

УДК

«Использование зубных стволовых клеток, для лечения болезней полости рта»

Сапабеков Султан Серикович

dr.sapabekov@gmail.com

Студент 3-го курса, факультет естественных наук, кафедра «биотехнологии и микробиологии»,

ЕНУ им. Л.Н. Гумилева

Нур-Султан, Республика Казахстан

Научный руководитель – Исмуканова Гульжамал Жасулановна

Аннотация

Стимулом для увеличения количества исследований по лечению болезней полости рта, начиная с 2000-х годов, стало обнаружение новых ниш со стволовыми клетками в челюстных структурах. Ежегодно проводятся работы в этой области, в результате которых раскрывается большой потенциал использования зубных стволовых клеток. За последние десятилетия было проведено значительное количество исследований по поискам наиболее удобных способов лечения таких заболеваний как пародонтит, кариес, выпадение зубов, поражение пульпы и т.д. Многие исследования проводились на животных, и только относительно с недавнего времени,

стали испытываться на людях. Одним из радикальных методов лечения является, восстановление пародонтита, при введении стволовых клеток напрямую в очищенное место от поражения; использование различных костно-заменяющих веществ, в качестве основы; использование ростовых факторов, для активации стволовых клеток, и индукции заживления раны в зубах. Помимо исследований регенеративной способности клеток, также проводились сравнения различного рода скаффолдов, которые в качестве основы могли ускорить пролиферацию и дифференциацию клеток. На данный момент времени все еще проводятся исследования и поиск лучших способов терапии стволовыми клетками, так как при их использовании нужно учитывать индивидуальные характеристики человека, и возможные аллергические реакции.

Вступление

Одними из важных проблем современности являются болезни ротовой полости, так как из-за них ухудшается качество жизни, становится тяжело перерабатывать пищу и больные выглядят некрасиво с эстетической стороны. Поэтому поиск решений данных проблем стал весьма актуальным в последние десятилетия. К методам лечения больных зубов на данный момент времени, относятся механическая отчистка от кариеса, депульпирование зуба, и если это заболевание пародонта, то протезирование и имплантирование искусственных зубов в челюсть. Минусы этих методов заключаются в том, что с возрастом у людей пародонт становится рыхлее, и имплантаты могут не прижиться, протезы нужно менять в определенные моменты жизни, а лечение кариеса, и депульпирование не могут восстановить внутренней части зуба, что может привести к его дальнейшей потере.

Зубы сложноорганизованная структура, состоящая из таких частей как эмаль, дентин, пульпа, десна, нервные волокна, сосуды, цемент и так далее. В образовании и формировании зубных тканей участвуют клетки эпителиального происхождения амелобласты, из которых в дальнейшем формируется эмаль, а также клетки мезенхимального происхождения - одонтобласты. Последние, к сожалению, теряются после выпадения молочных зубов и прорезания основных, что усложнило исследование и культивирование этих клеток. Таким образом, со дня открытия зубных стволовых клеток, было проведено множество работ, по их использованию для лечения заболеваний полости рта. Впервые Гронтош и его коллеги обнаружили и выделили стволовые клетки пульпы зуба (dental pulp stem cells, DPSC) и стволовые клетки периодонтальной связки (periodontal ligament stem cells, PDLSC) Впоследствии было изучено, что эти клетки экспрессируют те же маркеры, что и мезенхимальные стволовые клетки (МСК). Таким образом, DPSC и PDLSC способны, как и МСК дифференцироваться в остеобласты, адипоциты, хондроциты и одонтобласты, а также имеют способность образовывать функционально активные нейроны. Как оказалось в дальнейшем, пульпа зуба и периодонтальная связка не единственные источники стволовых клеток. Ученому Миурой (Miura) с сотрудниками удалось обнаружить и выделить стволовые клетки из выпавших молочных зубов (stem cells from human exfoliated deciduous teeth, SHED). Они так же показали, способность дифференцироваться подобно МСК пульпы, но отличаются от них более высокой пролиферативной способностью, что стало использоваться для восстановления поврежденных зубов или костей. Как оказалось в дальнейших исследованиях, существуют еще несколько ниш со стволовыми клетками в челюсти. Морсчеку с коллегами удалось выделить стволовые клетки зубных фолликулов (dental follicle stem cells, DFSC), а затем Соноймой с сотрудниками, были обнаружены стволовые клетки апикальной части корня (stem cells from apical papilla, SCAP). Важными источниками этих стволовых клеток являются третьи моляры. SCAP тоже обладает хорошими пролиферативными и дифференцирующими способностями, DFSC в свою очередь, также показал, образование остеобластов, адипоцитов и

