

网络出版时间: 2018-11-5 15:37 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20181105.0926.009.html>

犬牙槽骨干细胞与髂骨骨髓干细胞 成骨能力的体内实验比较研究

顾 旷^{1,2,3}, 周 洁^{1,2,3}, 周 咏^{1,2,3}, 吴 涛^{1,2,3}, 徐孟丹^{1,2,3},
王默涵^{1,2,3}, 郑文龙^{1,2,3}, 邹多宏^{1,2,3}, 王元银^{1,2,3}

摘要 目的 比较拉布拉多犬牙槽骨干细胞 (AI-BMSC) 与髂骨骨髓间充质干细胞 (I-BMSC) 促进犬种植体近中临界骨缺损修复以及与种植体实现骨结合的能力。方法 构建拉布拉多犬下颌骨种植体近中临界骨缺损动物模型, 分别植入 β -TCP + AI-BMSC、 β -TCP + I-BMSC 及单纯 β -TCP。术后 4 周、8 周、10 周分别注射荧光标记物四环素、钙黄绿素与茜素红, 术后 12 周获取标本进行荧光标记组织学分析以及硬组织切片组织学分析。结果 荧光标记组织学分析结果显示, β -TCP + AI-BMSC 组和 β -TCP + I-BMSC 组的荧光表达量均比单纯 β -TCP 组多 ($P < 0.05$)。 β -TCP + AI-BMSC 组与 β -TCP + I-BMSC 组的荧光表达量差异无统计学意义。硬组织切片组织学分析结果显示, β -TCP + AI-BMSC 组和 β -TCP + I-BMSC 组的新骨形成面积均比单纯 β -TCP 组多 ($P < 0.05$)。 β -TCP + AI-BMSC 组和 β -TCP + I-BMSC 组间的新骨形成面积差异无统计学意义; β -TCP + I-BMSC 组种植体周围骨结合率高于 β -TCP + AI-BMSC 组, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。结论 AI-BMSC 和 I-BMSC 均可促进种植体近中临界骨缺损的修复, 两者的成骨能力没有明显差异。I-BMSC 可以促进更多的种植体周围骨结合。

关键词 牙槽骨干细胞; 髂骨骨髓干细胞; β -磷酸三钙

中图分类号 R 782.4

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2018)12-1861-05

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2018.12.009

随着细胞生物学技术的发展, 骨组织工程为骨缺损修复提供了新的方式, 并且引起了广泛的关注^[1-2]。获取并培养能在体内表现出较强成骨能力的干细胞是运用骨组织工程修复骨缺损的主要途径^[3-4]。髂骨来源骨髓间充质干细胞 (iliac bone bone marrow mesenchymal stromal cells, I-BMSC) 具

有较强的增殖能力和分化潜能, 是目前骨缺损研究中重要干细胞来源之一^[5]。除此以外, 来自于牙体组织的干细胞也表现出与 I-BMSC 相似的细胞特性^[6-8]。近年来, 有研究^[9]显示牙槽骨干细胞 (alveolar bone-derived stem cells, AI-BMSC) 在成骨诱导后, 高表达成骨相关基因, 为骨组织工程提供一种新的干细胞来源。AI-BMSC 相较于其他牙源性干细胞具有诸多优点, 取材方便, 容易获得; 位置表浅, 取材时创伤较小等。基于此, 该研究创建拉布拉多犬下颌骨种植体近中临界骨缺损模型, 将 AI-BMSC 和 I-BMSC 分别与支架材料复合后, 植入种植体近中骨缺损区, 观察二者的成骨能力差异。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 拉布拉多犬 10 只, 36 周龄, 体重约 1.5 kg, 购自上海甲干生物实验动物有限责任公司, 饲养于安徽医科大学实验动物中心。

1.1.2 主要试剂和仪器 高糖 DMEM、胎牛血清 (美国 Gibco 公司); PBS 缓冲液 (美国 Solarbio 公司); 胰蛋白酶、戊巴比妥钠 (美国 Sigma 公司); β -TCP (上海贝奥路生物材料有限公司); BLB 种植体 (北京莱顿生物有限公司); Bio-Gide (瑞士 Geistlich 公司); 种植机 (奥地利 W&H 公司); CO₂ 恒温恒湿孵育箱 (美国 Thermo 公司); 荧光倒置显微镜、倒置相差显微镜 (德国 Leica 公司)。

