

Efficacy of dental pulp stem cell-derived extracellular vesicles and scaffold combination for bone regeneration in pre-clinical animal models

Efektivitas kombinasi vesikel ekstraseluler yang berasal dari stem sel pulpa gigi dan *scaffold* untuk regenerasi tulang pada model hewan praklinis

¹Abdul Gany, ²Irene Edith Rieuwpassa, ³Nurlindah Hamrun

¹Master of Dental Science Program, Faculty of Dentistry, Universitas Hasanuddin

^{2,3}Department of Oral Biology, Faculty of Dentistry, Universitas Hasanuddin

Makassar, Indonesia

Corresponding author, e-mail: ¹abdulgany1808@gmail.com

ABSTRACT

The regeneration of bone damage is a major challenge in regenerative therapy and requires effective strategies for bone repair and reconstruction. Extracellular vesicle (EV)-based therapy has emerged as a promising cell-free approach due to its role in intercellular communication. This systematic review evaluates the efficacy of dental pulp stem cell-derived extracellular vesicles (DPSC-EVs) combined with scaffolds for bone regeneration, focusing on preclinical evidence. An electronic search of PubMed, Scopus, and ScienceDirect was conducted up to October 2025, following PRISMA guidelines, and risk of bias was assessed using SYRCL. Of the 489 articles identified, 9 met the inclusion criteria. The findings indicate that DPSC-EV combined with a scaffold enhances the osteogenic response and promotes bone repair in preclinical models. It is concluded that DPSC-EV has potential as a novel and effective cell-free therapy for bone regeneration. However, further standardisation in EV preparation, long-term studies in large animals, and early-phase clinical trials are required to support clinical translation.

Keywords: dental pulp stem cells, extracellular vesicles, bone regeneration, regenerative medicine, preclinical studies

ABSTRAK

Regenerasi kerusakan tulang menjadi tantangan utama dalam terapi regeneratif dan membutuhkan strategi efektif untuk perbaikan dan rekonstruksi tulang. Terapi berbasis vesikel ekstrasel (VE) muncul sebagai pendekatan bebas sel yang menjanjikan karena perannya dalam komunikasi antar sel. Tinjauan sistematis ini mengevaluasi efikasi VE yang berasal dari stem sel pulpa gigi (SSPG-VE) yang dikombinasikan dengan *scaffold* untuk regenerasi tulang, dengan berfokus pada bukti praklinis. Pencarian elektronik di *PubMed*, *Scopus*, dan *ScienceDirect* dilakukan hingga Oktober 2025, mengikuti pedoman PRISMA, dan risiko bias dinilai menggunakan SYRCL. Di antara 489 artikel yang diidentifikasi, 9 memenuhi kriteria inklusi. Temuan menunjukkan bahwa DPSC-EV dikombinasikan dengan *scaffold* meningkatkan respons osteogenik dan mendorong perbaikan kerusakan tulang dalam model praklinis. Disimpulkan bahwa potensi DPSC-EV sebagai terapi bebas sel yang baru dan efektif untuk regenerasi tulang. Namun, standarisasi lebih lanjut dalam persiapan EV, studi jangka panjang pada hewan besar, dan uji klinis fase awal diperlukan untuk mendukung translasi klinis.

Kata kunci: stem sel pulpa gigi, vesikel ekstraseluler, regenerasi tulang, pengobatan regeneratif, studi praklinis

Received: 10 November 2025

Accepted: 5 March 2026

Published: 1 August 2026

PENDAHULUAN

Regenerasi defek tulang masih menjadi tantangan dalam bidang pengobatan regeneratif, sehingga pengembangan metode yang efektif untuk memperbaiki dan merekonstruksi defek tulang menjadi sangat penting.^{1,2} Terapi berbasis stem sel telah muncul sebagai strategi yang sangat menjanjikan untuk regenerasi jaringan, terutama karena kemampuan stem sel untuk melakukan pembaruan diri dan proliferasi secara cepat, sehingga mendukung pertumbuhan sel dan diferensiasi pada jaringan yang mengalami kerusakan.³ Namun, terapi berbasis sel seperti stem sel menghadapi berbagai keterbatasan, seperti rendahnya tingkat kelangsungan hidup sel, penolakan imun yang agresif, serta fungsi yang terbatas, bahkan dengan penggunaan sistem enkapsulasi yang paling mutakhir.⁴ Keterbatasan terapi sel mendorong peneliti untuk semakin memusatkan perhatian pada efek parakrin dari stem sel mesenkimal (*mesenchymal stem cells*/MSC).⁵

