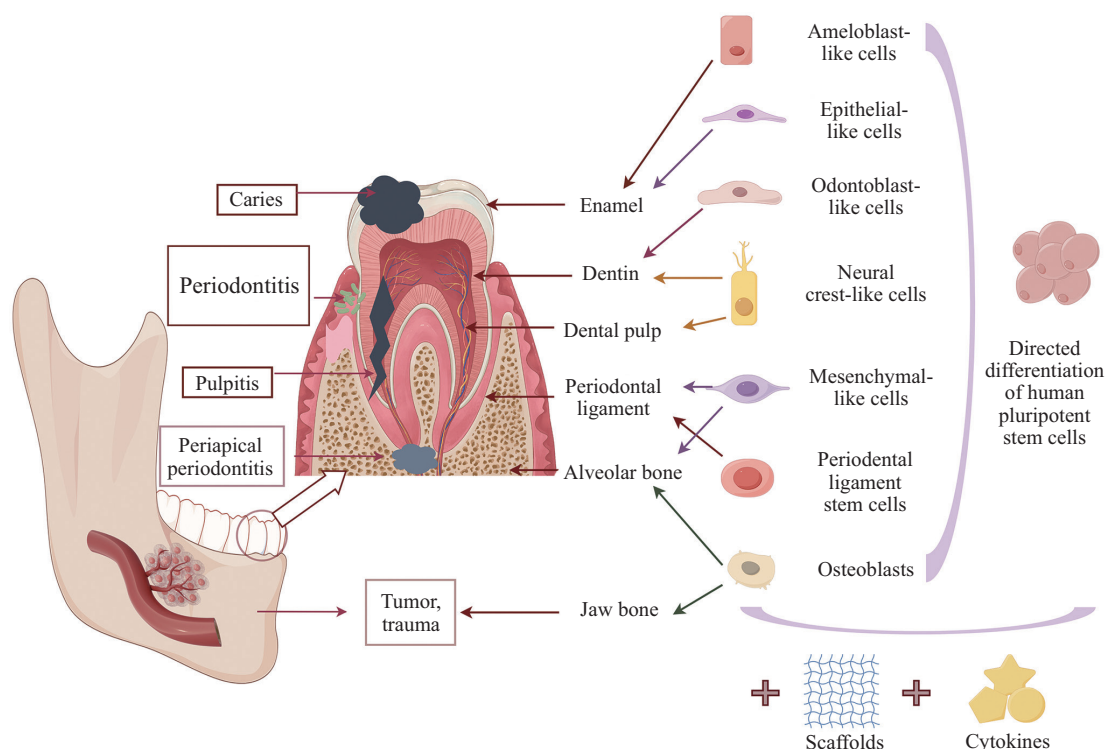


图1 人多能干细胞应用于口腔组织工程研究示意图

Fig.1 Schematic diagram of human pluripotent stem cells applied to oral tissue engineering

组织的hiPSCs在颅颌面组织工程与再生领域具有特别的吸引力^[18]。

现阶段虽然已有基于hPSCs治疗的临床研究, 但多集中在视黄斑变性^[19]、缺血性心肌病^[20]、帕金森病^[21]等, 而其在口腔再生领域的应用仍局限于临床前研究, 主要障碍包括致癌风险、基因组不稳定性、制备流程复杂等。纵观hiPSCs近年来在发育生物学、生物材料工程和类器官技术方面的进展, hPSCs引导组织再生的能力是hMSCs所不能及的。因此, 尽管目前在安全性、生产制造和监管审批方面仍面临转化挑战, 但持续研究基于hPSCs的策略对于实现功能性口腔组织再生这一长期目标仍然至关重要。基于目前缺乏针对hPSCs在口腔组织工程中应用现状、关键技术瓶颈及转化前景的系统梳理, 本文综述了近几年来hPSCs在全牙再生、牙根再生、牙釉质再生、牙髓牙本质再生、牙周组织再生、颌面部骨组织缺损修复以及口腔软组织再生中的应用, 重点讨论了hiPSCs在这几个方向中的应用潜能及仍存在的问题(图1)。本综述旨在激发研究人员对hPSCs应用领域的探索兴趣, 加快口腔颌面部组织缺损修复的研究进程。

1 hPSCs在牙再生中的应用

1.1 全牙再生和牙根再生

在体内胚胎牙胚发育阶段, 源自外胚层的上皮细胞与神经嵴细胞(neural crest cells, NCCs)来源的间充质细胞发生信号互作, 由此启动牙胚发育^[22]。原发性上皮分化形成了成釉器, 成釉器进一步形成了牙冠表面牙釉质, 牙间充质细胞则形成了牙齿的大部分结构, 包括牙髓、牙周膜以及由牙本质细胞产生的牙本质, 而其中由成釉器的内釉上皮和外釉上皮构成的上皮根鞘则在牙根部牙本质和牙骨质的形成中起着重要作用^[23]。

2005年, 王松灵院士团队^[1]从牙胚组织中分离出了牙上皮细胞和牙间充质细胞, 将其重组后共接种在支架材料中并移植入小鼠体内, 获得了具有类牙釉质、牙本质以及牙髓的生物牙, 该研究首次较完整证实了通过牙上皮-牙间充质重组, 可以实现牙的发育重建。然而此后, 全牙再生研究停滞多年, 因为MSCs虽易获得但牙上皮细胞却在成年后几乎消失。随着hESC和hiPSCs被引入牙再生领域, 生物牙再生研究进入了下一个发展阶段。2013年, Cai等^[18]将尿液源的hiPSCs诱导为上皮样细胞, 取胚胎第14.5天的胎鼠牙胚MSCs作为牙发育诱导中心进行牙胚

重组, 接种到支架后, 将其移植到小鼠肾被膜下培养3周, 发现hiPSCs来源的上皮进一步形成了与成熟成釉细胞类似的釉柱结构, 首次证实hiPSCs可以形成成釉细胞, 并且HE染色表明在形成的类牙样结构中存在牙本质矿化结构与类牙髓的中央疏松结缔组织。虽然该体系中的牙本质和牙髓主要来源于小鼠牙胚间充质, 且未形成完整牙根、牙骨质和牙周膜结构, 但该研究中牙器官重建为基于hiPSCs的全牙再生研究指明了预期方向。Kim等^[22]的研究证实将hiPSCs和hESCs分化为上皮样细胞并与人源DPSCs共培养20 d后, 有高表达牙釉质和牙本质相关标记物的牙样结构形成, 成功率约为30%。然而, 多数研究并未评估来源于牙囊细胞的牙周组织即牙骨质、牙槽骨和牙周膜的形成, 难以实现全牙再生的临床转化。纵然有研究使用重组猪牙胚上皮和间充质干细胞的方法在小猪颌骨原位完成了类牙结构^[20], 或从未萌出的智齿中分离牙囊组织来分化牙类器官以期引导牙再生^[21], 但使用的细胞在培养时容易衰老或具有异源性, 本文不做过多介绍。逐渐地, 类器官的构建在复杂组织再生如全牙再生、骨组织再生中逐渐受到关注, 类器官是体外自组织且自我更新的三维细胞结构。传统的组织工程旨在制造替代组织, 而类器官旨在通过细胞自组织重现发育过程和器官特异性功能。虽然目前已经有基于干细胞类器官的研究, 但多数研究中的干细胞选择了牙源性干细胞, Kim等^[22]使用骨形态发生蛋白4(bone morphogenetic protein 4, BMP4)诱导hiPSCs经拟胚体(embryoid body, EB)向外胚层分化, 随后使用BMP抑制剂Noggin与表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)联合诱导培养牙上皮样细胞, 随后将其接种于超低吸附培养板形成牙釉质类器官, 结果证实其能够高表达成釉细胞分化相关标志物末梢更少同源框3(distal-less homeobox 3, *DLX3*)基因与X-连锁釉原蛋白(X-linked amelogenin, *AMELX*), 且成釉细胞不断运输钙离子用于牙釉质矿化, 研究首次构建了基于hiPSCs的牙釉质类器官, 然而未继续验证全牙再生的可能。

对于牙根再生, Sonoyama等^[24]发现, 将接种SCAPs和PDLSCs的羟基磷灰石/磷酸三钙支架植入小猪颌骨内可成功再生包含有类牙本质、牙骨质及牙周膜结构的生物性牙根。在后续研究中, Guo等^[25]招募了15名牙外伤后牙齿脱落的患者进行临床试验, 他们将脱细胞牙本质基质与hDPSCs聚集体结合, 并

