DOI:10.13210/j.cnki.jhmu.20241017.002
网络出版地址:https://link.cnki.net/urlid/46.1049.R.20241017.1455.004

PDLSC-Exo对牙周膜干细胞迁移和成纤维分化的作用研究

张 宁[1],胡 月[2],时小婷[1],曹楠珏[1],刘克达[1],孟 圆[2],王 蔚[1]✉
(1.中国医科大学附属口腔医院综合科,辽宁 沈阳 110001;2.辽宁省口腔疾病重点实验室,辽宁 沈阳 110001)

[摘要] **目的**:探究牙周膜干细胞来源外泌体(exosomes derived from periodontal ligament stem cells,PDLSC-Exo)对牙周膜干细胞迁移和成纤维分化的作用。**方法**:酶消化法提取PDLSCs;超速离心法提取PDLSC-Exo,应用透射电镜、纳米颗粒示踪和Western blot进行鉴定;PDLSCs经20 μg/mL PDLSC-Exo处理后,MTT和Annexin V-FITC/PI双染法分别检测细胞活力和细胞凋亡水平,细胞划痕实验检测细胞迁移能力,qRT-PCR检测细胞成纤维分化能力,Western blot检测PDLSCs中转化生长因子-β(transforming growth factor-β,TGF-β)/SMAD3信号水平;细胞划痕实验检测抑制SMAD3磷酸化后,PDLSC-Exo对细胞迁移的影响。**结果**:PDLSCs光镜下呈长梭形贴壁生长,具有成骨和成脂向分化能力,阳性表达间充质干细胞表面标记物CD73、CD90和CD105,不表达造血干细胞表面标记物CD31和CD45;PDLSC-Exo透射电镜下呈杯状囊泡结构,直径为30~150 nm,阳性表达外泌体特异性标记蛋白Alix和CD63,不表达细胞内质网特异性蛋白Calnexin;PDLSC-Exo处理组中PDLSCs细胞活性升高,细胞凋亡呈下降趋势,成纤维相关基因*COL1*和*FAP*表达增加,细胞划痕愈合率呈增加趋势,TGF-β经典信号P-SMAD2/3水平上调;SMAD3磷酸化抑制后,下调了PDLSC-Exo促进的PDLSCs细胞迁移能力。**结论**:PDLSC-Exo可能通过TGF-β/SMAD3信号通路促进牙周膜干细胞迁移和成纤维分化能力。

[关键词] 牙周膜干细胞;外泌体;成纤维分化;细胞迁移
[中图分类号] R781.4 [文献标志码] A [文章编号] 2097-5953(2025)17-1336-08

Research on the effect of PDLSC-Exo on migration and fibroblast differentiation of periodontal ligament stem cells

ZHANG Ning[1], HU Yue[2], SHI Xiaoting[1], CAO Nanjue[1], LIU Keda[1], MENG Yuan[2], WANG Wei[1]✉
(1. *Department of General Dentistry, School and Hospital of Stomatology, China Medical University, Shenyang* 110001, *China*; 2. *Liaoning Provincial Key Laboratory of Oral Diseases, Shenyang* 110001, *China*)

[*Foundation Project*]: *This study was supported by the National Natural Science Foundation of China* (82271037); *Liaoning Province Science and Technology Plan Project* (2022-*BS*-123); *Shenyang Science and Technology Plan Project* (2400023067, 21-173-9-34)
[*Author*]: *ZHANG Ning*, *E-mail*: 20201079@*cmu.edu.cn*.
[*Correspondence to*]: *WANG Wei*, *Chief Physician*, *Professor*, *M.D.*, *E-mail*: *wwang75@cmu.edu.cn*.
Received: 2024-07-18 *Revised*: 2024-10-03 *JHMU*, 2025;31(17):1336-1343

View from specialist: It is creative, and of certain scientific and educational value.

[Abstract] Objective: To investigate the effects of exosomes derived from periodontal ligament stem cells (PDLSC-Exo) on cell migration and fibroblast differentiation of PDLSCs. Methods: PDLSCs were extracted using enzymatic digestion; PDLSC-Exo was isolated by ultracentrifugation and characterized by transmission electron microscope (TEM), nanoparticle tracking and Western blot; following on treatment with 20 μg/mL PDLSC-Exo, cell viability and apoptosis were assessed using MTT and annexin V-FITC/PI double staining, respectively, while cell migration was evaluated by scratch assay; fibroblast differentiation related genes were detected by qRT-PCR, and TGF-β/SMAD3 signaling levels were detected by Western blot; cell scratch