Saat ini, terapi berbasis vesikel ekstrasel (*extracellular vesicles*/EVs) telah berkembang sebagai terapi bebas sel yang efisien. Terapi ini mempertahankan bioaktivitas unggul dari stem sel serta menawarkan keunggulan signifikan dibandingkan terapi sel, termasuk efisiensi transplantasi yang lebih tinggi dan peningkatan kelangsungan hidup pada lingkungan mikro yang tidak menguntungkan.^{6,7} Vesikel ekstrasel turunan MSC (MSC-EVs) diketahui aman dan dapat diterima secara imunologis karena MSC seperti stem sel pulpa gigi (*dental pulp stem cells*/DPSCs) bersifat hipoinmunogenik, mengingat EVs pada dasarnya merupakan komponen turunan dari MSC. Vesikel ekstrasel yang berasal dari DPSC (DPSC-EVs) telah dilaporkan menunjukkan efektivitas perawatan yang lebih baik terhadap defek tulang dibandingkan MSC-EVs yang berasal dari sumber lain.^{8,9}

Berbagai molekul yang terenkapsulasi di dalam EVs, seperti mRNA, miRNA, dan protein, berperan penting dalam komunikasi antarsel, presentasi antigen, serta transfer RNA.¹⁰ Studi terbaru menunjukkan bahwa EVs yang dilepaskan oleh sel berfungsi sebagai fak-

tor pensinyalan yang dapat berinteraksi dengan sel penerima, berpindah ke lokasi yang jauh, dan mencapai sel targetnya. Komunikasi antara EVs dan sel dapat terjadi melalui berbagai mekanisme, seperti fusi dengan membran sel penerima, mekanisme endositosis, atau pengikatan pada permukaan sel melalui interaksi ligan–reseptor spesifik tanpa melepaskan muatan internalnya.¹¹ EVs telah banyak diteliti sebagai *carrier* potensial untuk penghantaran obat, karena kemampuannya secara alami dalam mentransportasikan materi antarsel. Selain kemampuannya membawa agen terapeutik eksternal, EVs tertentu juga memiliki sifat terapeutik intrinsik, yang sangat bermanfaat dalam bidang pengobatan regeneratif.¹²

EVs memiliki sejumlah keunggulan praktis dibandingkan MSC, termasuk ukuran nanopartikel, kemudahan dalam produksi dan penyimpanan, serta potensi permasalahan regulatori lebih sedikit untuk aplikasi translasi di lingkungan klinis.¹³ Oleh karena itu, EVs yang berasal dari DPSC turunan MSC dapat menyediakan pendekatan bebas sel yang aman dan efektif untuk regenerasi tulang, mengingat ketersediaannya yang melimpah, aksesibilitas yang tinggi, kemampuan proliferasi yang cepat, serta sifat osteogeniknya.

Namun, perlu dicatat bahwa penggunaan metode terapi ini pada manusia masih belum banyak didokumentasikan sehingga tinjauan sistematis ini bertujuan untuk menyajikan analisis komprehensif terhadap data praklinis terkini pada model hewan mengenai penggunaan EVs yang berasal dari DPSC dengan kombinasi *scaffold* dalam terapi regenerasi tulang.

METODE

Tinjauan sistematis ini dilaksanakan dan dilaporkan sesuai dengan pedoman *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses* (PRISMA).¹⁴ Pertanyaan penelitian dirumuskan menggunakan kerangka PICO yaitu *population* berupa model hewan yang mengalami defek tulang, *intervention* berupa terapi EVs yang bera-

sal dari DPSC dengan kombinasi *scaffold*, *comparison* dengan pendekatan regeneratif alternatif, serta *outcome* berupa penilaian histomorfometrik regenerasi tulang dan evaluasi ekspresi protein tulang.