нервоподобных клеток в культуре *in vitro* (Кемун и сотрудники, 2007; Кура и сотрудники, 2008; Яо и сотрудники, 2008), а также способность образовывать цемент, и периодонтальную связку *in vivo* (Ханда и сотрудники, 2002; Йокои и сотрудники, 2007). Открытие челюстных мезенхимальных стволовых клеток позволило их использовать в лечении болезней полости рта, но большинство экспериментов, особенно в начале развития исследований, проводилось на животных моделях.

Исследования, связанные с выращиванием зубной ткани и целого зуба.

В 2006 году была проведена работа на свиньях, с использованием стволовых клеток периодонтальных связок (periodontal ligament stem cells, PDLSC) ученым Ватару Соноямой (Wataru Sonoyama, 2006) вместе с сотрудниками. Свиньи были выбраны в качестве модельных животных, из-за определенной схожести их челюстной ткани, с тканью людей. Как известно основную роль в поддержании зубов на своем месте играют корни, исходя из этого, можно восстановить лишь эту часть зуба, а вместо регенерации натуральной коронки, использовать искусственную. Результаты этого исследования особенно были важны для тех пациентов, у которых нет хорошей костной поддержки, например при приживлении имплантата. Таким образом, Сонояма с коллегами провел посадку стволовых клеток из апикальной части корня (SCAP) и стволовых клеток периодонтальной связки (PDLSC), с использованием гидроксиапатит/трикальций фосфата (hydroxyapatite/tricalcium phosphate, HA/TCP) в качестве скаффолда, в корневую нишу десны. Помимо этого, в исследовании провели сравнение качества DPSC (стволовых клеток пульпы зуба) и SCAP, и пришли к выводу, что SCAP имеет более активную регенеративную способность, а также более высокую теломеразную активность, но в итоге был использован комплекс SCAP связанный с HA/TCP, и PDLSC, который был связан с каркасом под названием Gelfoam. В результате работы, клетки показали хорошую регенеративную способность, восстановив большую часть корневого строения. Далее после приживления корня, была прикреплена форфоровая коронка (Рисунок 1). Полученные зубы вышли немного слабее натуральных, но авторы предполагают, что при более, оптимальном биоинженерном материале и при оптимизации количества и качества стволовых клеток можно добиться лучших результатов.

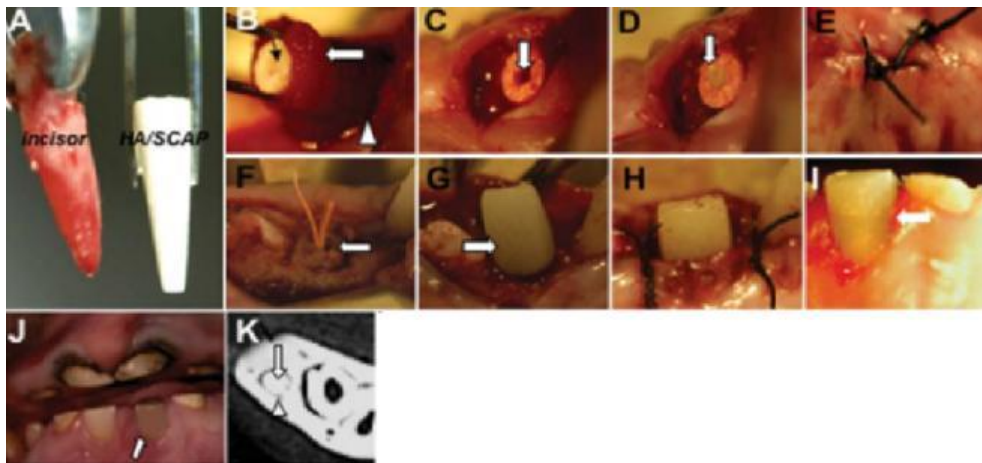


Рисунок 1 – На рисунке вы можете увидеть Свинную SCAP/PDLSC-опосредованную корневую/периодонтальную структуру в качестве искусственной коронковой опоры для восстановления функции зубов у свиней.