1.2 方法

1.2.1 AI-BMSC 和 I-BMSC 的原代获取与培养

AI-BMSC 的培养: 使用 30 g/L 的戊巴比妥溶液静脉注射麻醉拉布拉多犬 6 只, 麻醉起效后, 将拉布拉多犬固定于操作台, 常规备皮、消毒, 拔除双侧下颌前磨牙 (第一前磨牙、第二前磨牙、第三前磨牙), 从牙槽窝以及其周围区域使用咬骨钳获取牙槽骨的碎片共约 3 g 左右, 放入含有 PBS 的离心管中, 细胞房即刻培养。在超净工作台中, 使用无菌 PBS 缓冲液轻轻冲洗下颌牙槽骨碎片, 去除表面口腔唾液的污染。

2018-05-23 接收

基金项目: 国家自然科学基金 (编号: 31700849)

作者单位: ¹ 安徽医科大学口腔医学院、² 安徽医科大学附属口腔医院、³ 安徽省口腔疾病研究重点实验室, 合肥 230032

作者简介: 顾 旷, 男, 硕士研究生;

邹多宏, 男, 教授, 硕士生导师, 责任作者, E-mail: zouduo-honggy@163.com;

王元银, 男, 教授, 主任医师, 博士生导师, 责任作者, E-mail: wyy1970548@sohu.com

使用无菌器械仔细去除骨块外侧的皮质骨,只保留含有骨小梁的松质骨及包含的血液成分,修剪成 $2\text{ mm} \times 2\text{ mm}$ 大小的碎片,置于含 10% FBS 的 DMEM 培养皿中, $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 的恒温恒湿孵育箱中进行培养。5~7 d 后进行首次观察,换液,后每隔 3 d 细胞换液 1 次,倒置显微镜下观察细胞生长状态。I-BMSC 的培养:另取 2 只拉布拉多犬,静脉注射麻醉,对犬的髌骨进行常规备皮消毒铺巾,使用骨髓穿刺针内接含肝素钠注射液的注射器,进行穿刺,抽取骨髓约 3 ml 注入无菌 50 ml 离心管,轻轻摇晃均匀,采用全骨髓贴壁法进行细胞培养,5 d 后首次换液后每隔 3 d 细胞换液 1 次,倒置显微镜下观察细胞生长状态。当 AI-BMSC 和 I-BMSC 细胞生长融合至 80% 时,使用 0.25% 胰酶,挑选单个细胞克隆进行传代,选择生长状态良好的第 3 代细胞进行后续实验。

1.2.2 构建种子细胞与支架材料复合物 高温高压消毒 108 块直径 5 mm、厚度 2 mm 的 β -TCP 材料,浸泡于不含胎牛血清的 DMEM 中 24 h,收集生长状态良好的第三代 AI-BMSC 与 I-BMSC 细胞,稀释混匀,以 1×10^7 个/ml 浓度滴加于 β -TCP 中,在每片材料滴加 100 μl 细胞悬液,每片材料上的细胞数: 1×10^7 个/ml $\times 0.1\text{ ml} = 1 \times 10^6$ 个。恒温恒湿培养箱培养 4 h 后,加入含 10% FBS 的 DMEM 培养基继续培养,3 d 后取部分样本于电子显微镜下观察材料表面细胞形态。

1.2.3 犬下颌骨种植体近中临界骨缺损模型的建立与修复 拉布拉多犬前磨牙拔除后 3 个月,可以观察到拔牙区创口愈合良好,牙槽嵴平坦。使用 30 g/L 的戊巴比妥溶液静脉注射麻醉,麻醉起效后,将拉布拉多犬固定于操作台,常规备皮、消毒、铺巾。使用直径 5 mm 的环钻在下颌骨缺牙区制备临界骨缺损模型(5 mm $\times$ 5 mm $\times$ 6 mm,近远中径 $\times$ 颊舌径 $\times$ 深度),每个骨缺损中心间距为 12 mm,一侧做 3 个标准的骨缺损。在每个骨缺损区域的远中进行种植窝洞的预备,按种植钻头逐级预备至 3.5 mm,植入 3 枚 BLB 亲水性种植体,直径 4.1 mm,长度 10 mm,种植体的一侧壁暴露于骨缺损区。在创建的骨缺损区,分别植入 β -TCP + AI-BMSC 复合物($n=6$), β -TCP + I-BMSC 复合物($n=6$) 和单纯 β -TCP($n=6$),每个缺损区位点放入 3 块细胞材料复合物(每个缺损位点细胞数: $1 \times 10^6 \times 3 = 3 \times 10^6$ 个)。使用 Bio-Gide 覆盖骨缺损区,间断缝合创口。术后,每只实验动物肌肉注射青霉素(1.5 万 IU) 2 周,每