植入脱落牙的牙髓腔后, 发现hDPSCs聚集体最终形成了具有血管和神经的牙髓以及牙骨质-牙周膜组织。然而遗憾的是, 目前尚未有基于hPSCs的牙根再生应用于动物或临床试验的研究报道, 这可能与牙根发育的复杂性相关。牙根形成于牙冠发育完成之后, 成釉器的内釉上皮与外釉上皮向牙根方向延伸形成上皮根鞘, 随后上皮根鞘诱导牙乳头间充质细胞形成牙本质、牙髓, 进一步地, 上皮根鞘断裂并诱导牙囊间充质细胞形成牙根最外层的牙骨质, 这一分化过程难以在体外被充分模拟。

总之, 基于hPSCs的全牙再生与牙根再生仍处于早期探索阶段, 真正使用hPSCs构建牙胚类器官的研究更是处于相对空白状态。纵然目前证实hPSCs能够分化为牙上皮样细胞并可通过细胞重组技术实现牙样组织形成, 但再生成功率较低, 多在培养过程中使用异源性成分如饲养层细胞。究其原因, 牙冠的成釉器来源于上皮, 牙本质与牙髓来源于牙乳头, 牙根的牙骨质及牙周膜则来源于牙囊细胞, 三者之间的协同发育机制尚未完全建立。因此, 如何利用hPSCs重建具有完整冠根结构、神经血管系统及牙周支持组织的功能性生物牙, 仍是未来口腔组织工程领域最具挑战性的研究方向之一。

1.2 牙釉质再生

成熟牙釉质是体内唯一无细胞结构的矿化组织, 成釉细胞完成釉基质分泌与矿化后会发生程序性凋亡, 因此牙釉质缺损后无法自我再生^[26]。然而随着hiPSCs的发现, 有许多研究聚焦于hiPSCs诱导牙源性上皮或成釉细胞的分化, 总体来说类似于全牙再生, hiPSCs的诱导分化主要有三种方案, 第一类是以永生化的牙源性上皮细胞作为饲养层或使用上皮细胞条件培养基, 诱导hiPSCs分化为具有上皮表型或类似成釉细胞的细胞^[27-28]。第二类是模仿骨发育过程, 在关键的发育节点来模仿成釉细胞的发育顺序, 具体来说, 首先将hiPSCs悬浮培养形成具有三胚层结构的EB, 随后通过刺激骨BMP、视黄酸或音猬因子(Sonic hedgehog, SHH)信号通路, 诱导EB向口腔上皮外胚层分化, 继而形成成釉细胞。目前虽然证实BMP、SHH、WNT、EGF和TGF β 等细胞因子的信号调节对于体外诱导hiPSCs定向分化至关重要, 但学界尚未就细胞因子添加的种类与时机达成共识^[29]。通过与来源于胚胎第14~16天的磨牙牙胚的牙源性间充质细胞重组共培养并移植到裸鼠肾囊

下, hiPSCs可分化为成釉细胞类细胞并产生矿化组织^[30]。第三类则是类器官形成, 在先前多数研究中类器官的细胞来源于第三磨牙牙囊^[31-32]。Alghadeer等^[33]通过收集胎儿牙胚并进行单细胞RNA测序, 绘制了人牙发育单细胞图谱, 确定了人牙发育过程中所有主要细胞群, 系统解析了成釉细胞分化过程中关键的BMP、WNT、成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor, FGF)和刺猬(hedgehog, HH)信号调控网络, 并据此建立了基于hPSCs的发育模拟诱导体系, 成功地利用皮肤成纤维细胞来源的hiPSCs诱导分化出了成釉细胞样细胞, 随后将该细胞与hDPSCs共培养建立了基于成釉细胞样细胞的类器官结构; 小鼠体内实验证实培养8周后, 有高表达AMELX的矿化牙釉质样结构形成。

尽管基于hPSCs的成釉细胞诱导和牙釉质样组织构建取得了重要进展, 但当前研究仍主要停留在成釉细胞样细胞层面, 尚未完全重建天然牙釉质特有的牙釉柱、釉柱间质及釉牙本质界。此外, 在涉及小鼠体内移植支架时, 研究仍使用来源于小鼠肿瘤基底膜的基质胶(matrigel), 未来仍需要临床级水凝胶递送平台^[34], 推动真正意义上的牙釉质、全牙再生技术落地。

1.3 牙髓牙本质再生

在牙胚发育过程中, 牙乳头外层的细胞在内釉上皮诱导下分化为成牙本质细胞, 随着成熟成牙本质细胞不断分泌牙本质, 相应部位内部的牙乳头则逐渐开始分化并伴有血管神经迁入形成牙髓。而当牙齿萌出后, 慢性龋发生时, 细菌长期刺激会诱导病变部位下方的DPSCs迁移到损伤部位分化为成牙本质细胞, 进而矿化形成修复性牙本质, 牙本质中不存在细胞结构, 其形成高度依赖牙髓。因此组织工程领域逐渐形成共识, 仅再生牙本质在生物学上是不完整的, 而仅再生牙髓则无法修复牙本质。基于此, 本研究主要关注牙髓牙本质复合体再生。目前主要有两种再生手段, 一种是内源性干细胞归巢如血运重建技术, 另一种是基于组织工程的外源性干细胞技术, 相对于前者, 后者不受患者年龄限制, 具有更广泛的研究前景。

如前所述, 牙髓的发生来源于NCCs, NCCs具有多向分化潜能, 是体内外研究牙再生的理想候选细胞, 但要分离出大量NCCs却相当困难^[35-36]。基于此, 在诱导hPSCs形成NCCs(hPSCs-NCCs)后, 再进一步

诱导其定向分化, 是研究牙髓牙本质再生的主要方向^[37]。

有研究证实, 重组生长因子可以诱导hPSCs-NCCs形成目的细胞, Kidwai等^[38]将hESC分化为hESC-hMSCs后添加FGF8和BMP4, 诱导hESC-hMSCs形成了高表达牙本质涎磷蛋白(dentin sialophosphoprotein, DSPP)与牙本质基质蛋白1(dentin matrix protein 1, DMP1)的成牙本质样细胞。Zhang等^[39]评估了O9-1小鼠颅神经嵴细胞系与hPSCs-NCCs的牙本质形成能力, 证实了两者在添加BMP4的环境中均能形成高表达DSPP与DMP1的成牙本质样细胞, 进一步表明了神经嵴细胞, 尤其是具有无限增殖能力的hPSCs-NCCs, 是牙齿发育和牙组织/牙器官再生研究中一种极具前景的细胞来源。Seki等^[40]通过转染*Pax9*和*Bmp4*表达质粒, 诱导鼠源性iPSCs-NCCs(miPSCs-NCCs)形成成牙本质样细胞。在最近的一项研究中, Araújo等^[41]通过将包载有细胞的胶原水凝胶植入裸鼠体内诱导牙髓牙本质形成, 重点分析了近年来持续被证实具有促进矿化能力的WNT蛋白在诱导分化不同时间段中的作用, 结果表明了WNT10B主要促进分化启动, 而WNT5B不仅可启动分化, 还可促进成牙本质细胞成熟。但需要注意的是, 在分析牙本质形成效率时, 不仅需要关注Micro-CT中牙本质的矿化面积与体积, 更需要关注的是牙本质小管的形成, 否则形成的结构只是高度钙化的团块状组织^[42]。

Xie等^[43]评估了由DPSCs重编程的hiPSCs分化为成牙本质样细胞的潜能, 将hiPSCs接种至聚L-乳酸修饰的脱细胞牙本质支架, 并移植到裸鼠体内培养28 d后, 发现其体内形成了具有管状牙本质的类牙髓组织。相较于DPSCs长期传代后的分化能力丧失, hiPSCs在连续传至14代时仍能高表达成牙本质向分化标志物。然而对于牙髓牙本质再生, 最大的难点并不是细胞来源, 而是牙髓血管化, 根管腔空间狭小, 新生血管只能经由根尖孔侵入根管内部形成功能性牙髓, 如果没有快速血管化, 细胞移植后很快会发生缺氧坏死^[44-45], 而成功诱导新生血管也是现阶段牙本质牙髓复合体再生研究的热点。Cho等^[46]认识到了人血管内皮细胞(human vascular endothelial cells, hUVECs)的重要性, 研究将从磨牙中提取的hDPSCs重编程为hiPSCs, 进一步将其分化为hiPSCs-hUVECs后, 将hiPSCs-hUVECs与hDPSCs共培养, 结