(А) Извлеченный нижний резец свиньи и корнеобразный носитель HA/ТСР. (Б) Gelfoam, содержащий PDLSCs (белая стрелка), использовали для покрытия HA/SCAP (черная стрелка) и имплантировали в гнездо нижнего резца (белый треугольник). (С) HA/SCAP-Gelfoam/PDLSC был имплантирован в лунку. (D) Канал предварительно сделанный в носителе, был опечатан временной пломбой для прикрепления фарфоровой коронки на следующем этапе. (Е) Имплантат HA/SCAP-Gelfoam/PDLSC был сшит в течение 3 месяцев. (F) Имплантат HA/SCAP-Gelfoam/PDLSC (стрелка) вскрыли, и временная пломба была удалена, чтобы обнажить канал. (G) Предварительно изготовленная фарфоровая коронка была цементирована к структуре HA/SCAP-Gelfoam/PDLSC. (H) Открытый участок был зашит. (I и J) Через четыре недели после фиксации, фарфоровая коронка была сохранена у свиньи после нормального использования зуба, как показано белыми стрелками. (K)

После 3-х месячной имплантации HA/SCAP-Gelfoam/PDLSC сформировал твердую корневую структуру (белые стрелки), как показано на снимке компьютерной томографии. Между имплантатом и окружающей костной тканью было обнаружено четкое пространство периодонтальной связки (треугольные стрелки) [5].

Еще одной работой в этой области, но отличающейся тем, что в ней исследовали влияние пористости, на дифференцирующую способность клеток была проведена Ранией Эльбакли (Rania Elbackly) с сотрудниками в 2008 году. В своем исследовании они использовали стволовые клетки пульпы зуба (DPSC), для восстановления дентин/пульпоподобной ткани у Ново-Зеландских кроликов с применением поли-лакто-гликолиевой кислоты в качестве скаффолда. Последний был разделен на две группы с меньшей и с большей пористостью, чтобы выявить оптимальный диаметр поры каркаса. В результате работы, командой ученых было обнаружено, что оптимальная пористость для регенерации ткани, находилась в районе от 100 до 350 микрометров. Также они установили, что микропоры около 5 микрометров важны для процесса образования сосудов, а более крупные поры участвуют в миграции стволовых клеток, транспортировке питательных веществ и отходов, пролиферации и дифференцировке. Само выращивание некоторое время проводилось в кожных мешочках на спине кроликов. После определенного промежутка времени, проводили анализ образованных тканей. Вдобавок ко всему, была показана способность клеток вместе со скаффолдами, давать начало минерализованным структурам в течение 12 дней, что дало ткани, похожие на нормальный дентин, и ткани, схожие с зубной пульпой. Но в этой работе в полной мере не была описана пространственная организация получившейся структуры. В предыдущих исследованиях HA-ТСР показал хорошие результаты в качестве скаффолда и можно сделать вывод, что это вещество может быть отличной основой для выращивания корневых тканей зуба, но не дентина [6].

Для цели регенерации дентина, может быть использован деминерализованный дентинный матрикс (ДДМ), как было показано в исследовании, под руководством Гён-Чжон Канга (Kyung-Jung Kang) с сотрудниками в 2017 году, которые провели сравнение HA/ТСР и ДДМ. Деминерализованный дентинный матрикс представляет собой биоматериал, полученный из человеческого дентина, путем его измельчения и декальцификации. При сравнении HA-ТСР и ДДМ, последний, смог показать, более лучший дентиногенный потенциал. Опыт проводили на стволовых клетках, полученных из пульпы зуба человека (hPDSCs). Конечно в этой работе, комплекс ДДМ/ hPDSCs не был внедрен в корневую нишу, что не дает полного представления о ДДМ в качестве основы, для регенерации внутренней части зуба и всего зуба в целом. Поэтому исследования Соноямы дают более детальный результат о регенерации корневой ткани, хоть такая структура и имеет более слабые характеристики по сравнению с натуральным зубом. Исследования Гён-Чжон Канга показали, что ДДМ является хорошей основой для регенерации

дентина, и это может пригодиться ученым в дальнейших исследованиях. Помимо восстановления тканей целого зуба, существуют и другие проблемы связанные с полостью рта. Так, например, бактериальный налет образованный вокруг зуба, при невозможности проведения своевременного лечения, может привести к разрушению пародонтальной ткани поддерживающий корень, что имеет название – пародонтит. На современном этапе развития, существует ряд решений этой проблемы, например, путем хирургического удаления причины налета, но это не гарантирует полного выздоровления ткани. Поэтому, было найдено несколько путей лечения этого заболевания [7].