3 d 一次。

1.2.4 序列荧光标记 术后第 4 周、第 8 周、第 10 周,使用 30 g/L 的戊巴比妥腹腔麻醉实验动物,在骨缺损区域分别注射盐酸四环素(TE, 25 mg/kg)、钙黄绿素(CA, 20 mg/kg) 茜素红(AL, 30 mg/kg)。

1.2.5 组织学分析 术后第 12 周,处死实验动物,取拉布拉多犬下颌骨标本,置于 5% 中性福尔马林溶液中进行标本固定,梯度脱水,树脂包埋后,制备硬组织切片。使用激光共聚焦显微镜对标本进行荧光标记物的观察。整合荧光激发/发射波长分别为 405/560 ~ 590 nm (TE, 黄), 488/500 ~ 550 nm (CA, 绿), 和 543/580 ~ 670 nm (AL, 红)。利用 Image-Pro PlusTM 图像分析软件分析各组术后 8 周、10 周和 12 周的骨矿化情况。将进行荧光标记物分析的标本使用 Van Gieson 染色剂进行染色,检测各组骨形成情况。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 19.0 软件进行分析。方差与 t 检验实验结果均以 $\bar{x} \pm s$ 表示。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 种子细胞与支架材料复合后的观察 复合物培养 3 d 后,取部分样本,清洗,4% 多聚甲醛溶液固定,干燥,于扫描电子显微镜下观察细胞生长形态,可见 AI-BMSC 与 I-BMSC 在支架材料上较均匀分布,生长状态良好,见图 1。

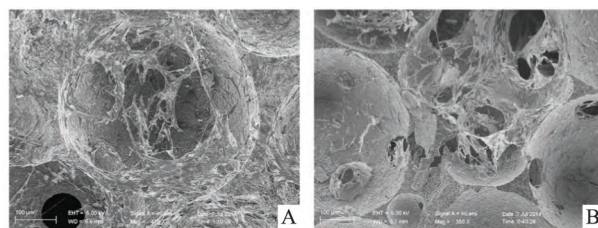


图1 扫描电镜下 β -TCP 上细胞生长情况
A: I-BMSC 组 $\times 419$; B: AI-BMSC 组 $\times 350$

2.2 序列荧光标记物分析 激光共聚焦显微镜下观察可见, β -TCP + I-BMSC 组、 β -TCP + AI-BMSC 组和单纯 β -TCP 组的荧光表达量不同: 单纯 β -TCP 组 TE (黄色) 的表达量低于 β -TCP + I-BMSC 组和 β -TCP + AI-BMSC 组, CA (绿色) 和 AL (红色) 具有与 TE (黄色) 相同的趋势, 见图 2A。使用 Image-Pro PlusTM 图像分析软件分析荧光表达面积并进行统计学处理后显示: 单纯 β -TCP 组 TE 的荧光表达

量 ($1.32\% \pm 0.12\%$) 低于 β -TCP + I-BMSC 组 ($5.12\% \pm 0.93\%$) 和 β -TCP + AI-BMSC 组 ($9.12\% \pm 0.21\%$), 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), β -TCP + AI-BMSC 组的 TE 表达量高于 β -TCP + I-BMSC 组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。单纯 β -TCP 组 CA 的荧光表达量 ($2.51\% \pm 0.09\%$) 低于 β -TCP + I-BMSC 组 ($12.52\% \pm 0.95\%$) 和 β -TCP + AI-BMSC 组 ($12.48\% \pm 2.42\%$), 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), β -TCP + I-BMSC 组与 β -TCP + AI-BMSC 组 CA 表达量之间的差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。单纯 β -TCP 组 AL 的荧光表达量 ($1.52\% \pm 0.08\%$) 低于 β -TCP + I-BMSC 组 ($2.52\% \pm 0.12\%$) 和 β -TCP + AI-BMSC 组 ($3.43\% \pm 0.13\%$), 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$), β -TCP + I-BMSC 组与 β -TCP + AI-BMSC 组 AL 表达量之间的差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见图 2B。