Kriteria inklusi dan eksklusi

Kriteria inklusi adalah penelitian praklinis *in vivo* pada model hewan dengan defek tulang yang menggunakan VE yang berasal dari DPSC, melalui berbagai *scaffold* dan rute penghantaran, serta dilakukan pada subjek tanpa kondisi sistemik atau modifikasi genetik. Studi *in vitro* dan klinis, serta artikel editorial, tinjauan pustaka, dan korespondensi dieksklusi dalam tinjauan ini.

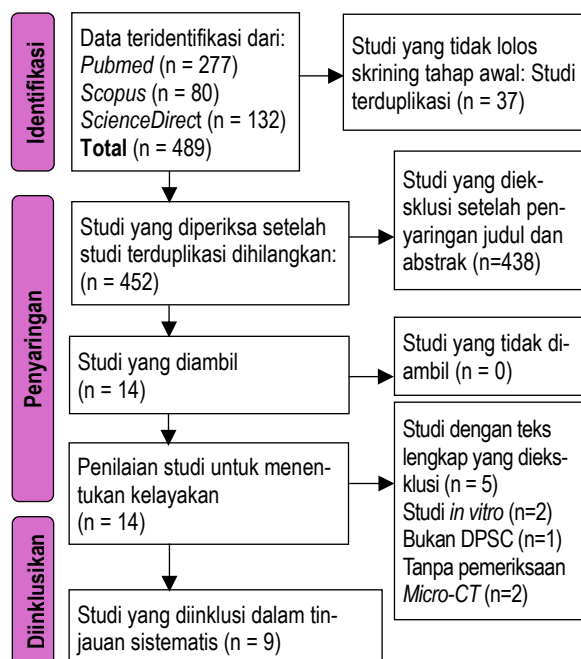
Pencarian dilaksanakan hingga bulan Oktober 2025 dan secara komprehensif menggunakan kombinasi kata kunci terkait "*stem cells*" (termasuk *dental pulp stem cells*), "*extracellular vesicles*" (termasuk eksosom dan mikrovesikel), serta "*bone regeneration*" dan istilah terkait dilakukan pada *database* elektronik seperti *PubMed*, *ScienceDirect*, dan *Scopus*. Pencarian hanya terbatas pada studi yang dilakukan pada tahun 2020-2025.

Penyaringan dan seleksi studi

Penyaringan dan seleksi studi dilakukan melalui penilaian judul dan abstrak hasil pencarian berdasarkan pertanyaan PICO serta kriteria inklusi dan eksklusi yang telah ditetapkan. Artikel yang relevan selanjutnya dievaluasi melalui penilaian teks lengkap dan studi yang tidak memenuhi kerangka PICO maupun kriteria inklusi dan eksklusi dikeluarkan. Studi yang memenuhi kriteria inklusi kemudian menjalani proses ekstraksi data secara independen menggunakan lembar kerja terstandar, dengan variabel yang dikumpulkan meliputi nama penulis, tahun publikasi, model hewan, ukuran EV dalam nanometer, metode isolasi, jenis *scaffold* dan sistem penghantaran, serta hasil penelitian.

Penilaian risiko bias

Risiko bias (*risk of bias*/RoB) pada setiap studi dinilai menggunakan instrumen penilaian risiko bias *Systematic Review Center for Laboratory Animal Experimentation* (SYRCLE).¹⁵



Gambar 1 Diagram PRISMA: identifikasi studi melalui basis data dan register

HASIL

Pencarian pada *PubMed*, *ScienceDirect*, dan *Scopus* mendapatkan 489 artikel, setelah menghapus 37 duplikat tersisa 452 abstrak untuk disaring. Dari jumlah tersebut, 14 artikel dievaluasi melalui penilaian teks lengkap, dengan 5 artikel dikeluarkan karena tidak memenuhi kriteria inklusi. Sebanyak 9 studi hewan akhirnya dimasukkan dalam analisis ini. Proses seleksi studi dirangkum dalam diagram PRISMA (Gbr.1).