果证实成牙本质细胞经典标志物DSPP表达显著上调,血管网络生成能力相较于没有hiPSCs-hUVECs的对照组显著增强,然而遗憾的是,上述结果并未在裸鼠体内进行验证。最近,Kobayashi等^[47]将细胞因子FGF4和FGF9诱导形成的hPSCs-NCCs与具有促血管活性的自组装肽水凝胶混合后注入脱细胞的人牙根管内,再将其移植入小鼠体内,该策略利用促血管肽自组装形成仿细胞外基质的三维支架,促进移植体系新生血管与宿主血管快速对接和移植细胞存活,最终在人牙根片模型中形成了含丰富血管的牙髓样组织、极性排列的成牙本质细胞样细胞层以及牙本质样基质和前期牙本质,成功重建了具有组织学特征的牙本质-牙髓复合体。

尽管hPSCs已被证实能够分化为牙髓牙本质复合体,但多数研究中成熟牙本质形成不足、牙髓血管化程度有待提升,且很少有研究关注到牙髓组织中另一重要组分神经的形成。未来研究应持续关注多细胞协同构建功能性牙髓牙本质复合体并进行长期体内评估。

1.4 牙周组织再生

牙周炎是最常见、发病率最高的慢性炎症之一。近年来,引导性组织再生、自体骨移植、异体骨移植等技术已广泛应用于牙周组织缺损修复,但术后牙周穿通纤维往往再生不全,临床治疗效果未达预期^[48]。因此,牙周组织的完全再生是口腔领域颇具挑战性的问题之一。

最近的研究表明,PDLSCs在牙周组织再生中起重要作用,具有生成PDL、牙骨质、牙槽骨、血管和周围神经的能力,然而PDLSCs来源受限、细胞产量较低且细胞易混杂,故需寻找新的替代种子细胞^[14]。Wang等^[49]模拟hiPSCs在体内的发育模式,使用成分明确培养基将hiPSCs经NCCs诱导成hiPDLSCs。Hamano等^[50]则将hPSCs-NCCs培养在人PDL细胞的细胞外基质中,获得了hiPDLSCs。Sugiyama等^[51]的研究强调了PAX9的添加在这一过程中的重要性,并且发现PDL来源的hiPSCs比非神经嵴组织来源的hiPSCs具有更高的定向分化能力和NCCs相关标志物表达水平^[52]。Yin等^[53]研究了hiPSCs来源的hMSCs促进牙周组织分化的能力,证实了培养28 d后,hiPSCs-hMSCs高表达成骨基因、纤维生成基因和牙骨质生成基因。此外,有研究将hPSCs接种在支架中,并移植入牙周袋内进行牙周炎治疗效

果评估。

Chien等^[54]将hiPSCs封装入负载BMP6的热敏壳聚糖/明胶/磷酸甘油水凝胶内,并植入上颌磨牙骨缺损的大鼠模型中培养6周,实验结果证实水凝胶复合体系促进了hiPSCs的体内成骨分化、新结缔组织的分化以及牙周膜的形成。Yamashita等^[55]将hiPSCs-NCCs培养在人PDL细胞的细胞外基质中,获得了hiPDLSCs,随后将其接种于 β -磷酸三钙支架并植入裸鼠背部培养8周,实验证实有PDL样纤维生成。对于PDLSCs直接引导牙周组织再生,已有临床试验开展,但未见hPSCs相关报道^[56-57]。但是需要关注的是,天然牙周膜内存在穿通纤维,然而目前hPSCs研究尚不能重建这种定向插入结构,且目前多数研究都聚焦在PDL中,缺乏牙骨质谱系诱导体系。

另外,牙周炎治疗中还需关注牙周袋内的免疫调节。先前的研究证实hMSCs在动物和人体内具有免疫调节特性,且具有较低的固有免疫原性^[58]。然而鉴于hMSCs的缺陷,hiPSCs-hMSCs是一种更为理想的免疫调节细胞选择。hiPSCs-hMSCs与原代hMSCs的免疫调节特性对比实验证实,前者的免疫能力与后者相当^[59]。在牙周炎模型中,使用miPSCs-MSCs治疗后呈现牙槽骨吸收减缓与炎症因子表达水平显著降低^[60],证实hiPSCs-hMSCs具有广泛研究前景。

2 hPSCs在骨组织工程中的应用

牙槽骨缺损常见于牙周炎晚期,传统治疗方法主要为异种骨粉植入,近几年,骨组织工程以其生物相容性高、避免供体部位损伤、减少患者术中风险等优点受到广泛关注。其中,种子细胞hPSCs的应用形式主要包括在体外扩增分化形成成骨细胞后接种或直接负载在生物仿生支架上^[61]。

对于hPSCs在体外二维条件下分化为成骨细胞的研究,主流的方法包括两种,一种是经hMSCs成骨分化,另一种是hPSCs直接分化为成骨细胞。对于经hMSCs成骨分化主要包括EB法和单层法。前者指首先使hiPSCs形成具有向三胚层分化趋势的EB,随后添加功能化合物如激活素受体拮抗剂SB431542,定向诱导EB向外胚层分化^[62],随后使EB贴壁并进一步利用化合物诱导EB向hMSCs分化获得hiPSCs-hMSCs。而后者单层法则是通过直接更换培养基诱导hiPSCs向hMSCs分化,其间辅助添加功能化合物

如CHIR99021^[63]、激活素A等^[64]直接诱导,无需形成EB。经hMSCs的hiPSCs成骨分化方案虽然分化效率高、流程明确,但hiPSCs-hMSCs纯化常需涉及慢病毒转染或流式细胞分选,过程复杂耗时,且hiPSCs-hMSCs缺乏统一的表面标志物用于细胞鉴定,hiPSCs-hMSCs的开发仍需更多的研究^[65]。

直接法成骨分化是指绕过hiPSCs-hMSCs这一步骤,直接将hPSCs诱导为成骨细胞,同样也有EB法和单层法两种方法,然而传统的成骨培养基诱导分化效率低下,因此通常需添加促成骨小分子如腺苷^[66]、维甲酸^[67]、雷帕霉素^[68-69]等。但需要注意的是,多数研究中使用了含有胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)的培养基,异源性物质限制了成骨细胞在后续临床中的应用。此外,对于成骨细胞的分离和纯化仍是具有挑战性的研究,目前缺乏公认的成骨细胞特定表面标志物,例如,基质细胞抗原-1(stromal cell antigen-1, STRO-1)、碱性磷酸酶和I型胶原 $\alpha 1$ 链(collagen type I $\alpha 1$ chain, COL1A1)等已被用于分离成骨细胞,但这些蛋白并非成骨细胞特有的^[70]。因此,对于体外诱导成骨分化,未来的研究需要更多地关注hiPSCs-hMSCs和成骨细胞的纯化以及体外无异源性培养,为后续的临床应用提供充足的细胞。

而对于三维骨组织工程,则需要支架材料和细胞因子的参与。其中支架材料通过形成类似于细胞外基质的网络,促进细胞黏附、增殖^[71-72]。细胞因子则多为具有骨诱导效应的生物活性分子,如BMP4、FGF2、胰岛素样生长因子1(insulin-like growth factor 1, IGF1)和血小板源性生长因子(platelet-derived growth factor, PDGF)等^[73]。目前对于三维骨组织工程,hiPSCs的应用形式无外乎前述两种,关注热点则在于不同支架材料对hiPSCs命运的调控。

Duan等^[74]将miPSCs来源的EB培养在含釉基质衍生物的培养基中7 d后,接种在带有磷灰石涂层的丝素蛋白支架上,随后移植入裸鼠下颌磨牙颊侧骨缺损处,结果证实其可促进牙骨质、牙槽骨和正常牙周韧带的形成。GelMA水凝胶和I型胶原凝胶同样被证实能够促进骨组织再生^[75]。值得注意的是,新生骨组织的血管化是近年来关注的热点。hiPSCs与hUVECs共同培养在磷酸钙水泥(calcium phosphate cement, CPC)支架上时,能够促进大鼠颅

骨新骨和血管生成^[76]。周细胞是包裹在毛细血管和微静脉外壁的扁平多突起细胞,与血管内皮细胞紧密连接,共同构成血管壁结构,将接种了周细胞、hUVECs和hiPSCs的CPC支架植入裸鼠体内,比只含有三种细胞中的一种或两种的支架更能有效促进骨再生^[44]。而CPC支架进一步缀合RGD肽,将提高细胞亲和力和骨预血管化能力^[77]。