Ванаб Шехзаде вместе с коллегами в 2014 году опубликовали работу, где было описано сразу три случая лечения зубных поражений на людях. В исследовании было описано лечение второго левого нижнего премоляра, первого правого моляра, и левого верхнего резца. Шехзаде в своей работе использовал биосовместимые и биodeградируемые наночастицы поли(лактид-ко-гликолид)-полиэтиленгликоля (PLGA-PEG) в качестве скаффолда и стволовые клетки апикальной части корня (SCAP). Этот комплекс вводили непосредственно в очищенное от поражения место в полости зуба. Преимуществом используемого полиэфира является то, что он способен полностью разлагаться до углекислого газа и воды в течение нескольких недель или месяцев позволяя естественным тканям заполнять пространство. Как было описано в работе, в первом случае пациент страдал от очень тонких стенок дентина и открытого 5 мм апекса, что могло перейти к дальнейшему повреждению всего зуба. В итоге было решено прочистить корневые каналы, а затем ввести внутрь гель PLGA-PEG вместе со SCAP. После этого полость была закрыта 5 мм стекло-иономерным цементом. Далее пациента обследовали с периодом в несколько месяцев, и в результате не было обнаружено симптомов опухоли, а жалоб на боли не поступало. А также рентген снимки показали значительное восстановление зубной ткани. При этом зуб оставался целым, а восстановлению подлежала лишь внутренняя часть. Вторым пациент имел симптомы некроза зубной ткани. После очищения полости зуба от поражения, был введен комплекс PLGA-PEG вместе со SCAP в полость зуба с последующей закупоркой специальной рассасывающейся барьерной мембраной (Викрил), и зашиванием раны шелковыми швами. Через 7 дней швы были удалены. После операции пациент обследовался на третий, шестой и восемнадцатый месяцы, где было показано значительное заживления тканей и жалоб на боли не поступало. Третий пациент, у которого была обнаружена подвижность II степени верхнечелюстного левого резца и обесцвечивание слизистой оболочки в передней левой области верхней челюсти. Исследователями было решено регенерировать костную ткань для восстановления всех структур. В процессе лечения часть пульповой ткани подлежала удалению, а корни подвергались прочистке. В образовавшуюся полость ввели смесь PLGA-PEG вместе со SCAP. После этого отверстие заполнялось пломбировочным материалом – Кавитом. Пациент обследовался в течение двух лет. По итогу было обнаружено, что костная ткань восстановилась в значительной мере, также от пациента не поступало жалоб о боли, и не было зарегистрировано никаких воспалений. В результате было показано, что при использовании PLGA-PEG в качестве скаффолда вместе со SCAP наблюдается ускоренный заживляющий эффект тканей при сложных дефектах уже через 4 месяца. Этих данных все еще не достаточно, так как было обследовано небольшое количество пациентов и в дальнейшем требуются дополнительные работы для того, чтобы определить, какие концентрации требуются для заживляющего эффекта зубов в полной мере [8].

Также одним из способов лечения является использование факторов роста, для активации стволовых клеток зубных тканей, и индукции регенерации пародонта. В связи было проведено множество исследований на животных, у которых хирургическим способом стимулировали возникновение дефектов в пародонте, а затем путем прямого введения ростовых факторов стимулировали регенерацию тканей. В различных исследованиях на животных использовались