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(82271037);辽宁省科学技术计划项目(2022-BS-123);沈阳市科技计划项目(2400023067,21-173-9-34)
[作者简介] 张宁,E-mail: 20201079@cmu.edu.cn。
[通讯作者] 王蔚,主任医师,教授,医学博士,E-mail: wwang75@cmu.edu.cn。
[收稿日期] 2024-07-18 [修回日期] 2024-10-03 网络出版时间:2024-10-17 15:28:43

assay was also used to investigate the effect of PDLSC-Exo on cell migration after inhibiting SMAD3 phosphorylation. **Results**: PDLSCs were spindle-shaped cells under a light microscope, and had both osteogenic and adipogenic differentiation abilities; PDLSCs positively expressed the mesenchymal stem cell surface antigens (CD73, CD90, and CD105), and negatively expressed the hematopoietic stem cell surface antigens (CD31 and CD45); PDLSC-Exo exhibited the cup-plate-shaped vesicular structure under a TEM with a diameter of 30 nm-150 nm; PDLSC-Exo was positive for exosome-specific markers (Alix and CD63) and negative for endoplasmic reticulum protein (Calnexin); in the PDLSC-Exo treatment group, cell viability of PDLSCs was increased, cell apoptosis showed a tendency to decrease, the expressions of fibroblast differentiation related genes *COL1* and *FAP* were increased, healing area rate in scratch assay showed a tendency to increase, and level of P-SMAD2/3 (canonical transforming growth factor-β (TGF-β) signaling pathway) was upregulated; after inhibiting SMAD3 phosphorylation, cell migration ability of PDLSCs promoted by PDLSC-Exo was downregulated. **Conclusion**: PDLSC-Exo promote cell migration and fibroblast differentiation of PDLSCs, which may be related to upregulation of TGF-β/SMAD signaling pathway.

[**Key words**] Periodontal ligament stem cells; Exosomes; Fibroblast differentiation; Cell migration

牙周膜是位于牙根与牙槽骨之间用以固定牙根并承担咀嚼压力的粗壮胶原纤维束。作为硬组织之间的软组织界面,牙周膜发挥着牙齿支持、咬合力传导、参与牙槽骨和牙根修复以及咀嚼的神经控制等重要作用。牙周炎、根尖周炎、咬合创伤和牙外伤等都会造成牙周膜损伤,导致牙周膜胶原纤维和其他基质成分断裂或降解,严重影响患牙的健康[1]。而重度牙周炎、大面积根尖周病变和牙外伤等在进行完善的牙周和牙体治疗后,仍难以形成良好的牙周膜愈合。因此,明确牙周膜愈合的机制在牙周组织损伤修复中具有重要意义。

牙周膜中的多种细胞共同参与牙周膜纤维结构的形成和维持,其中牙周膜干细胞(periodontal ligament stem cells, PDLSCs)被认为是调控牙周组织稳态的关键[2]。PDLSCs的细胞生物学行为如细胞增殖、成纤维分化和细胞迁移能力与牙周膜的形成、维持和再生密切相关。PDLSCs移植入牙周缺损动物模型后,可再生牙周膜等牙周组织[3];机械力作用下,Yes相关蛋白通过RhoA/ROCK信号促进牙周膜细胞分化为肌成纤维细胞[4];人牙周膜细胞中高水平的牙周膜相关蛋白-1通过促进胶原纤维的合成并抑制成骨细胞过度分化,进而抑制牙齿过度萌出[5]等。近年研究表明,来源于间充质干细胞的外泌体(exosomes, Exo)仍具有许多原间充质干细胞的特性,内含丰富的RNA、非编码RNA和蛋白质,通过影响受体细胞的增殖、迁移、分化从而促进损伤部位的修复和再生[6]。炎症微环境中PDLSC-Exo通过下调miR-17-5p促进血管内皮生长因子A介导的血管形成[7];水凝胶负载PDLSC-Exo促进大鼠的牙槽骨缺损的修复等[8],提示PDLSC-Exo在牙周组织修复中具有良好前景。

本研究通过体外细胞实验,探究PDLSC-Exo对PDLSCs细胞增殖、成纤维分化和细胞迁移的作用,明确其可能的分子机制,为牙周膜的组织修复与再生提供新的思路。

1 材料与方法

1.1 主要试剂和仪器

α-MEM培养基、胰蛋白酶和青-链霉素(Gibco,美国);胎牛血清(BI公司,美国);中性蛋白酶、Ⅰ型胶原酶、L-抗坏血酸、β-甘油磷酸钠、地塞米松、3-异丁基-1-甲基黄嘌呤(3-isobutyl-1-methylxanthine, IBMX)、吲哚美辛、胰岛素和四甲基偶氮唑盐(methylthiazolyldiphenyl-tetrazolium bromide, MTT)、茜素红S和油红O(Sigma,美国);CD73、CD105、CD146、CD34、CD45、Alix、CD63及Calnexin抗体(Abcam,英国);逆转录和qPCR SYBR Green Master Mix试剂盒(Yeasen,中国);Annexin V-FITC/PI双染试剂盒、β-actin抗体、RIPA蛋白裂解液、BCA蛋白定量试剂盒(赛维尔,中国);P-SMAD3和SMAD3(Beyotime,中国);PVDF膜(Millipore,美国);流式细胞仪(B&D,美国);细胞培养箱(Thermo,美国);倒置显微镜(Nikon,日本);实时定量PCR酶联检测仪(Applied Biosystems,美国)。

1.2 PDLSCs的分离、培养和鉴定

选择因正畸/阻生需要拔除的健康的前磨牙/智齿,牙齿拔除后置于含10%双抗的α-MEM培养基中,并迅速转移至超净台。刮除并收集根中1/3的牙周膜转移至离心管,加入终浓度为3 mg/mL Ⅰ型胶原酶和4 mg/mL中性蛋白酶,37 ℃消化30 min后接种于培养瓶中,CO_2培养箱中培养。待细胞生长到80%时传代,取第3~5代(P3-5)细胞用于后续实验。