生物活性玻璃(bioactive glasses, BGs)具有与骨骼直接结合的能力,其溶解于体液中的离子产物可刺激成骨细胞增殖和血管生成^[78]。尽管BGs之前已被广泛研究,但均选择hMSCs作为种子细胞,关于hPSCs的研究直到2019年才出现^[79]。近年来,纳米材料促成骨分化的能力同样被广泛研究,金纳米棒(gold nanorods, GNs)^[80]或搭载有GNs的水凝胶^[81]促进hMSCs、hESCs、PDLSCs等细胞成骨分化的能力被广泛讨论,但在hiPSCs中却未见研究。而对于氧化石墨烯(graphene oxide, GO),有研究证实涂覆GO的聚偏氟乙烯-聚乙醇静电纺丝支架^[82]、GO/骨形成肽-1(bone forming peptide-1, BFP-1)共修饰的 ϵ -聚己内酯电纺纳米纤维支架^[83]、明胶/GO/MgO纳米纤维支架^[84]等能够促进hiPSCs成骨分化。

近年来,随着研究发展,类器官与组织工程的界限越来越模糊,初始的类器官类似自组织的细胞团,直径小于500 μm ,培养过程中存在缺氧、缺乏血管、形态不稳定等问题,于是部分研究向其中添加支架、灌流系统等,构建工程化类器官。目前多数前沿研究,实际上都是将传统类器官的细胞结构与组织工程支架进行复合,利用工程手段提升类器官的复杂性和可控性,同时利用类器官的自组织能力赋予组织工程更接近天然器官的功能。一个典型的例子是Li等^[85]报道的工程化血管化成骨细胞微环境,其将hiPSCs衍生的血管和成骨类器官依次组装在多孔羟基磷灰石支架内,以重建人类骨微环境。所得构建体包含自组装的血管网络、周细胞、成骨细胞、神经纤维和巨噬细胞样细胞群,与天然骨髓的细胞和分子复杂性极为相似。将该构建体植入小鼠体内后观察到,该模型可与宿主组织建立能够持续存在至少6周的功能性嵌合血管系统。关于骨类器官构建的研究可参考其他综述^[86],本文不再赘述。

总而言之,近几年基于hPSCs的三维支架研究相对较少,且多数局限在体外评估,缺乏完善的动物体内验证。此外,使用小动物模型不足以完全模拟

表1 hPSCs用于颌面部骨组织缺损修复的研究
Table 1 hPSCs for maxillofacial bone tissue defect repair

细胞 Cell line	手段 Method	成骨时间 Osteogenic time	结果 Result
hiPSCs-hMSCs ^[87]	<i>In vitro</i> : EB method for hiPSCs-hMSCs induction, direct method for osteogenic differentiation <i>In vivo</i> : embed the hiPSCs-hMSCs in a fibrin gel and graft them onto an HA/TCP scaffold	Twenty-one days <i>in vitro</i> Eight weeks <i>in vivo</i>	<i>In vitro</i> : significant upregulation of osteogenesis-related genes such as <i>RUNX2</i> , <i>ALP</i> , <i>COL1A1</i> , <i>BSP</i> , and <i>OCN</i> <i>In vivo</i> : an increase in bone volume, the formation of new trabeculae and mature collagen matrix
hiPSCs-hMSCs ^[88]	EB method for hiPSCs-hMSCs induction, direct method for osteogenic differentiation by adding $\text{Ca}_2\text{MgSi}_2\text{O}_7$	Twenty-one days <i>in vitro</i>	Significant upregulation of osteogenesis-related markers such as <i>RUNX2</i> , <i>BMP2</i> , <i>COL1A1</i> , <i>BSP</i> , and <i>OCN</i>
hESCs/hiPSCs ^[89]	<i>In vitro</i> : direct method for osteogenic differentiation by adding adenosine to acquire osteoblasts <i>In vivo</i> : loaded osteoblasts into macroporous hydrogels	Twenty-one days <i>in vitro</i> Sixteen weeks <i>in vivo</i>	<i>In vitro</i> : significant upregulation of osteogenesis-related genes such as <i>RUNX2</i> , and <i>OCN</i> <i>In vivo</i> : cell-laden matrices were permeated with intraluminal red blood cells and new bone deposited (area fraction: 40%)
hiPSCs-MPLCs (mesenchymal progenitor-like cells) ^[90]	<i>In vitro</i> : EB method for hiPSCs-hMSCs induction, direct method for osteogenic differentiation with adding retinoic acid <i>In vivo</i> : seed hiPSCs-MPLCs onto three-dimensional biomimetic scaffolds composed of hydroxyapatite and poly (L-lactic acid)/poly (lactic-co-glycolide)	Fourteen days <i>in vitro</i> Eight weeks <i>in vivo</i>	<i>In vitro</i> : upregulation of osteogenesis-related genes such as <i>RUNX2</i> , <i>ALP</i> , and <i>OCN</i> <i>In vivo</i> : the co-culture group showed the highest amount of new bone deposited (area fraction: 32.61%)
hiPSCs-hMSCs and hUVECs ^[91]	<i>In vitro</i> : hUVECs co-cultured with hiPSCs-MSCs <i>In vivo</i> : ① CPC scaffold alone; ② hUVEC-seeded CPC; ③ hiPSC-MSC-seeded CPC; ④ hUVECs co-cultured with hiPSCs-MSCs on CPC scaffolds	Twenty-one days <i>in vitro</i> Eight weeks <i>in vivo</i>	<i>In vitro</i> : granular-like bone nodules deposited, microcapillary-like structures formed a meshwork <i>In vivo</i> : the co-culture group showed the highest amount of new bone deposited (area fraction: $46.38\% \pm 3.80\%$), and new blood vessels were formed inside the defect
hiPSCs ^[79]	hiPSCs cultured on the strontium and cobalt-containing BGs	Twenty-one days <i>in vitro</i>	Overexpress the osteogenic markers <i>OCN</i> , osteonectin, and <i>RUNX2</i>
hiPSCs ^[84]	hiPSCs cultured on the gelatin/GO/MgO nanofibers	Twenty-one days <i>in vitro</i>	Bone nodules deposited, elevated ALP (alkaline phosphatase) activity, and upregulation of osteogenesis-related markers such as <i>RUNX2</i> , <i>COL1A1</i> , <i>ALP</i> , and <i>OCN</i>

体内环境, 还需要进一步研究大型动物的成骨和血管生成机制, 而这似乎正是工程化类器官在未来的研究领域。hPSCs用于颌面部骨组织缺损修复的相关代表性研究结果见表1^[79,84,87-91]。

3 hPSCs在口腔黏膜与牙龈软组织再生中的应用

牙龈和口腔黏膜作为口腔软组织, 能够为深层组织提供机械保护并抵御微生物入侵。由于创伤、肿瘤切除或牙周疾病引起的软组织缺损, 常导致功能障碍和美观问题。缺损较小者常进行一期拉拢缝合, 而较大的缺损则需要利用游离植皮、局部皮瓣

转移等手段进行修复^[92]。传统的自体移植, 常需要供皮区二次手术, 增加患者术后并发症发生率。因此近年来, 部分研究将hPSCs引入软组织再生领域, 以其复现口腔软组织真实的解剖结构和功能^[93]。

口腔黏膜由复层鳞状上皮层、固有层和黏膜下层构成, 其发育有赖于外胚层来源的上皮组织与外胚间充质来源的结缔组织协同分化。相比牙周或骨组织, 口腔黏膜属于双层复合组织, 体外再生难度更高, 因此目前研究进度远落后于骨再生或牙周组织再生。已有研究主要集中于hPSCs向上皮层的分化, Das团队^[94]已报道了将小鼠ESCs三维培养分化为表皮角质形成细胞的方法。研究首先将

ESCs在体外二维环境下诱导分化8 d, 随后将初步分化的ESCs进一步接种至胶原支架表面并抬升凝胶支架至气液界面进行体外三维上皮向分化, 培养14 d后结果证实有高表达上皮标志物细胞角蛋白5/13/18/19(cytokeratin 5/13/18/19, CK5/13/18/19)和E-钙黏蛋白的复层鳞状上皮生成^[95]。在这项研究中, hPSCs体外培养时使用了FBS, 相较于使用血清替代物的对照组, FBS组上皮生成效率更高, 然而FBS的异源性成分阻碍了该研究的临床转化。值得注意的是, 基于hPSCs构建口腔黏膜疾病类器官模型的技术近年逐步受到学界关注, 类器官相关研究的推进, 可为体内重建具备多层复杂功能结构的口腔黏膜提供研究新思路^[96]。