такие факторы, как костный морфогенный белок (BMP-2), остеогенный белок (OP-1), инсулиноподобный фактор роста (IGF-I), тромбоцитарный фактор роста (PDGF), а также нейротрофический фактор головного мозга (BDNF). Исследования на людях также проводились, теми же способами, что и на животных. Так как пародонт, состоит из альвеолярной кости, окружающий зуб и десны, которая покрывает эту кость, то целью этих исследований является восстановление челюстных структур путем стимуляции зубных стволовых клеток. В работе Масахиры Китамуры (Masahiro Kitamura) и его коллег в 2008 году, был использован фактор роста фибробластов 2 (fibroblast growth factor 2, FGF-2). Работа подразумевала изучить регенеративные способности этого белка, а также показать, что он безопасен в использовании на людях. В ходе исследования были проведены клинические обследования, на наличие каких-либо побочных эффектов после введения препарата, но в результате не было обнаружено заболеваний связанных именно с введением ростового фактора. Конечно, это не абсолютный вывод и требуются больше исследований на людях с различными сопутствующими заболеваниями. Но работа, с использованием FGF-2 в качестве ростового фактора была не первой. Та же команда ученых проводила исследования с использованием FGF-2 на приматах и собаках. Это дало положительные результаты и показало, что искусственные дефекты пародонта, при использовании FGF-2 в правильных концентрациях, дает восстановительный эффект для альвеолярной кости, периодонтальной связки и цемента, без отрицательного эффекта на здоровье. Дозы, в исследовании на людях, были подобраны из предыдущей работы на собаках и приматах, что показало весьма хороший результат, для регенерации ткани, но помимо этих опытов, также требуются новые работы, которые уже проводятся на данный момент времени. Целью следующих исследований было проверить, какие оптимальные дозы могут ускорить заживление ткани. Также было показано, что введение фактора непосредственно в область корня зуба, дает регенеративный результат в виде увеличения высоты альвеолярной кости и десны. В опыте, была использована концентрация 0,3% FGF-2, что стимулировало регенерацию 58,6%, пародонта возле места введения (Рисунок 2). Как оказалось FGF-2 создает оптимальные условия, пригодные для регенерации тканей посредством действий, которые активируют маркеры мезенхимальных стволовых клеток в пародонте.

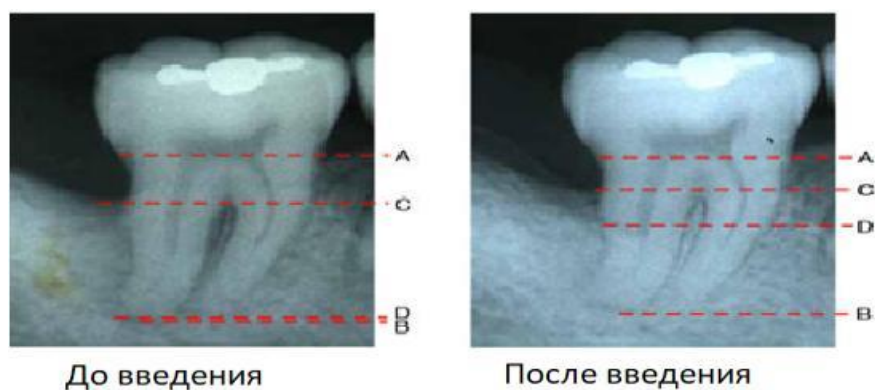


Рисунок 2 - Рентгенограммы зубов, полученные до и после введения 0,3%-го FGF-2 у 29-летнего мужчины в качестве субъекта.

Точки А, В, С и D представляют собой цементаэмалевое соединение, вершину, альвеолярный костный гребень и дно костного дефекта соответственно. Экспертами было проведено измерение высоты оси зуба между точками А и В, точками А и С и точками А и D до и после введения фактора.

Полученные результаты говорят о том, что 0,3% FGF-2 регенерировал ткань примерно на 2 мм через 36 недель после введения. Таким образом, в этом исследовании Китамура пришел к выводу, что использование FGF-2 способно стимулировать регенерацию ткани пародонта, но как уже упоминалось, это исследование не дает полных результатов, так как испытуемых было мало. В исследовании, также упоминались планы, в которых было проведение дальнейших исследований по определению оптимальной дозы для клинических применений и более подробного изучения безопасности FGF-2 на людях [9].

В 2016 году были также проведены исследования по лечению пародонтита ученым Фа-Мин Ченом (Fa-Ming Chen). Суть этой работы заключалась в том же, что и исследование Китамуры. Был проведен опыт на стволовых клетках периодонтальной связки (PDLSC) с использованием порошка, который является натуральным заменителем кости с остеоиндуктивными свойствами под названием Bio-Oss. В процессе работы были созданы листы со стволовыми клетками, на которые нанесли гранулы Bio-Oss. Следует отметить, что использование натурального заменителя кости не дает 100%-й гарантии для полной регенерации ткани при дефектах пародонта. Но из-за свойств Bio-Oss становится частью костного каркаса, и сохранять объем в течение долго времени, предполагают дальнейшие исследования этого материала вместе с PDLSC. В результате работы никаких проблем связанных с использованием PDLSC и Bio-Oss не было обнаружено, каждая группа испытуемых показала регенерационную способность альвеолярной кости и десны в течение 12 месяцев (Рисунок 3, таблица 1) [10].