第3代PDLSCs以5×10^4/孔接种于六孔板中,24 h后分别更换为成骨诱导液(含终浓度为50 μmol/L-抗坏血酸和10 mmol/L β-甘油磷酸钠的完全培养基)和成脂诱导培养基(含终浓度为10 mmol/L吲哚美辛,0.5 mmol/L IBMX,10 μg/mL胰岛素,1 mmol/L地塞米松),分别于诱导后28 d和

35 d行茜素红S和油红O染色；PDLSCs经0.5%BSA重悬细胞后以1×10⁶/mL分装至FACS管中，分别加入FITC或PE直接荧光标记的抗人CD105、CD90、CD73、CD31和CD45，对照组加入等量的同型对照IgG，冰上避光孵育1 h，1 mL 0.5%BSA中和后，流式细胞仪检测。

1.3 PDLSC-Exo的提取和鉴定

PDLSCs以5×10⁵个接种于10 cm的培养皿中，培养3 d后更换含无外泌体血清的培养基，继续培养48 h后收集上清。收集的上清经4 ℃ 3 000 *g*离心10 min后，0.22 μm过滤，并于4 ℃ 20 000 *g*再次离心30 min收集上清，随后4 ℃ 120 000 *g*离心2 h，弃上清后加入100 μL无菌PBS重悬得到PDLSC-Exo。

取上述10 μL PDLSC-Exo，用PBS稀释至100 μL并滴加至透射电镜铜网，62 ℃干燥固定30 min，磷钨酸染色后干燥固定30 min后上机观察；PBS稀释后的PDLSC-Exo注入纳米颗粒示踪分析仪，并根据仪器记录的颗粒数，待机器自动读数并生成报告；PDLSC-Exo经充分裂解后提取蛋白，测定蛋白浓度后变性，行SDS-PAGE电泳，80 V恒压电泳40 min，200 mA恒流湿转90 min，5%脱脂牛奶室温封闭1 h，一抗Alix(1∶500)、CD63(1∶500)及Calnexin(1∶500)4 ℃孵育过夜，TBST清洗后二抗室温孵育1 h，化学发光法ECL试剂盒检测条带位置。

1.4 MTT细胞活力实验

将PDLSCs以2×10³/孔接种到96孔板，24 h更换为含20 μg/mL PDLSC-Exo的完全培养基继续培养，于第1 d、3 d和7 d行MTT实验，于490 nm下测量吸光度。

1.5 Annexin V-FITC/PI双染法检测细胞凋亡

将PDLSCs以1×10⁵/孔接种至6孔板，以含20 μg/mL PDLSC-Exo的完全培养基培养48 h后，用不含EDTA的胰蛋白酶消化并收集细胞，PBS冲洗后，加入500 μL Binding Buffer重悬，依次加入5 μL Annexin V-EGFP和PI混匀，室温避光反应15 min后，流式细胞仪检测细胞凋亡。

1.6 细胞划痕实验

PDLSCs以1×10⁶/孔接种至6孔板，培养24 h后用200 μL无菌枪头作一划痕，PBS轻轻冲洗并吸收游离细胞，更换培养基为含20 μg/mL PDLSC-Exo的完全培养基，于划痕后12 h倒置显微镜观察，拍照，Image J软件分析并计算细胞划痕愈合率。

1.7 qRT-PCR检测牙周膜细胞成纤维分化能力

牙周膜细胞以5×10⁵/孔接种至12孔板，24 h后更换为含20 μg/mL PDLSC-Exo的成纤维诱导培养基继续培养7 d，预冷PBS冲洗后TRIzol提取RNA，nanodrop测量RNA浓度。等量的mRNA经逆转录后，进行qRT-PCR。以*GAPDH*为内参检测成纤维分化相关基因Ⅰ型胶原蛋白(collagen type I，COL1)、纤维连接蛋白1(fibronectin 1，FN1)、成纤维活化蛋白(fibroblast activating protein，FAP)、骨膜蛋白(periostin，POS)和*COL3*的相对表达量，引物序列见表1。目的基因C_t值与内参基因比较，采用$2^{-\Delta\Delta Ct}$方法计算。

表1 引物序列

Tab 1 Primer sequence

Gene	sequence(5′～3′)	
Gapdh	F：GGAAGCTTGTCATCAATGGAAATC	R：TGATGACCCTTTTGGCTCCC
COL1	F：CCAAGACGAAGACATCCCACCA	R：CCGTTGTCGCAGACGCAGAT
FN1	F：AACCTTGCTCCTGACAGCTC	R：TTGGTGGGCTGACATTCTCC
FAP	F：GGCTCACGTGGGTTACTGAT	R：ATGCTCCTGGGTCTTTGGAC
POS	F：CTGCTTCAGGGAGACACACC	R：CACTGAGAACGACCTTCCCT
COL3	F：AATCAGGTAGACCCGGACGA	R：TTCGTCCATCGAAGCCTCTG