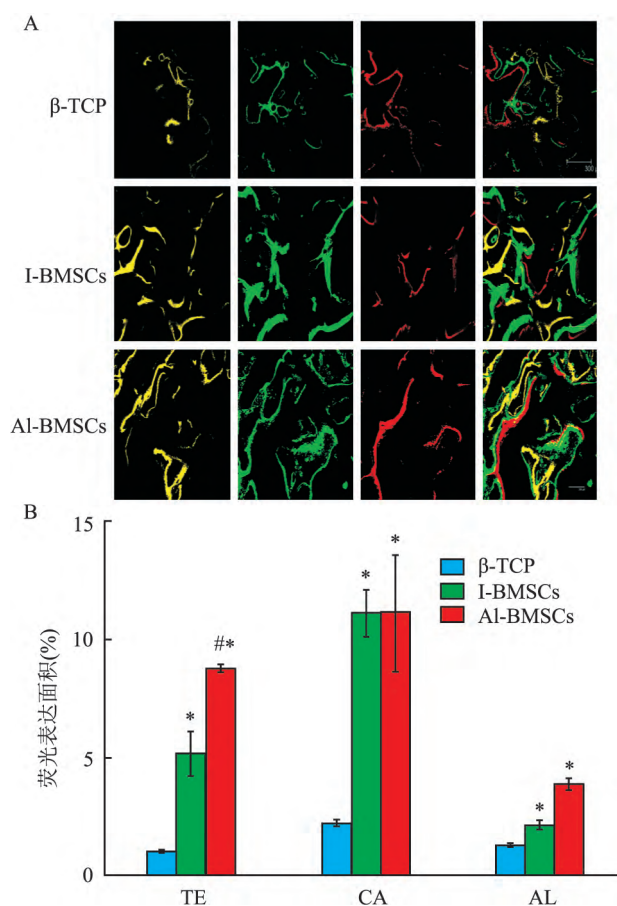


图2 荧光标记组织学分析

A: 连续荧光标记后不同时期荧光表达: TE (黄色), CA (绿色), AL (红色) $\times 63$; B: 各组荧光表达量的统计学分析; 与单纯 β -TCP 组比较: * $P < 0.05$; 与 β -TCP + I-BMSC 组比较: # $P < 0.05$

2.3 硬组织切片 Van Gieson 染色组织学分析 普

通正置显微镜下观察, 可见各组骨缺损区域均有新骨形成。 β -TCP 组骨缺损处新骨形成较少, 种植体表面仅有少量的新生骨结合。 β -TCP + AI-BMSC 组与 β -TCP + I-BMSC 组中, 骨缺损区域有广泛的新骨形成, 且已形成较为成熟的编织骨状态, 种植体表面有大量的新骨结合。 统计学结果显示, β -TCP + AI-BMSC 组新骨形成面积为 ($21.51\% \pm 1.61\%$), β -TCP + I-BMSC 组新骨面积为 ($29.82\% \pm 3.23\%$), β -TCP 组的新骨形成面积为 ($9.93\% \pm 2.43\%$), β -TCP + AI-BMSC 组和 β -TCP + I-BMSC 组的新骨形成面积均高于 β -TCP 组的新骨形成面积, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 而 β -TCP + AI-BMSC 组与 β -TCP + I-BMSC 组新骨形成量差异无明显统计学意义 ($P > 0.05$)。 β -TCP + AI-BMSC 组种植体周围骨结合率 (0.61 ± 0.07) 与 β -TCP + I-BMSC 组种植体周围骨结合率 (0.87 ± 0.04) 均大于 β -TCP 组 (0.04 ± 0.01), 差异有统计学意义 ($F = 394.82, P < 0.05$), 而 β -TCP + I-BMSC 组骨结合率高于 β -TCP + AI-BMSC 组, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$), 见图 3。