牙龈属于牙周组织的一部分, 可根据部位不同而分为牙龈表面角化的牙龈上皮、龈沟内非角化的沟内上皮以及与牙面附着的结合上皮, 而上皮下方又包含有基底膜、固有层与血管网络, 牙龈的结构相较于其他牙周组织更加复杂。现阶段hPSCs研究更多聚焦于骨和牙周膜重建, 因此牙龈成为口腔组织工程中的一个相对空白领域。但类似于口腔黏膜类器官的构建为疾病研究提供模型, 重建人牙龈(reconstructed human gingiva, RhG)模型是牙科材料安全性和有效性测试的仿生模型。传统RhG由牙龈角化细胞形成上皮层, 牙龈成纤维细胞位于胶原基质内, 两者共同构建三维RhG, 而Brueske等^[97]将hiPSCs复合至胶原-纤维蛋白构建的RhG基质水凝胶中。结果显示, hiPSCs培养2周后完全消失, 且未分化为牙龈组织细胞; 其作用机制为hiPSCs以旁分泌方式释放调控因子, 一方面直接促进模型内牙龈角质形成细胞增殖、上皮层增厚, 另一方面调控基质中成纤维细胞重塑胶原基质, 并诱导上皮钉突天然结构生成, 最终使体外模型获得与天然牙龈高度一致的上皮表型。该研究证实, hiPSCs在口腔软组织工程支架体系中可发挥独特调控作用, 而非仅作为组织修复的种子细胞来源, 这一发现为hPSCs在组织工程领域的应用模式开辟了全新思路。总而言之, 若要实现基于hPSCs的口腔软组织再生技术规模化应用, 则仍需进一步优化无异源性分化方案、工程支架设计和多细胞组装策略。

4 总结与展望

在口腔组织工程研究中, 基于hPSCs的研究显

示出了极大的潜力。hPSCs可以在体外诱导分化成各种类型的细胞, 包括牙发育相关的上皮样细胞、间充质细胞、神经嵴细胞, 构成牙齿的牙髓细胞、成釉细胞、牙周膜干细胞和成骨细胞等^[98-101]。

全牙再生作为组织工程的一个高级目标, 需求是重建一个结构完整、稳定、具有生物活性的牙齿。目前hPSCs介导的全牙再生研究仍处于类牙器官模拟阶段, 虽然研究者已能够利用hiPSCs获得矿化牙釉质样组织, 迈出了全牙再生最重要且基础的一步, 但目前尚未获得同时包含全部牙组织的生物牙, 牙釉质生成仍依赖牙源性间充质干细胞诱导, 再生全牙组织在血管化、神经支配等方面几乎未有研究关注。此外, 如何大规模扩增成釉细胞分化所需的上皮细胞, 如何将这些细胞准确地移植到牙槽骨等特定位置, 如何让新形成的全牙组织与原有的周围组织整合, 以及如何保证新牙齿的结构稳定性和功能性等前沿问题仍待深入探索^[102]。牙根再生在其他干细胞如DPSCs中相对于全牙再生进展更快, 利用DPSCs在比格犬和恒河猴中成功再生生物牙根的发现^[103-104], 为后续基于hPSCs的牙根再生研究奠定了深刻的理论基础。

牙釉质再生常伴随牙釉质仿生同时出现, 有幸于hiPSCs的发现, 不可再生的成釉细胞能够被定向诱导分化, 未来通过结合仿生支架与成釉细胞样细胞, 牙釉质再生未尝不可。而对于牙髓牙本质再生与牙周膜再生, 多数研究集中在添加信号分子定向诱导hiPSCs-NCCs分化^[105], 虽然研究众多但尚未得出统一结论, 且多数研究使用具有异源成分的基底如基质胶进行细胞扩增, 在后续的临床转化中这将是—大阻碍^[100]。hiPSCs会保留供体细胞的表现遗传记忆, 所以hiPSCs重编程时选择牙源性细胞似乎更为理想^[106], 然而现阶段多数研究中使用的是重编程更为成熟的皮肤源或尿液源性的hiPSCs^[100,107]。因此, 后续研究一方面需进一步提高hiPSCs重编程效率, 为组织工程储备足量、可稳定扩增的种子细胞; 另一方面需系统解析hPSCs体内外定向分化相关信号通路, 并建立无异源性培养体系, 以此推动hPSCs相关技术的临床转化^[75]。

骨组织工程现已发展为相对成熟的研究领域, 该领域后续研究的核心重点包含两方面: 其一是建立二维培养条件下高效分离、鉴定成骨细胞的技术体系; 其二是利用三维支架复刻体内生理微环境, 挖

掘更多能够有效促进hPSCs成骨分化的新手段。而骨类器官技术的快速兴起,也为科研人员提供了全新的研究切入点。对于软组织工程,不可否认它目前是hPSCs应用最薄弱的领域之一,与骨、牙周、牙髓等组织相比,其研究数量明显偏少,但近年来已经开始出现一些值得关注的新方向。尽管现阶段尚无口腔黏膜软组织下层结构如固有层的重建研究,并且缺乏再生软组织的血管化、神经化等方面的研究,但我们相信,依托全牙再生多细胞组织工程、骨组织工程预血管化领域已积累的研究基础,未来有望构建具备完整生理功能的口腔再生软组织。

作为组织工程的重要组分种子细胞,hiPSCs与肿瘤细胞具有相同的细胞和分子表型,且经典的hiPSCs重编程中使用的诱导因子c-Myc本身存在一定的致癌性,其特性决定了hiPSCs在移植上存在形成畸胎瘤的风险^[39]。若更换诱导方式,则通常会引起重编程效率的降低^[108],而细胞在重编程和体外长期培养过程中获得的基因组不稳定性则可能增加恶性转化的风险。已有研究报道了hiPSCs细胞系易发生拷贝数变异、染色体异常与体细胞突变等基因组缺陷^[109],这表明了hiPSCs与其分化的体细胞在临床应用前必须建立严格的质量控制体系和纯化策略。而从伦理角度来看,hiPSCs重编程过程无需破坏人类胚胎,但伦理问题仍然存在,特别是涉及捐赠者知情同意、遗传信息的所有权与隐私保护、大规模生物样本库建设,以及在hiPSCs重编程时应用CRISPR/Cas9等基因编辑技术的问题。因此,基于hPSCs的口腔组织工程,不仅需要提升安全性和有效性,还需建立健全的伦理和监管框架。总体而言,hiPSCs是下一代口腔组织工程最具前景的平台之一,但要实现常规临床应用,仍需克服诸多科学和转化方面的挑战。

综上所述,hPSCs现有的研究已代表了组织工程学及再生医学领域的重大进展,但其从实验室研究走向常规临床诊疗,仍有大量现实难题亟待逐一攻克。未来的研究需要进一步排除障碍,提升基于hPSCs的口腔组织工程临床应用安全性和有效性。

参考文献 (References)