1.8 Western blot检测PDLSCs中TGF-β/SMAD3信号水平

PDLSCs以1×10⁶/孔接种至6孔板，以20 μg/mL PDLSC-Exo处理24 h后提取总蛋白，Western blot检测P-SMAD3(1∶1 000)和SMAD3(1∶1 000)信号水平，Image J软件对条带进行分析。

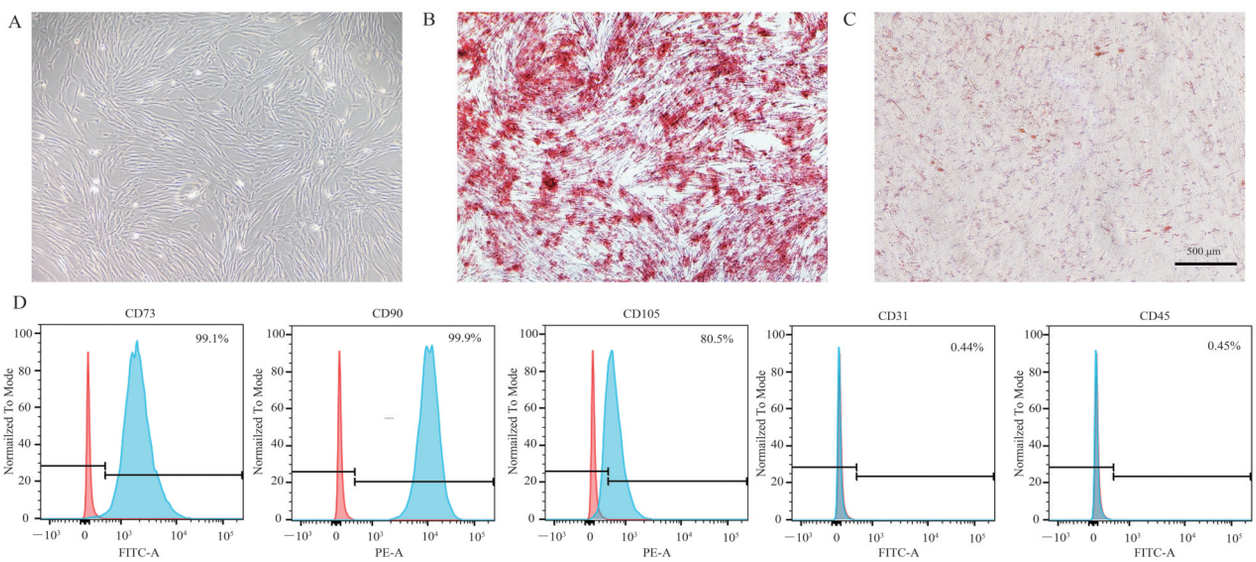
1.9 统计学处理

所有数据都表示为均值±标准差($\bar{x}\pm s$)形式，两组之间的比较采用Student′s t检验，$P<0.05$为差异具有统计学意义。采用Graphpad Prism(9.4.1)进行比较及作图。

2 结果

2.1 PDLSCs原代培养和鉴定

贴壁生长的PDLSCs呈长梭形并漩涡状排列，见图1A；经成骨诱导21 d后，茜素红染色可见矿化结节形成，见图1B；经成脂诱导35 d后，油红O染色可见大量脂滴形成，表明提取的PDLSCs具有成骨和成脂向分化潜能，见图1C。流式细胞术检测发现PDLSCs阳性表达间充质干细胞表面标记物CD73、CD90和CD105，不表达造血干细胞表面标记物CD31和CD45。见图1D。



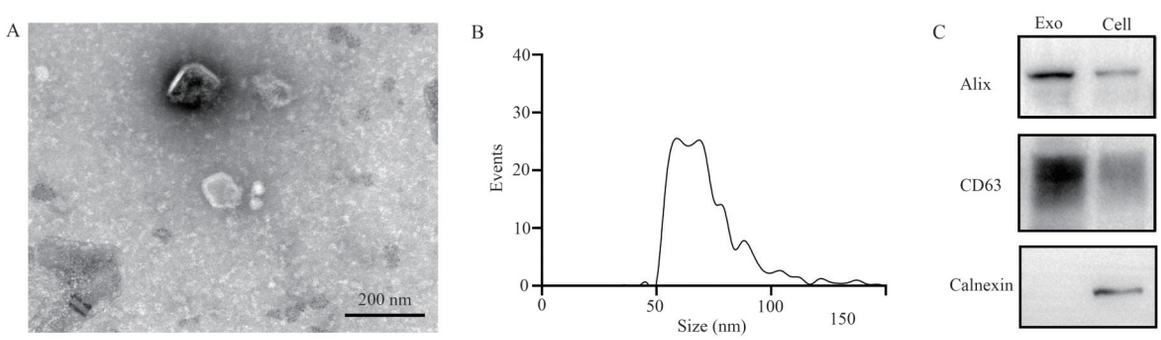
A：光镜下PDLSCs形态；B：茜素红染色；C：油红O染色；D：流式细胞术检测

图1 PDLSCs的鉴定

Fig 1 Characterization of PDLSCs

2.2 PDLSC-Exo鉴定

通过超速离心法分离提取的PDLSC-Exo透射电镜下可见其呈椭圆形囊泡状结构，内含低密度物质，见图2A；纳米流式粒径分析显示PDLSC-Exo大小在30～150 nm之间，见图2B；Western blot结果显示，PDLSC-Exo阳性表达外泌体特异性标志蛋白Alix和CD63，不表达细胞内质网特异性标志蛋白Calnexin，见图2C。