Karakteristik studi

Seluruh studi yang disertakan dalam tinjauan sistematis ini dilakukan antara tahun 2020-2025 dan menggunakan hewan sebagai model penelitian. Delapan studi menggunakan tikus atau mencit. Di antaranya, tujuh studi menggunakan tikus *Sprague-Dawley* dan satu studi menggunakan tikus C57BL/6. Selain itu, satu studi menggunakan kelinci putih *New Zealand*. Rangkuman data mengenai karakteristik studi disajikan pada Tabel 1.

Jenis dan modifikasi EV

Seluruh studi yang dianalisis menggunakan EVs yang berasal dari DPSC, dengan sebagian besar mengidentifikasi isolatnya sebagai eksosom. Sebagian besar studi menggunakan EVs tanpa modifikasi yang diisolasi langsung dari kultur DPSC standar.^{16,17,20-23} Namun, tiga studi mengeksplorasi eksosom yang ditingkatkan secara fungsional atau direkayasa. Lin, et al menggunakan eksosom yang berasal dari kultur DPSC yang distimulasi dengan 2,3,5,4'-*tetrahydroksistilben-2-O-β-D-glukosida* (THSG), yang memperkaya eksosom dengan protein pro-osteogenik seperti BMP1 dan TNFAIP6.²⁴ Wang, et al. mengembangkan EVs osteogenik (Ost-EVs) melalui prakondisi osteoinduktif, menghasilkan vesikel yang diperkaya dengan mRNA, ALP, dan BMP2.¹⁸ Sementara itu, Wang, et al. memperkenalkan eksosom DPSC bermuatan *Cordycepin* (CY@D-Exos) untuk meningkatkan efek regeneratif dan anti penuaan, khususnya pada lingkungan tulang yang mengalami penuaan.¹⁹

Bahan *scaffold* dan sistem penghantaran

Berbagai penelitian telah memanfaatkan beragam *scaffold* dan sistem penghantaran untuk mendukung regenerasi tulang berbasis vesikel ekstraseluler. Gönen, et al. menggunakan *xenograft*,²² sementara He, et al. menggunakan hidrogel.¹⁶ Imanishi, et al. Menggunakan *scaffold* kolagen, *β-tricalcium phosphate* (β-TCP), dan hidroksiapatit (HA),²³ sedangkan Lee, et al. serta Lin, et al. masing-masing memanfaatkan membran kolagen komersial dan matriks *Corning Matrigel* sebagai media penghantaran eksosom.^{20,24}

Pendekatan yang lebih lanjut dikembangkan melalui rekayasa sistem pelepasan terkontrol, seperti *scaffold* nanofiber poli (asam L-laktat) (PLLA) bermikropori yang difungsionalisasi dengan mikrosfer PLGA-PEG-PLGA oleh Swanson WB et al,²¹ serta hidrogel multifungsi terinspirasi kerang berbasis asam hialuronat dan polietilen glikol oleh Wang, et al.¹⁸ Sementara Qiao, et al. melaporkan injeksi langsung suspensi eksosom ke dalam poket periodontal.¹⁷ Terakhir, Wang, et al. menggunakan hidrogel gelatin metakrilil (GelMA) yang dapat disuntikkan untuk memungkinkan pelepasan eksosom berkelanjutan pada lingkungan tulang yang menua.¹⁹

Hasil terapeutik DPSC-EVs kombinasi *scaffold*

Pada berbagai model hewan, DPSC-EVs dengan kombinasi *scaffold* secara konsisten meningkatkan regenerasi tulang. Pada defek mandibula, DPSC-EVs yang dikombinasikan *xenograft* atau membran kolagen meningkatkan kepadatan mineral tulang (*bone mass density*/BMD), parameter trabekular (*Tb. Th*/trabecular thickness, *Tb.*