3 讨论

牙种植体的植入和稳定依赖足够的颌骨骨量支持和有效的种植体骨结合。 因肿瘤、外伤、牙周病等因素导致的上下颌骨骨组织缺损越来越常见, 严重影响了牙种植体的有效植入。 对于小范围的骨缺损, 通过同期植入颗粒型小牛基质骨, 结合骨组织自身的再生能力可在种植体植入的同时实现缺损骨修复。 临界骨缺损, 是指无法通过机体自身再生能力进行愈合的缺损, 目前广泛认可的动物模型中骨缺损的临界尺寸为直径 5 mm [14]。 对于治疗临界骨缺损以及超过临界范围的严重骨缺损, 自体骨移植是金标准, 但自体骨的获取常常受到供体区骨量不足、供区二次损伤、手术疼痛增加等限制, 因此, 骨组织工程为修复较大骨缺损提供了新的治疗方式。

骨组织工程主要包括 4 个要素: 种子细胞、生物材料、生长因子和血管化。 随着组织工程学的发展, 将种子细胞与支架材料复合后促进骨缺损修复, 是骨组织工程学的热点之一 [4]。 而种子细胞的选择直接关系到最终的修复效果。 I-BMSC 具有较强的细胞增殖能力、优秀的分化潜能, 是骨组织工程主要的种子细胞之一。 AI-BMSC 也具有较强的干细胞增殖分化能力, 且取材方便, 在拔牙或牙槽嵴修整手术同时即可获得足够量的牙槽骨, 不会给患者造成二

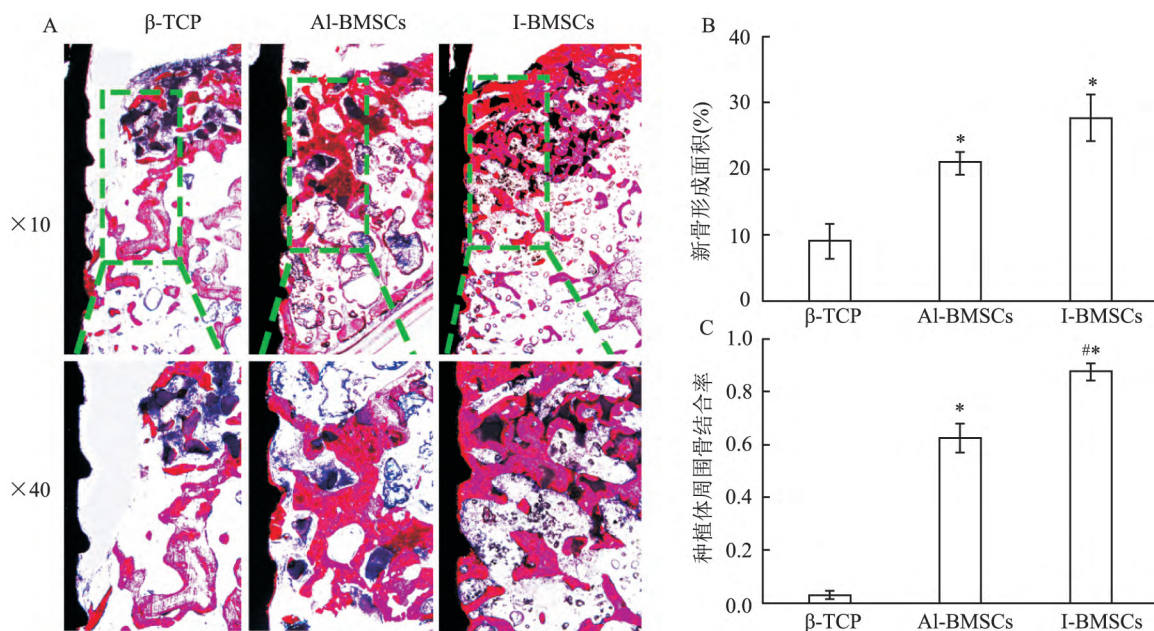


图3 术后12周 Van Gieson 染色组织学分析

A: Van Gieson 染色后各组骨形成情况; B: 统计学分析新骨形成面积; C: 种植体周围骨结合率; 与单纯 β-TCP 组比较: * $P < 0.05$; 与 β-TCP + AI-BMSC 组比较: # $P < 0.05$