A：透射电镜下PDLSC-Exo形态；B：纳米流式粒径分析；C：western blot检测

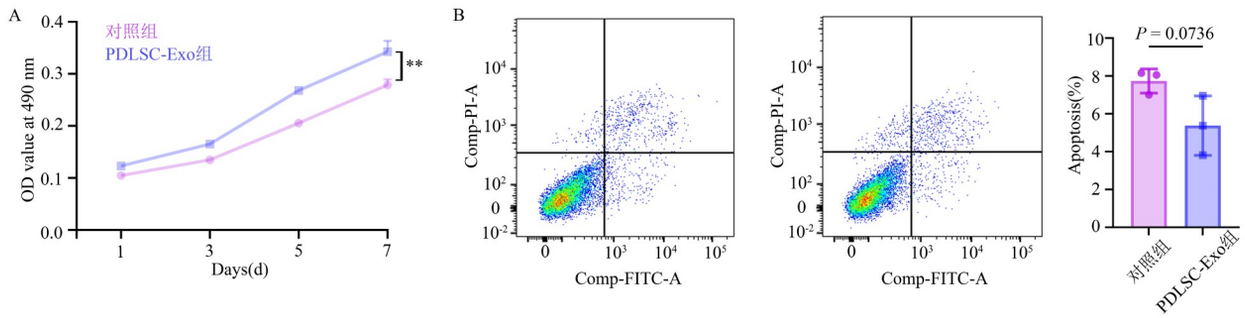
图2 PDLSC-Exo的鉴定

Fig 2 Characterization of PDLSC-Exo

2.3 PDLSC-Exo在成纤维细胞存活中的作用

MTT结果显示，第7天时PDLSC-Exo组吸光度值为0.343±0.021，而对照组吸光度值为0.279±0.011，表明PDLSC-Exo处理后可以显著增加牙周膜细胞的活力（$t=4.714$，$P<0.01$），见图3A；PDLSC-Exo与牙周膜细胞共培养24 h后，PDLSC-Exo组牙周膜细胞凋亡率（5.377%±1.57%）较对照组（7.333%±0.637%）呈下降趋势（$t=2.409$，$P=0.074$），见图3B。