[1] 胡冰, 刘怡, 王松灵. 从细胞到器官: 牙组织工程任重而道远 [J]. 上海口腔医学, 2005, 14(2): 99-102.
Hu B, Liu Y, Wang S L, et al. Tooth tissue engineering: from cells to organ, an odyssey far from finished [J]. Shanghai Journal

of Stomatology, 2005, 14(2): 99-102.
[2] 孙逸嘉, 王姗姗, 谢志坚. 下颌升支取骨在颌面部骨移植中的应用[J]. 口腔医学, 2019, 39(10): 948-951, 956.
Sun Y J, Wang S S, Xie Z J. Application of the mandibular ramus as a donor site for alveolar reconstruction [J]. Stomatology, 2019, 39(10): 948-951, 956.
[3] 张凯静, 李春年, 李一卓, 等. 不同骨修复材料对根尖骨缺损治疗效果的网状Meta分析[J]. 中国组织工程研究, 2026, 30(26): 6946-6951.
Zhang K J, Li C N, Li Y Z, et al. A network meta-analysis of therapeutic effects of different bone repair materials on apical bone defects [J]. Chinese Journal of Tissue Engineering Research, 2026, 30(26): 6946-6951.
[4] Sui Y, Zhou Z Q, Zhang S Q, et al. The comprehensive progress of tooth regeneration from the tooth development to tissue engineering and clinical application [J]. Cell Regeneration, 2025, 14(1): 33.
[5] Xie Z Y, Liu M Y, Wang S D, et al. Advances and challenges in constructing bone organoids using cells derived from human pluripotent stem cells: a review [J]. Stem Cell Reviews and Reports, 2026, 22(1): 371-402.
[6] Yusof M F H, Zahari W, Hashim S N M, et al. Angiogenic and osteogenic potentials of dental stem cells in bone tissue engineering [J]. Journal of Oral Biology and Craniofacial Research, 2018, 8(1): 48-53.
[7] Gou Y N, Huang Y R, Luo W P, et al. Adipose-derived mesenchymal stem cells (MSCs) are a superior cell source for bone tissue engineering [J]. Bioactive Materials, 2024, 34: 51-63.
[8] Chen L, Liu Y Q, Yu C H, et al. Induced pluripotent stem cell-derived mesenchymal stem cells (iMSCs) inhibit M1 macrophage polarization and reduce alveolar bone loss associated with periodontitis [J]. Stem Cell Research & Therapy, 2025, 16(1): 223.
[9] Gan L, Liu Y, Cui D X, et al. Dental tissue-derived human mesenchymal stem cells and their potential in therapeutic application [J]. Stem Cells International, 2020, 2020: 8864572.
[10] Dieterle M P, Steinberg T, Tomakidi P, et al. Novel *in situ*-cross-linked electrospun gelatin/hydroxyapatite nonwoven scaffolds prove suitable for periodontal tissue engineering [J]. Pharmaceutics, 2022, 14(6): 1286.
[11] Augustine R, Gezek M, Nikolopoulos V K, et al. Stem cells in bone tissue engineering: progress, promises and challenges [J]. Stem Cell Reviews and Reports, 2024, 20(7): 1692-1731.
[12] Sun L, Du X Y, Kuang H F, et al. Stem cell-based therapy in periodontal regeneration: a systematic review and meta-analysis of clinical studies [J]. BMC Oral Health, 2023, 23(1): 492.
[13] Gao X Q, Ruzbarsky J J, Layne J E, et al. Stem cells and bone tissue engineering [J]. Life, 2024, 14(3): 287.
[14] Angelopoulos I. Bioengineered teeth and regenerative strategies: advances in tissue engineering and stem cell applications [J]. Annals of Biomedical Engineering, 2026, 54(2): 338-352.
[15] Gao P, Liu S, Wang X Y, et al. Dental applications of induced pluripotent stem cells and their derivatives [J]. Japanese Dental Science Review, 2022, 58: 162-171.
[16] Khorasani H R, Sanchouli M, Mehrani J, et al. Potential of bone-marrow-derived mesenchymal stem cells for maxillofacial and periodontal regeneration: a narrative review [J]. International Journal of Dentistry, 2021, 2021: 4759492.

- [17] Kim G H, Yang J, Jeon D H, et al. Differentiation and establishment of dental epithelial-like stem cells derived from human ESCs and iPSCs [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(12): 4384.
- [18] Cai J L, Zhang Y M, Liu P F, et al. Generation of tooth-like structures from integration-free human urine induced pluripotent stem cells [J]. *Cell Regeneration*, 2013, 2(1): 6.
- [19] Mandai M, Watanabe A, Kurimoto Y, et al. Autologous induced stem-cell-derived retinal cells for macular degeneration [J]. *The New England Journal of Medicine*, 2017, 376(11): 1038-1046.
- [20] Miyagawa S, Kainuma S, Kawamura T, et al. Case report: Transplantation of human induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocyte patches for ischemic cardiomyopathy [J]. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*, 2022, 9: 950829.
- [21] Doi D, Magotani H, Kikuchi T, et al. Pre-clinical study of induced pluripotent stem cell-derived dopaminergic progenitor cells for Parkinson's disease [J]. *Nature Communications*, 2020, 11(1): 3369.
- [22] Kim K H, Kim E J, Kim H Y, et al. Fabrication of functional ameloblasts from hiPSCs for dental application [J]. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 2023, 11: 1164811.
- [23] Ikeda E, Morita R, Nakao K, et al. Fully functional bioengineered tooth replacement as an organ replacement therapy [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2009, 106(32): 13475-13480.
- [24] Sonoyama W, Liu Y, Fang D J, et al. Mesenchymal stem cell-mediated functional tooth regeneration in swine [J]. *PLoS One*, 2006, 1(1): e79.
- [25] Guo H, Li B, Wu M L, et al. Odontogenesis-related developmental microenvironment facilitates deciduous dental pulp stem cell aggregates to revitalize an avulsed tooth [J]. *Biomaterials*, 2021, 279: 121223.
- [26] Binder M, Biggs L C, Kronenberg M S, et al. Novel strategies for expansion of tooth epithelial stem cells and ameloblast generation [J]. *Scientific Reports*, 2020, 10(1): 4963.
- [27] Scesa G, Adami R, Bottai D. iPSC preparation and epigenetic memory: does the tissue origin matter? [J]. *Cells*, 2021, 10(6): 1470.
- [28] Liu L, Liu Y F, Zhang J, et al. Ameloblasts serum-free conditioned medium: bone morphogenic protein 4-induced odontogenic differentiation of mouse induced pluripotent stem cells [J]. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, 2016, 10(6): 466-474.
- [29] Miao X, Niibe K, Fu Y Y, et al. Epiprofin transcriptional activation promotes ameloblast induction from mouse induced pluripotent stem cells via the BMP-Smad signaling axis [J]. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 2022, 10: 890882.
- [30] Hermans F, Hasevoets S, Vankelecom H, et al. From pluripotent stem cells to organoids and bioprinting: recent advances in dental epithelium and ameloblast models to study tooth biology and regeneration [J]. *Stem Cell Reviews and Reports*, 2024, 20(5): 1184-1199.
- [31] Hemeryck L, Hermans F, Chappell J, et al. Organoids from human tooth showing epithelial stemness phenotype and differentiation potential [J]. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2022, 79(3): 153.
- [32] Hermans F, Hemeryck L, Bueds C, et al. Organoids from mouse molar and incisor as new tools to study tooth-specific biology and development [J]. *Stem Cell Reports*, 2023, 18(5): 1166-1181.
- [33] Alghadeer A, Hanson-Drury S, Patni A P, et al. Single-cell census of human tooth development enables generation of human enamel [J]. *Developmental Cell*, 2023, 58(20): 2163-2180.
- [34] Polo J M, Liu S, Figueroa M E, et al. Cell type of origin influences the molecular and functional properties of mouse induced pluripotent stem cells [J]. *Nature Biotechnology*, 2010, 28(8): 848-855.
- [35] Achilleos A, Trainor P A. Neural crest stem cells: discovery, properties and potential for therapy [J]. *Cell Research*, 2012, 22(2): 288-304.
- [36] Xing Y J, Nie X, Chen G Q, et al. Comparison of P₇₅ NTR-positive and -negative ectomesenchymal stem cell odontogenic differentiation through epithelial-mesenchymal interaction [J]. *Cell Proliferation*, 2016, 49(2): 185-194.
- [37] He Y L, Chen S J, Xia D S, et al. Neural crest-derived mesenchymal stem cells: fates and perspectives [J]. *World Journal of Stem Cells*, 2025, 17(9): 107689.
- [38] Kidwai F K, Movahednia M M, Iqbal K, et al. Human embryonic stem cell differentiation into odontoblastic lineage: an *in vitro* study [J]. *International Endodontic Journal*, 2014, 47(4): 346-355.
- [39] Zhang M L, Zhang X C, Luo J X, et al. Investigate the odontogenic differentiation and dentin-pulp tissue regeneration potential of neural crest cells [J]. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 2020, 8: 475.
- [40] Seki D, Takeshita N, Oyanagi T, et al. Differentiation of odontoblast-like cells from mouse induced pluripotent stem cells by Pax9 and Bmp4 transfection [J]. *Stem Cells Translational Medicine*, 2015, 4(9): 993-997.
- [41] Araújo I J D, Perkins R S, Zhang W J, et al. Canonical and non-canonical WNT-loaded hydrogel for dentin-pulp regeneration [J]. *Journal of Dental Research*, 2026, 105(3): 364-373.
- [42] Lee M, Lee Y S, Shon W J, et al. Physiologic dentin regeneration: its past, present, and future perspectives [J]. *Frontiers in Physiology*, 2023, 14(14): 1313927.
- [43] Xie H, Dubey N, Shim W, et al. Functional odontoblastic-like cells derived from human iPSCs [J]. *Journal of Dental Research*, 2018, 97(1): 77-83.
- [44] Zhang C, Hu K, Liu X, et al. Novel hiPSC-based tri-culture for pre-vascularization of calcium phosphate scaffold to enhance bone and vessel formation [J]. *Materials Science & Engineering C: Materials for Biological Applications*, 2017, 79: 296-304.
- [45] Miszuk J, Zhong L N, Sun H L. Engineering efferocytosis for bone regeneration [J]. *Macromolecular Bioscience*, 2025, 25(10): e00094.
- [46] Cho H M, Kim U, Kim S, et al. Enhanced regenerative potential of human dental pulp stem cells for the pulp-dentin complex through coculture with iPSC-derived endothelial cells: an *in vitro* study [J]. *Archives of Oral Biology*, 2010, 180: 8.
- [47] Kobayashi Y, Nouet J, Baljinnyam E, et al. iPSC-derived cranial neural crest-like cells can replicate dental pulp tissue with the aid of angiogenic hydrogel [J]. *Bioactive Materials*, 2021, 14: 290-301.
- [48] 冯琦, 白颖, 闫松鹤, 等. 伴牙周炎患者种植牙同期行引导性骨再生治疗的效果[J]. *临床医学*, 2024, 44(12): 47-50.