次创伤。大量研究^[1]显示, I-BMSC 与 AI-BMSC 均具有较强的成骨分化能力。Lloyd et al^[2]将迷你猪 AI-BMSC 与胫骨来源的 BMSC 同时使用 FGF-2 进行诱导培养, 结果显示 AI-BMSC 的 ALP 活性高于胫骨来源的 BMSC。Matsubara et al^[3]利用成骨诱导培养液诱导培养犬 AI-BMSC 和 I-BMSC 后, AI-BMSC 组中 ALP 的活性与钙离子的含量均与 I-BMSC 组相近。Pekovits et al^[3]将采集到的人 AI-BMSC 与 I-BMSC 使用成骨诱导液诱导 2 周后, AI-BMSC 组与 I-BMSC 组间 BGLAP (骨 γ 羧基谷氨酸蛋白) 与 SPARC (富含半胱氨酸的酸性分泌蛋白) 基因表达水平无明显差异。

与上述实验结果类似, 本课题组前期体外实验^[1]显示, 通过成骨诱导液骨向诱导犬 AI-BMSC 以及 I-BMSC, 诱导后第 7 天、第 14 天以及第 21 天提取细胞总 RNA 进行 RT-PCR 检测, 结果显示, AI-BMSC 组中 ALP、COL-1 以及 OCN 的基因表达略高于 I-BMSC 组, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。但是, AI-BMSC 与 I-BMSC 促进体内缺损骨再生的能力还未见相关报道。基于此, 该研究对犬 AI-BMSC 和 I-BMSC 促进种植体近中临界骨缺损修复的能力以及与种植体实现骨结合的能力进行了比较研究。结果表明, 犬 AI-BMSC 与 I-BMSC 均可促进下颌骨种植体近中临界骨缺损修复, 在新骨形成能力方面, 两者无明显差别, 而 I-BMSC 可促进更多的骨质与

种植体实现骨结合, 这种差异可能源自于 AI-BMSC 的获取方式与 I-BMSC 不同。AI-BMSC 的获取主要有两种方式: 骨髓抽吸法和骨块培养法。骨髓抽吸法: Lloyd et al^[2]通过 CT 扫描和组织学检测发现, 迷你猪下颌骨正中联合处近下颌骨下缘 1/3 处骨组织中含有丰富的松质骨, 可使用穿刺针直接抽取获得下颌骨髓血, 培养获得 AI-BMSC。Matsubara et al^[3]直接使用穿刺针在比格犬下颌磨牙附近骨组织进行穿刺采集下颌骨髓血, 培养获得 AI-BMSC。骨块培养法: Pekovits et al^[3]和 Akintoye et al^[4]将采集到的牙槽骨碎片直接培养在含有培养基的培养皿中, 待细胞爬出增殖后传代。本课题组在获取犬原代 AI-BMSC 时, 通过穿刺几乎抽取不到拉布拉多犬下颌骨髓血, 为了获得犬 AI-BMSC, 本研究参考骨块培养法, 用咬骨钳获取犬下颌磨牙处骨质, 去除密致骨, 保留松质骨和骨髓血进行体外培养, 待细胞爬出结合挑克隆技术对细胞进行纯化, 尽可能保证所获取细胞具有干细胞特性, 但是难免少量牙槽骨成骨细胞混入, 导致骨向分化能力不足, 影响其与种植体实现骨结合。

参考文献

- [1] Yoshida T, Washio K, Iwata T, et al. Current status and future development of cell transplantation therapy for periodontal tissue regeneration [J]. Int J Dent, 2012, 2012: 307024.
- [2] Khojasteh A, Behnia H, Dashti S G, et al. Current trends in mes-