2.4 PDLSC-Exo在PDLSCs成纤维分化和细胞迁



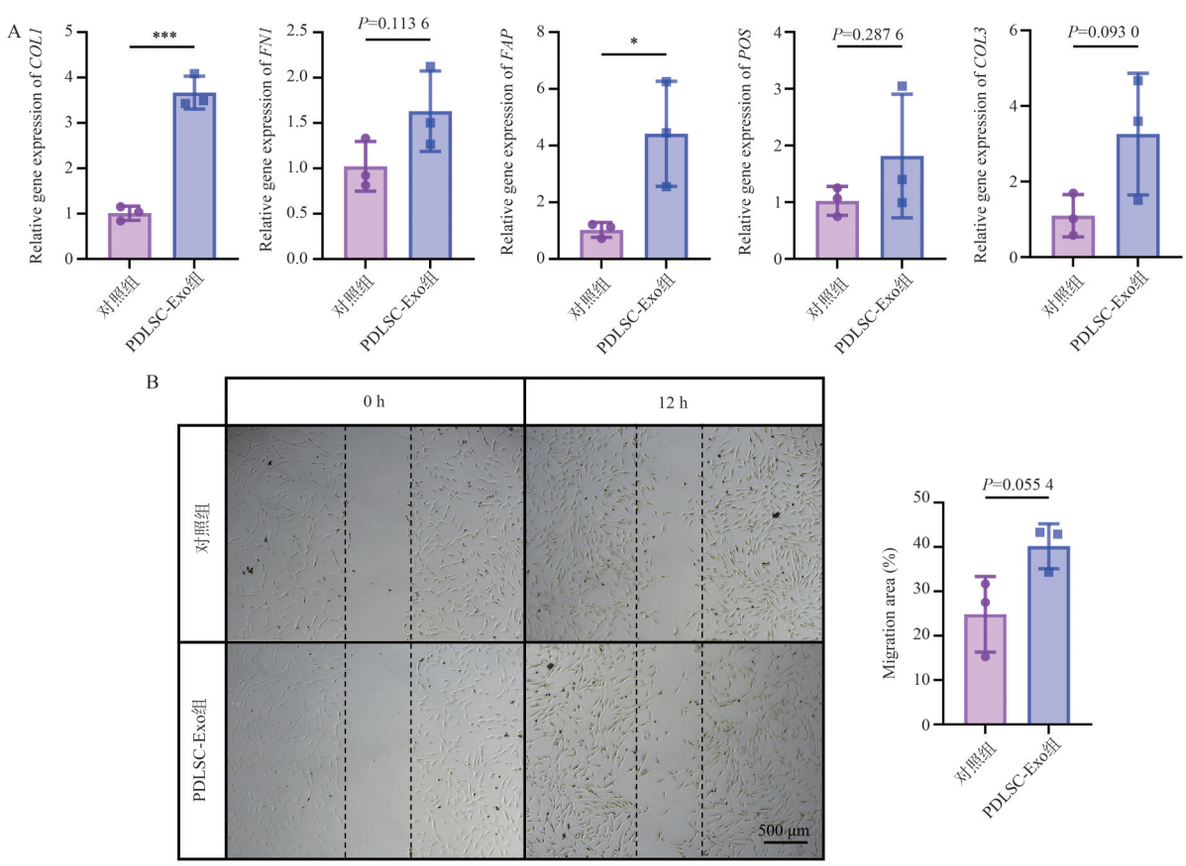
A：MTT检测细胞活力；B：流式细胞术检测细胞凋亡

图3　PDLSC-Exo在PDLSCs细胞存活中的作用

Fig 3　The role of PDLSC-Exo in cell viability of PDLSCs

移中的作用

牙周膜损伤的修复与PDLSCs的成纤维分化能力和细胞迁移能力密切相关。在成纤维分化诱导的第7天，与对照组相比，PDLSC-Exo组中成纤维相关基因*COL1*（$t=11.64$，$P<0.001$）和*FAP*（$t=3.138$，$P<0.05$）的相对表达量增加，差异有统计学意义，*COL3*（$t=2.196$，$P=0.093$）的相对表达量呈上调趋势，*FN1*（$t=2.019$，$P>0.1$）、*POS*（$t=1.226$，$P>0.1$）的相对表达量差异无统计学意义，见图4A；PDLSC-Exo处理12 h后细胞划痕愈合率呈增加趋势（$t=2.678$，$P=0.055$），见图4B，提示PDLSC-Exo可促进PDLSCs的成纤维分化能力和细胞迁移能力。



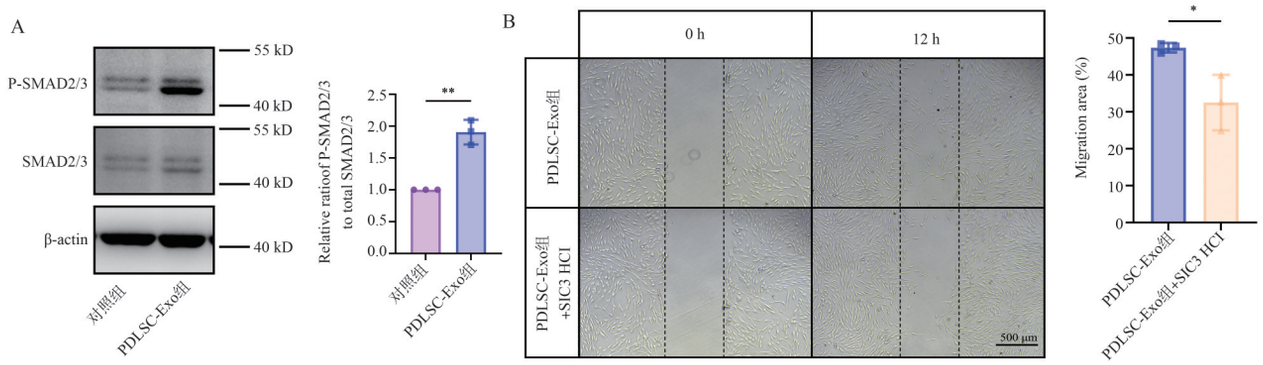
A：qRT-PCR检测；B：细胞划痕实验；$^{*}P<0.05$；$^{***}P<0.001$

图4　PDLSC-Exo在牙周膜细胞成纤维分化和细胞迁移中的作用

Fig 4　The role of PDLSC-Exo in fibroblast differentiation and cell migration of PDLSCs

2.5 PDLSC-Exo通过TGF-β/SMAD3信号在细胞迁移中的作用

转化生长因子-β(transforming growth factor-β,TGF-β)信号是成纤维分化中的关键信号。PDLSC-Exo处理PDLSCs 24 h后发现,TGF-β经典信号P-SMAD2/3水平上调(t=8.093,P<0.01),见图5A;与PDLSC-Exo组相比,加入SIS3 HCl(SMAD3磷酸化抑制剂)后,细胞划痕愈合率下降(t=3.371,P<0.05),见图5B。上述结果提示,PDLSC-Exo通过TGF-β/SMAD3信号通路促进PDLSCs细胞迁移。



A:western blot检测;B:细胞划痕实验;*P<0.05;**P<0.01

图5 TGF-β信号抑制后牙周膜细胞成纤维相关蛋白水平

Fig 5 TGF-β signaling inhibitor in fibroblast related protein levels in PDLSCs

3 讨论

国际牙外伤协会2020年最新提出的牙外伤临床指南中指出应尽可能地维持全脱出牙牙根表面牙周膜细胞活力[9],强调了PDLSCs在牙周膜愈合中的关键作用。本研究利用健康牙周膜经酶消化法成功培养出了具有成骨和成脂分化能力且阳性表达间充质干细胞表面标志物的PDLSCs,并采用超速离心法从PDLSCs上清中成功获得了符合外泌体的形态特征[10],并且高表达外泌体经典标志物CD63和Alix[11]的PDLSC-Exo。PDLSC-Exo作为间充质干细胞分泌的细胞外囊泡因其良好的免疫调节能力和组织修复能力在牙周组织愈合中具有积极意义[12]。