- Feng Y, Bai Y, Yan S H, et al. The efficacy of guided bone regeneration performed concurrently with dental implant placement in patients with periodontitis [J]. *Clinical Medicine*, 2024, 44(12): 47-50.
- [49] Wang Y, Hua Y M. Generation of periodontal ligament stem cells from human iPSCs with a chemically defined condition [J]. *Biologia Futura*, 2020, 71(3): 241-248.
- [50] Hamano S, Tomokiyo A, Hasegawa D, et al. Extracellular matrix from periodontal ligament cells could induce the differentiation of induced pluripotent stem cells to periodontal ligament stem cell-like cells [J]. *Stem Cells and Development*, 2018, 27(2): 100-111.
- [51] Sugiura R, Hamano S, Tomokiyo A, et al. PAX9 is involved in periodontal ligament stem cell-like differentiation of human-induced pluripotent stem cells by regulating extracellular matrix [J]. *Biomedicine*, 2022, 10(10): 2366.
- [52] Tomokiyo A, Hynes K, Ng J, et al. Generation of neural crest-like cells from human periodontal ligament cell-derived induced pluripotent stem cells [J]. *Journal of Cellular Physiology*, 2017, 232(2): 402-416.
- [53] Yin X H, Li P, Li Y, et al. Growth/differentiation factor-5 promotes *in vitro/vivo* periodontal specific differentiation of induced pluripotent stem cell-derived mesenchymal stem cells [J]. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 2017, 14(5): 4111-4117.
- [54] Chien K H, Chang Y L, Wang M L, et al. Promoting induced pluripotent stem cell-driven biomineralization and periodontal regeneration in rats with maxillary-molar defects using injectable BMP-6 hydrogel [J]. *Scientific Reports*, 2018, 8(1): 114.
- [55] Yamashita D, Hamano S, Hasegawa D, et al. Establishment of periodontal ligament stem cell-like cells derived from feeder-free cultured induced pluripotent stem cells [J]. *Stem Cells and Development*, 2024, 33(23/24): 665-676.
- [56] Abd Rahman F, Azwa F N. Comparative dental pulp stem cells (DPSCs) and periodontal ligament stem cells (PDLSCs): difference in effect of aspirin on osteoblast potential of PDLSCs and DPSCs [J]. *Tissue Cell*, 2025, 94: 102776.
- [57] Liu G Q, Xue J L, Zhou X, et al. The paradigm shifts of periodontal regeneration strategy: from reparative manipulation to developmental engineering [J]. *Bioactive Materials*, 2025, 49: 418-436.
- [58] Castro-Manrreza M, Romano L E, López-García L, et al. Persistent stimulation of human mesenchymal stem/stromal cells with TNF- α and IFN- γ affects the release of large extracellular vesicles with immunoregulatory phenotype [J]. *Stem Cells Development*, 2025, 34(13/14): 291-303.
- [59] Teale M A, Schneider S, Eibl D, et al. Mesenchymal and induced pluripotent stem cell-based therapeutics: a comparison [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2023, 107(14): 4429-4445.
- [60] Hynes K, Bright R, Marino V, et al. Potential of iPSC-derived mesenchymal stromal cells for treating periodontal disease [J]. *Stem Cells International*, 2018, 2018: 2601945.
- [61] Gundu S, Varshney N, Sahi A K, et al. Recent developments of biomaterial scaffolds and regenerative approaches for cranio-maxillofacial bone tissue engineering [J]. *Journal of Polymer Research*, 2022, 29(3): 73.
- [62] Larrea Murillo L, Chen Z D, Song J, et al. Blood vessels bioengineered from induced pluripotent stem cell derived mesenchymal stem cells and porous silk fibroin coated functional scaffolds [J]. *Journal of Tissue Engineering*, 2025, 16: 20417314251355723.
- [63] Thai B Q, Luff S A, Churko J M, et al. WNT signaling in human pluripotent stem cells promotes HDAC2-dependent epigenetic programs and development of retinoic acid-responsive mesoderm [PP/OL]. *bioRxiv* (2025-06-08) [2026-03-23]. <https://doi.org/10.1101/2025.06.06.657928>.
- [64] Murata K, Takamura K, Watanabe R, et al. Production of bioactive cytokines using plant expression system for cardiovascular cell differentiation from human pluripotent stem cells [J]. *Stem Stem Cell Research & Therapy*, 2025, 16(1): 303.
- [65] Moslem M, Eberle I, Weber I, et al. Mesenchymal stem/stromal cells derived from induced pluripotent stem cells support CD34^{pos} hematopoietic stem cell propagation and suppress inflammatory reaction [J]. *Stem Cells International*, 2015, 2015: 843058.
- [66] Kang H, Shih Y R V, Varghese S. Direct conversion of human pluripotent stem cells to osteoblasts with a small molecule [J]. *Current Protocols in Stem Cell Biology*, 2018, 44: 1F.21.1-1F.21.6.
- [67] Limraksasin P, Nattasit P, Manokawinchoke J, et al. Application of shear stress for enhanced osteogenic differentiation of mouse induced pluripotent stem cells [J]. *Scientific Reports*, 2022, 12(1): 19021.
- [68] Shin H C, Kim J, Park S R, et al. mTOR plays an important role in the stemness of human fetal cartilage progenitor [J]. *Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, 2024, 21(2): 309-318.
- [69] Kawai S, Yoshitomi H, Sunaga J, et al. *In vitro* bone-like nodules generated from patient-derived iPSCs recapitulate pathological bone phenotypes [J]. *Nature Biomedical Engineering*, 2019, 3(7): 558-570.
- [70] Ochiai-Shino H, Kato H, Sawada T, et al. A novel strategy for enrichment and isolation of osteoprogenitor cells from induced pluripotent stem cells based on surface marker combination [J]. *PLoS One*, 2014, 9(6): e99534.
- [71] Matin A A, Fattah K, Masouleh S S, et al. Synthetic electrospun nanofibers as a supportive matrix in osteogenic differentiation of induced pluripotent stem cells [J]. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 2022, 33(11): 1469-1493.
- [72] Hou Y C, Yan Z, Wu Z Q. Concise review; the recent methods that enhance the osteogenic differentiation of human induced pluripotent stem cells [J]. *Current Stem Cell Research & Therapy*, 2021, 16(8): 949-957.
- [73] Holly D, Klein M, Mazreku M, et al. Stem cells and their derivatives: implications for alveolar bone regeneration: a comprehensive review [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(21): 11746.
- [74] Duan X J, Tu Q S, Zhang J, et al. Application of induced pluripotent stem (iPS) cells in periodontal tissue regeneration [J]. *Journal of Cellular Physiology*, 2011, 226(1): 150-157.
- [75] Kim E J, Kim K H, Kim H Y, et al. Harnessing the dental cells derived from human induced pluripotent stem cells for hard tissue engineering [J]. *Journal of Advanced Research*, 2024, 61: 119-131.
- [76] Chen W C, Liu X, Chen Q M, et al. Angiogenic and osteogenic regeneration in rats via calcium phosphate scaffold and endothelial cell co-culture with human bone marrow mesenchymal