- enchymal stem cell application in bone augmentation: a review of the literature [J]. *J Oral Maxillofac Surg*, 2012, 70(4): 972 – 82.
- [5] Meijer G J, Bruijn J D, Koole R, et al. Cell based bone tissue engineering in jaw defects [J]. *Biomaterials*, 2008, 29(21): 3053 – 61.
- [6] Chen F M, Sun H H, Lu H, et al. Stem cell-delivery therapeutics for periodontal tissue regeneration [J]. *Biomaterials*, 2012, 33(27): 6320 – 44.
- [7] Rayment E A, Williams D J. Concise review: mind the gap: challenges in characterizing and quantifying cell- and tissue-based therapies for clinical translation [J]. *Stem Cells*, 2010, 28(5): 996 – 1004.
- [8] Gronthos S, Akintoye S O, Wang C Y, et al. Bone marrow stromal stem cells for tissue engineering [J]. *Periodontology* 2000, 2006, 41: 188 – 95.
- [9] Kim S H, Kim K H, Seo B M, et al. Alveolar bone regeneration by transplantation of periodontal ligament stem cells and bone marrow stem cells in a canine peri-implant defect model: a pilot study [J]. *J Periodontol*, 2009, 80(11): 1815 – 23.
- [10] Iwata T, Yamato M, Zhang Z, et al. Validation of human periodontal ligament-derived cells as a reliable source for cytotherapeutic use [J]. *J Clin Periodontol*, 2010, 37(12): 1088 – 99.
- [11] Matsubara T, Suardita K, Ishii M, et al. Alveolar bone marrow as a cell source for regenerative medicine: differences between alveolar and iliac bone marrow stromal cells [J]. *J Bone Miner Res*, 2005, 20(3): 399 – 409.
- [12] Zou D, Zhang Z, Ye D, et al. Repair of critical-sized rat calvarial defects using genetically engineered bone marrow-derived mesenchymal stem cells overexpressing hypoxia-inducible factor-1 α [J]. *Stem Cells*, 2011, 29(9): 1380 – 90.
- [13] 郑文龙, 吴涛, 邹多宏, 等. 犬牙槽骨干细胞与髂骨骨髓干细胞体外成骨能力的比较 [J]. *安徽医科大学学报*, 2016, 51(9): 1252 – 7.
- [14] Lloyd B, Tee B C, Headley C, et al. Similarities and differences between porcine mandibular and limb bone marrow mesenchymal stem cells [J]. *Arch Oral Biol*, 2017, 77: 1 – 11.
- [15] Pekovits K, Kröpl J M, Stelzer I, et al. Human mesenchymal progenitor cells derived from alveolar bone and human bone marrow stromal cells: a comparative study [J]. *Histochem Cell Biol*, 2013, 140(6): 611 – 21.
- [16] Akintoye S O, Lam T, Shi S, et al. Skeletal site-specific characterization of orofacial and iliac crest human bone marrow stromal cells in same individuals [J]. *Bone*, 2006, 38(6): 758 – 68.

Comparison of osteogenesis ability between canine AI-BMSC and I-BMSC *in vivo*

Gu Kuang^{1,2,3}, Zhou Jie^{1,2,3}, Zhou Yong^{1,2,3}, et al

(¹ College of Stomatology, Anhui Medical University, ² The Affiliated Stomatology Hospital of

³ Key Lab of Oral Diseases Research of Anhui Province, Hefei 230032)

Abstract Objective To compare the osteogenic potential of iliac bone marrow mesenchymal stem cells (I-BMSCs) with alveolar bone marrow MSCs (AI-BMSCs) when combined with β -TCP in critical-size bone defect around implants as well as to investigate the osseointegration between tissue-engineered bone and dental implants in dogs.

Methods To construct canine model of mandible critical-size bone defect. Cell-seeded scaffolds were put in defects, which were created in mandibular premolars area with simultaneous implant placement. The experiment was divided into 3 groups: β -TCP + AI-BMSCs group, β -TCP + I-BMSCs group, β -TCP group. Sequence fluorescence labeling was operated at 4 weeks, 8 weeks and 12 weeks after the surgery. 12 weeks after the surgery, the specimen was harvested and analyzed histologically. **Results** More new bone was detected in the β -TCP + AI-BMSCs group and β -TCP + I-BMSCs group than that in the β -TCP group ($P < 0.05$). There was no statistical difference of the new bone formation between the β -TCP + AI-BMSCs group and β -TCP + I-BMSCs group, while BIC with obvious statistical difference was higher in the β -TCP + I-BMSCs group than that in the β -TCP + AI-BMSCs group ($P < 0.05$). **Conclusion** Both AI-BMSCs and I-BMSCs have the ability of osteogenesis. More BIC could be obtained by using I-BMSCs.

Key words alveolar bone-derived stem cells; iliac bone marrow mesenchymal stromal cells; β -TCP