牙周膜的愈合依赖于PDLSCs的细胞生物学行为,牙周膜损伤后PDLSCs迅速迁移至损伤部位,并快速增殖、分化为成纤维细胞,参与胶原蛋白、糖蛋白及弹力纤维的合成,促进牙周膜的损伤愈合。牙周膜中胶原蛋白的主要为Ⅰ型和Ⅲ型,其中COL1为牙周膜细胞基质中最主要的胶原类型,在调节细胞增殖、黏附和分化中具有重要功能;COL3与牙周膜的穿通纤维形成有关,促进牙周膜和牙槽骨、牙骨质之间的连接形成[13]。FNs作为细胞外基质的重要组成之一,通过促进细胞黏附、细胞迁移、促进成纤维细胞的生长和胶原纤维的附着在组织形态发生和伤口愈合过程中发挥积极作用[14,15],钛种植体表面负载FN1后可显著促进细胞的黏附、迁移和增殖[16]。FAP在胚胎发育和伤口愈合中广泛阳性表达,高表达的FAP被认为是细胞外基质重塑、血管生成、细胞内信号传导、上皮-间质转化和免疫抑制中的关键信号[17,18]。细胞基质蛋白POS作为fasciclin基因家族成员高表达于牙周膜非胶原蛋白,*Pos*基因敲除后,小鼠牙周膜细胞和胶原纤维排列紊乱,纤维连接蛋白和肌腱蛋白C的分布不均匀[19];小鼠下颌磨牙在其对颌牙拔除后,牙周膜宽度减小,细胞外基质紊乱,POS和COL1水平下调[20]。与非分化的PDLSCs相比,成纤维分化的PDLSCs细胞划痕愈合能力增加[21]。在本研究中发现PDLSC-Exo可以增强PDLSCs的细胞活力,并抑制其细胞凋亡,上调成纤维相关基因的表达,促进细胞划痕愈合。上述结果表明,PDLSC-Exo通过促进PDLSCs细胞活力,抑制细胞凋亡,促进成纤维向分化和细胞迁移以调控牙周膜细胞生物学性能。

TGF-β信号是成纤维分化过程中的关键信号。TGF-β1对成纤维细胞具有趋化性,可刺激成纤维细胞增殖,促进胶原蛋白等多种细胞外基质蛋白的合成[22],并通过TGF-β经典和非经典信号参与下游分子的转录调控[23]。TGF-β1与成纤维细胞生长因子2协同促进PDLSCs成牙周韧带/成纤维向分化,并与骨形态发生蛋白竞争性抑制PDLSCs成骨向

分化[24]；TGF-β1通过诱导富含亮氨酸重复蛋白15（leucine rich repeat containing 15，LRRC15）在根尖牙周膜高度积累，且上调的LRRC15通过激活黏着斑激酶信号通路进一步促进成纤维细胞的分化、增殖和细胞迁移[21]。本研究发现PDLSC-Exo处理后，SMAD3磷酸化水平上调；而加入SMAD3磷酸化抑制剂后，在一定程度上逆转了PDLSC-Exo上调的细胞划痕愈合能力。上述结果提示，PDLSC-Exo可能通过介导TGF-β/SMAD3信号提高牙周膜成纤维分化和细胞迁移能力促进牙周膜愈合。

目前牙周组织的损伤修复研究多集中于牙周硬组织，而牙周膜作为牙槽骨与牙骨质之间的软组织界面鲜有关注。因此如何激活PDLSCs成纤维分化过程中的关键信号以促进其成纤维分化和细胞迁移被认为是牙周膜修复和再生的重点和难点。本实验发现PDLSC-Exo可能通过TGF-β/SMAD3信号通路调控PDLSCs细胞成纤维分化和细胞迁移能力，为牙源性干细胞外泌体应用于牙周膜的修复和再生提供了一定的理论基础，而PDLSC-Exo如何影响TGF-β/SMAD3信号仍需深入研究。

作者贡献度说明：

张宁：细胞实验、统计分析与稿件撰写；胡月：实验设计和细胞实验；时小婷：qRT-PCR检测；曹楠珏：western blot检测；刘克达：MTT检测；孟圆：数据分析；王蔚：文章审核与经费支持。

所有作者声明不存在利益冲突关系。

参考文献

1 Kaku M, Thant L, Dobashi A, et al. Multiomics analysis of cultured mouse periodontal ligament cell-derived extracellular matrix [J]. Sci Rep, 2024, 14(1): 354.

2 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.

3 Bright R, Hynes K, Gronthos S, et al. Periodontal ligament-derived cells for periodontal regeneration in animal models: A systematic review [J]. J Periodontal Res, 2015, 50(2): 160-172.

4 He Y, Xu H, Xiang Z, et al. YAP regulates periodontal ligament cell differentiation into myofibroblast interacted with RhoA/ROCK pathway [J]. J Cell Physiol, 2019, 234(4): 5086-5096.