- stem cells (MSCs), human umbilical cord MSCs, human induced pluripotent stem cell-derived MSCs and human embryonic stem cell-derived MSCs [J]. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, 2018, 12(1): 191-203.
- [77] Lin Y, Huang S H, Zou R, et al. Calcium phosphate cement scaffold with stem cell co-culture and prevascularization for dental and craniofacial bone tissue engineering [J]. *Dental Materials*, 2019, 35(7): 1031-1041.
- [78] Kargozar S, Mozafari M, Ghodrat S, et al. Copper-containing bioactive glasses and glass-ceramics: from tissue regeneration to cancer therapeutic strategies [J]. *Materials Science & Engineering C: Materials for Biological Applications*, 2021, 121: 111741.
- [79] Kargozar S, Lotfibakhshaeish N, Ebrahimi-Barough S, et al. Stimulation of osteogenic differentiation of induced pluripotent stem cells (iPSCs) using bioactive glasses: an *in vitro* study [J]. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 2019, 7: 355.
- [80] Ghaznavi D, Babaloo A, Shirmohammadi A, et al. Advanced platelet-rich fibrin plus gold nanoparticles enhanced the osteogenic capacity of human mesenchymal stem cells [J]. *BMC Research Notes*, 2019, 12(1): 721.
- [81] Zhang Y B, Wang P, Mao H J, et al. PEGylated gold nanoparticles promote osteogenic differentiation in *in vitro* and *in vivo* systems [J]. *Materials & Design*, 2021, 197: 109231.
- [82] Azadian E, Arjmand B, Ardeshtyrlajimi A, et al. Polyvinyl alcohol modified polyvinylidene fluoride-graphene oxide scaffold promotes osteogenic differentiation potential of human induced pluripotent stem cells [J]. *Journal of Cellular Biochemistry*, 2020, 121(5/6): 3185-3196.
- [83] Wang S, Tao Y. Construction of graphene oxide-modified peptide-coated nanofibrous enhances the osteogenic conversion of induced pluripotent stem cells [J]. *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*, 2023, 72(18): 1434-1444.
- [84] Mahdavi M R, Kehtari M, Mellati A, et al. Improved biological behaviours and osteoinductive capacity of the gelatin nanofibers while composites with GO/MgO [J]. *Cell Biochemistry and Function*, 2022, 40(2): 189-198.
- [85] Li Q, Nikolova M T, Zhang G Y, et al. Macro-scale, scaffold-assisted model of the human bone marrow endosteal niche using hiPSC-vascularized osteoblastic organoids [J]. *Cell Stem Cell*, 2025, 32(12): 1941-1958.
- [86] Zhong C, Tang Z H, Yu X, et al. Advances in the construction and application of bone-on-a-chip based on microfluidic technologies [J]. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 2024, 112(12): e35502.
- [87] Sheyn D, Ben-David S, Shapiro G, et al. Human induced pluripotent stem cells differentiate into functional mesenchymal stem cells and repair bone defects [J]. *Stem Cells Translational Medicine*, 2016, 5(11): 1447-1460.
- [88] Dong X X, Li H Y, Zhou Y L, et al. The stimulation of osteogenic differentiation of embryoid bodies from human induced pluripotent stem cells by akermanite bioceramics [J]. *Journal of Materials Chemistry B*, 2016, 4(13): 2369-2376.
- [89] Kang H, Shih Y R V, Nakasaki M, et al. Small molecule-driven direct conversion of human pluripotent stem cells into functional osteoblasts [J]. *Science Advances*, 2016, 2(8): e1600691.
- [90] Lee E S, Park J, Wang J, et al. Osteogenic commitment of human induced pluripotent stem cell-derived mesenchymal progenitor-like cells on biomimetic scaffolds [J]. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 2016, 37: 147-155.
- [91] Liu X, Chen W C, Zhang C, et al. Co-seeding human endothelial cells with human-induced pluripotent stem cell-derived mesenchymal stem cells on calcium phosphate scaffold enhances osteogenesis and vascularization in rats [J]. *Tissue Engineering Part A*, 2017, 23(11/12): 546-555.
- [92] Latimer J, Wu D T, Yilmaz B T, et al. Biological principles for success in alveolar bone, soft tissue, and periodontal regeneration [J/OL]. *Journal of Periodontal Research*, 2026. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/41603142/>. DOI: 10.1111/jre.70068.
- [93] Metallo C M, Ji L, de Pablo J J, et al. Directed differentiation of human embryonic stem cells to epidermal progenitors [J]. *Methods in Molecular Biology*, 2010, 585: 83-92.
- [94] Das R, Harper L, Kitajima K, et al. Embryonic stem cells can generate oral epithelia under matrix instruction [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, 24(9): 7694.
- [95] Das R, Ali HRW, Osman T, et al. Xenofree generation of oral keratinocytes from induced pluripotent stem cells derived from adult human fibroblasts for oral mucosal regeneration [PP/OL]. *ResearchSquare* (2024-08-13) [2026-03-23]. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-7842122/v1>.
- [96] Atwa A, Wadan A S, Halloom S I, et al. Organoid models of the oral mucosa for precision medicine [J/OL]. *Tissue Engineering Part B: Reviews*, 2026. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/41761920/>. DOI: 10.1177/19373368261420588.
- [97] Brueske L L, Roffel S, Beekhuis-Hoekstra S, et al. Incorporation of iPSCs together with TERT-immortalized keratinocytes and fibroblasts into reconstructed human gingiva enhances phenotype of gingival epithelium [J]. *PLoS One*, 2025, 20(7): e0327728.
- [98] Bu Q Q, Bai H, Ruan M J, et al. Engineering a Wnt-activated osteomimetic microenvironment with iPSC-derived MSCs for synergistic bone regeneration, angiogenesis, and neurogenesis [J]. *Biomaterials*, 2026, 329: 123978.
- [99] Brozek R, Kurpisz M, Koczowski R. The oral cavity-potential source of stem cells [J]. *Postępy Higieny i Medycyny Doswiadczalnej*, 2017, 71: 881-894.
- [100] Lin C S, Liu S Y, Huang M J, et al. Induction of human stem cells into ameloblasts by reaggregation strategy [J]. *Stem Cell Research & Therapy*, 2024, 15(1): 332.
- [101] Buitrago J C, Morris S L, Backhaus A, et al. Unveiling the immunomodulatory and regenerative potential of iPSC-derived mesenchymal stromal cells and their extracellular vesicles [J]. *Scientific Reports*, 2024, 14(1): 24098.
- [102] Hamano S, Sugiura R, Yamashita D, et al. Current application of ips cells in the dental tissue regeneration [J]. *Biomedicines*, 2022, 10(12): 3269.
- [103] Yang B, Yang X T, Luo X Y, et al. DFCs/TDM based artificial bio-root to obtain long-term functional root regeneration in non-human primate [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2023, 451: 138738.
- [104] Chen J, Liao L J, Lan T T, et al. Treated dentin matrix-based scaffolds carrying TGF- β 1/BMP4 for functional bio-root regeneration [J]. *Applied Materials Today*, 2020, 20: 100742.
- [105] Mehler V J, Burns C J, Stauss H, et al. Human iPSC-derived neural crest stem cells exhibit low immunogenicity [J]. *Molecular*

- Therapy Methods & Clinical Development, 2020, 16: 161-171.
- [106] Teles E Silva A L, Yokota-Moreno B Y, Branquinho M S, et al. Generation and characterization of cortical organoids from ipsc-derived dental pulp stem cells using traditional and innovative approaches [J]. *Neurochemistry International*, 2024, 180: 105854.
- [107] Lee J H, Seo S J. Biomedical application of dental tissue-derived induced pluripotent stem cells [J]. *Stem Cells International*, 2016, 2016: 1-7.
- [108] Kuebler B, Selvitella S, Aran B, et al. Deciphering reprogramming efficiency in human induced pluripotent stem cells: insights from the generation of 150 cell lines [J]. *Frontiers in Immunology*, 2026, 16: 1719056.
- [109] Laurent L C, Ulitsky I, Slavin I, et al. Dynamic changes in the copy number of pluripotency and cell proliferation genes in human ESCs and iPSCs during reprogramming and time in culture [J]. *Cell Stem Cell*, 2011, 8(1): 106-118.