Рисунок 3 - Изменение глубины костного дефекта во времени.

Таблица 1 - Расстояние от самой глубокой части дефекта до цементаэмалиевого соединения зуба, измерение в мм, ± стандартная ошибка.

Наименование	Номер зуба	Основание	3 месяца	6 месяцев	12 месяцев
Контрольная группа	21	7.19 ± 1.87	4.81 ± 1.93	5.11 ± 1.53	4.80 ± 1.41
Испытуемая группа	20	7.20 ± 2.65	4.89 ± 1.73	4.61 ± 1.87	4.49 ± 2.03

Также, в регенерации пародонта, можно использовать человеческие стволовые клетки пульпы зуба hDPSC культивированные вместе с витамином С, для образования плотных клеточных

листов, что и продемонстрировало исследование проведенное Цзинчао Ху (Jingchao Hu) и его коллегами. В работе также были использованы свиньи, которым произвели инъекцию простых стволовых клеток пульпы зуба и плотных клеточных листов hDPSC в зону пародонта. На 12-й неделе было показано, что группы свиней, которые были разделены по введенным стволовым клеткам, (те, кому трансплантировали листовые стволовые клетки и те, кому произвели инъекцию обычных hDPSC), показали хороший общий регенеративный потенциал. При сравнении же этих групп было обнаружено, что регенерация мягких тканей после обычной клеточной инъекции не была восстановлена до здорового уровня, а после листовой hDPSC было близко к нормальной структуре. Восстановление же твердых тканей дало объем регенерированной кости больше в плотных листах, чем при инъекции обычных hDPSC. Но как указывают сами авторы, этих результатов еще недостаточно, для подтверждения того, что hDPSCs готовы для повсеместного использования на практике. На регенерацию тканей могут влиять вид происхождения стволовых клеток, иммунологическое состояние пациента, а также наличие каких-либо воспалений, поэтому механизм действия hDPSCs требует еще детального изучения [11].

Заключение

Лечение стволовыми клетками является важнейшим достижением науки, особенно с тех пор, как они были обнаружены в челюстных тканях. Было проведено множество исследований о методах лечения зубных заболеваний, и о молекулярных основах этих процессов, также производится изучение влияния ростовых факторов, на различные виды стволовых клеток. Как показали описанные выше исследования, для восстановления функций зуба, не обязательно регенерировать всю его структуру. Можно вырастить лишь корневую часть, которая будет удерживать искусственную коронку, а если последняя будет сломана, то не составит труда поставить новую. Это намного легче использовать в клинической практике, чем процесс полного восстановления коронки зуба. А такие проблемы рта как, периодонтит и пульпит, как было показано, можно лечить трансплантацией стволовых клеток собранных в плотные листы, в требуемые места, с использованием индуцирующих ростовых факторов, и различного рода скаффолдов. На данный момент времени каждый год публикуются исследования, с новыми подробностями о механизмах регуляции стволовых клеток, а также о молекулярных основах этих механизмов. Все же при всех плюсах стволовых клеток, есть также и минусы. Так, например, все еще ведутся работы, где исследуется онкогенный потенциал этих клеток. Если все же ставится цель вырастить целый, нормальный и здоровый зуб, то и здесь присутствуют проблемы с прочностью эмали, а зубы с искусственной коронкой хоть и имеют определенную прочность, все же не так крепки как натуральные зубы. В последние года все чаще ставятся эксперименты, по лечению пародонтита и пульпита на человеческих моделях, и это, является, несомненно, плюсом. Также при использовании стволовых клеток орального происхождения требуется тщательный анализ, очистка, а также использование определенного вида среды для нормальной пролиферации клеток. Таким образом, исследование оральных стволовых клеток требует дальнейшей работы, которые проводятся ежегодно во всем мире, что говорит о важности таких знаний как контроль пролиферации и дифференциации стволовых клеток.