5 Chen Y, Luo M, Xie Y, et al. Periodontal ligament -associated protein-1 engages in teeth overeruption and periodontal fiber disorder following occlusal hypofunction [J]. J Periodontal Res, 2023, 58(1): 131-142.

6 Alvarez-Viejo M. Mesenchymal stem cells from different sources and their derived exosomes: A pre-clinical perspective [J]. World J Stem Cells, 2020, 12(2): 100-109.

7 Zhang Z, Shuai Y, Zhou F, et al. PDLSCs regulate angiogenesis of periodontal ligaments *via* VEGF transferred by exosomes in periodontitis [J]. Int J Med Sci, 2020, 17(5): 558-567.

8 Zhao Y, Gong Y, Liu X, et al. The experimental study of periodontal ligament stem cells derived exosomes with hydrogel accelerating bone regeneration on alveolar bone defect [J]. Pharmaceutics, 2022, 14(10):2189.

9 Fouad AF, Abbott PV, Tsilingaridis G, et al. International association of dental traumatology guidelines for the management of traumatic dental injuries: 2. avulsion of permanent teeth[J]. Dent Traumatol, 2020, 36(4): 331-342.

10 赵力如，毛家奇，赵丙姣，等. 牙周膜干细胞来源外泌体的生物学特性分析[J]. 上海口腔医学，2019，28(4)：343-348.
Zhao LR, Mao JQ, Zhao BJ, et al. Isolation and biological characteristics of exosomes derived from periodontal ligament stem cells [J]. Shanghai J Stomatol, 2019, 28(4): 343-348.

11 Thery C, Witwer KW, Aikawa E, et al. Minimal information for studies of extracellular vesicles 2018 (MISEV2018): A position statement of the international society for extracellular vesicles and update of the MISEV2014 guidelines [J]. J Extracell Vesicles, 2018, 7(1): 1535750.

12 Lu J, Yu N, Liu Q, et al. Periodontal ligament stem cell exosomes key to regulate periodontal regeneration by miR-31-5p in mice model [J]. Int J Nanomed, 2023, 18: 5327-5342.

13 Romanos GE, Schroter-Kermani C, Hinz N, et al. Immunohistochemical localization of collagenous components in healthy periodontal tissues of the rat and marmoset (*Callithrix jacchus*). Ⅰ. distribution of collagen types Ⅰ and Ⅲ [J]. J Periodontal Res, 1992, 27(2): 101-110.

14 Shirbhate U, Bajaj P, Pandher J, et al. Fibronectin and its applications in dentistry and periodontics: A cell behaviour conditioner [J]. Cureus, 2022, 14(10): e30702.

15 张晓东，宋九余，李永明，等. 周期性牵张力对人牙周膜成纤维细胞Ⅲ型胶原和纤维连接蛋白表达影响的研究[J]. 口腔医学，2011，31(1)：16-18.
Zhang XD, Song JY, Li YM, et al. Effects of cyclic-tension force on expression of collagen-III and

fibronectin in HPDLF [J]. Stomatology, 2011, 31(1): 16-18.

16 Chang YC, Ho KN, Feng SW, et al. Fibronectin-grafted titanium dental implants: An *in vivo* study [J]. Biomed Res Int, 2016, 2016: 2414809.

17 Fitzgerald AA, Weiner LM. The role of fibroblast activation protein in health and malignancy [J]. Cancer Metastasis Rev, 2020, 39(3): 783-803.

18 Simkova A, Busek P, Sedo A, et al. Molecular recognition of fibroblast activation protein for diagnostic and therapeutic applications [J]. Biochim Biophys Acta Protein Proteom, 2020, 1868(7): 140409.

19 Tabata C, Hongo H, Sasaki M, et al. Altered distribution of extracellular matrix proteins in the periodontal ligament of periostin-deficient mice [J]. Histol Histopathol, 2014, 29(6): 731-742.

20 Nan DN, Everts V, Ferreira JN, et al. Alteration of extracellular matrix proteins in atrophic periodontal ligament of hypofunctional rat molars [J]. BDJ Open, 2023, 9(1): 31.

21 Kim HJ, Kim DJ, Kim SM, et al. Leucine-rich repeat containing 15-mediated cell adhesion is essential for integrin signaling in TGF-beta1-induced PDL fibroblastic differentiation [J]. Stem Cells, 2024, 42(3): 251-265.

22 Cutroneo KR. TGF-beta-induced fibrosis and SMAD signaling: Oligo decoys as natural therapeutics for inhibition of tissue fibrosis and scarring [J]. Wound Repair Regen, 2007, 15 Suppl 1: S54-60.

23 Wilson SE. TGF beta -1, -2 and -3 in the modulation of fibrosis in the cornea and other organs [J]. Exp Eye Res, 2021, 207: 108594.

24 Hyun SY, Lee JH, Kang KJ, et al. Effect of FGF-2, TGF-beta-1, and BMPs on Teno/Ligamentogenesis and osteo/cementogenesis of human periodontal ligament stem cells [J]. Mol Cells, 2017, 40(8): 550-557.

[**本文编辑**] 谭贝加 宋睿璞 朱 昊