Список использованных источников

1. Li Peng, Ling Ye, Xue-dong Zhou. Mesenchymal Stem Cells and Tooth Engineering; International Journal of Oral Science, 2009. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3470112/>;
2. Franziska L. Ulmer, Andreas Winkel, Philipp Kohorst, Meike Stiesch; Stem Cells – Prospects in Dentistry. Clinic for Dental Prosthodontics and Biomedical Materials Science Center for Dentistry and

Oral Medicine Medical University of Hannover, Germany. Accepted for publication: 12 April 2010.
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21207302/>;

3. Keishi Otsu, Mika Kumakami-Sakano, Naoki Fujiwara, Kazuko Kikuchi, Laetitia Keller, Hervé Lesot, and Hidemitsu Harada; Stem cell sources for tooth regeneration: current status and future prospects. Published online 2014 Feb 4. doi: [10.3389/fphys.2014.00036](https://doi.org/10.3389/fphys.2014.00036).
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3912331/>;
4. Bo Yang, Yi Qiu, Niu Zhou, Hong Ouyang, Junjun Ding, Bin Cheng, and Jianbo Sun; Application of Stem Cells in Oral Disease Therapy: Progresses and Perspectives. Published online 2017 Apr.3. doi: [10.3389/fphys.2017.00197](https://doi.org/10.3389/fphys.2017.00197)
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5376595/>;
5. Sonoyama W, Liu Y, Fang D, Yamaza T, Seo B-M, et al (2006); Mesenchymal Stem Cell-Mediated Functional Tooth Regeneration in Swine. PLoS ONE 1(1): e79. doi:10.1371/journal.pone.0000079
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1762318/>;
6. Rania M. El-Backly, Ahmed G. Massoud, Azza M. El-Badry, Raef A. Sherif and Mona K. Marei; Regeneration of dentine/pulp-like tissue using a dental pulp stem cell/poly(lactic-co-glycolic) acid scaffold construct in New Zealand white rabbits. Journal compilation 2008, Australian Society of Endodontology.
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1747-4477.2008.00139.x>;
7. Kyung-Jung Kang, Min Suk Lee, Chan-Woong Moon, Jae-Hoon Lee, Hee Seok Yang, and Young-Joo Jang; In Vitro and In Vivo Dentinogenic Efficacy of Human Dental Pulp-Derived Cells Induced by Demineralized Dentin Matrix and HA-TCP. Hindawi Stem Cells International Volume 2017, Article ID 2416254.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5518496/>;
8. Vahab Shieh-zadeh, Farhad Aghmasheh, Farideh Shieh-zadeh, Mohammad Joulae, Emad Kosarieh, Farid Shieh-zadeh; Healing of large periapical lesions following delivery of dental stem cells with an injectable scaffold: New method and three case reports. Indian J Dent Res 2014;25:248-53
<https://www.ijdr.in/article.asp?issn=0970-9290;year=2014;volume=25;issue=2;spage=248;epage=253;aulast=Shieh-zadeh>;
9. Masahiro Kitamura, Keisuke Nakashima, Yusuke Kowashi, Takeo Fujii, Hidetoshi Shimauchi, et al; Periodontal Tissue Regeneration Using Fibroblast Growth Factor -2: Randomized Controlled Phase II Clinical Trial. Published online 2008 Jul 2. doi: [10.1371/journal.pone.0002611](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0002611)
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2432040/>;
10. Fa-Ming Chen, Li-Na Gao, Bei-Min Tian, Xi-Yu Zhang, Yong-Jie Zhang, et al; Treatment of periodontal intrabony defects using autologous periodontal ligament stem cells: a randomized clinical trial. Published online 2016 Feb 19. doi: [10.1186/s13287-016-0288-1](https://doi.org/10.1186/s13287-016-0288-1)
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4761216/>;
11. Jingchao Hu, Yu Cao, Yilin Xie, Hua Wang, Zhipeng Fan, Jinsong Wang, Chunmei Zhang, Jinsong Wang, Chu-tse Wu and Songlin Wang; Periodontal regeneration in swine after cell injection and cell sheet transplantation of human dental pulp stem cells following good manufacturing practice. Stem Cell Research & Therapy volume 7, Article number: 130 (2016)
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5017121/>.