Tabel 1 Karakteristik dan temuan utama dari kumpulan studi

No	Penulis Tahun	Model Hewan, Defek Tulang	Teknik Isolasi EV, Ukuran EV	Jenis Scaffold	Pengukuran Micro CT	Hasil
1.	Gönen ZB, et al., 2025 ²²	Kelinci Putih New Zealand, Tulang mandibula	Exo-Quick TC, 129.6 ± 47.4 nm	Xenograft	BMD, BV/TV, Tb. Th, Tb. N, Tb. Sp	Tidak ada perbedaan yang signifikan pada BV/TV. Xenograft + eksosom menunjukkan BMD yang signifikan (P = 0,0075). Xenograft + eksosom menunjukkan Tb.N dan Tb.Sp yang signifikan (P = 0,0053; P = 0,0229).
2.	He X, et al., 2025 ¹⁶	Tikus Sprague-Dawley, Tulang alveolar	Ultrasentrifugasi, 115 nm	Hydrogels	BV/TV	DPSC-EV dan hidrogel yang mengandung DPSC-EV, menunjukkan massa tulang yang lebih besar dan BV/TV yang signifikan. Ekspresi BSP, ALP, dan RUNX2 signifikan lebih tinggi pada hidrogel yang mengandung DPSC-EV.
3.	Imanishi Y, et al., 2021 ²³	Tikus Sprague-Dawley, Tulang kalvarial	Ultrasentrifugasi, 100 nm	Kolagen, β tricalcium phosphate (β -TCP), Hidroksiapatit	BV/TV	DPSCs/COL dan DPSC EVs/COL menunjukkan volume tulang baru signifikan lebih besar (P < 0.05).
4.	Lee AE, et al., 2023 ²⁰	Tikus Sprague-Dawley, Tulang mandibula	Ultrasentrifugasi, 152 nm	Membran kolagen	BMD	BMD menunjukkan peningkatan ringan hingga sedang pada kepadatan tulang yang baru terbentuk. Kolagen dan DPSC-EVs menunjukkan luas area defek residual rata-rata signifikan lebih kecil (P = 0,0276).
5.	Lin TY, et al., 2025 ²⁴	Tikus Sprague-Dawley, Tulang alveolar	Tangential Flow Filtration (TFF), 50-150 nm	Matrigel	BV/TV, Tb. Th, Tb. N, Tb. Sp	THSG-Exo memiliki rasio BV/TV yang lebih tinggi. THSG-Exo memiliki nilai Tb.Th dan Tb.N yang lebih tinggi. THSG-Exo memiliki nilai Tb. Sp yang paling rendah.
6.	Qiao X, et al., 2023 ¹⁷	Tikus Sprague-Dawley, Tulang alveolar	Ultrasentrifugasi, 100-150 nm	NR	BV/TV	BV/TV pada kelompok DPSC-EXO secara signifikan lebih tinggi. ABC-CEJ pada kelompok DPSC-EXO secara signifikan lebih rendah. Kelompok DPSC-EXO menunjukkan kadar TNF- α lebih rendah dan ekspresi OCN yang lebih tinggi.
7.	Wang L, et al., 2024 ¹⁸	Tikus Sprague-Dawley, Kondilus femoralis	Ultrasentrifugasi, 81.96 ± 3.01 nm	Hyaluronic Acid (HA) Hydrogel	BV/TV, BMD	Kelompok Ost-EVs/hidrogel menunjukkan pembentukan tulang baru yang secara signifikan lebih besar dengan nilai BV/TV sebesar 40,00 ± 3,99% dan nilai BMD sebesar 0,84 ± 0,02 g/cm ³ .
8.	Wang Y, et al., 2025 ¹⁹	Tikus Sprague-Dawley, Tulang kalvarial	Ultrasentrifugasi, 125 nm	Hydrogel Gelatin Metakrilol (GelMA)	BV/TV, Tb. N	Kelompok GelMA-CY@D-exos secara signifikan meningkatkan penyembuhan defek tulang pada kondisi usia lanjut. Kelompok GelMA-CY@D-exos menunjukkan peningkatan volume tulang dengan nilai BV dan Tb.N lebih besar 2,69 kali lipat.
9.	Swanson WB, et al., 2020 ²¹	Tikus C57BL/6, Tulang kalvarial	Ultrasentrifugasi, 135 nm	Poly-L-Lactic Acid (PLLA)	BV/TV, BMD	Kelompok OS-EXO-MS menunjukkan volume tulang yang termineralisasi jauh lebih tinggi. BMD tulang di area yang mengalami mineralisasi cenderung sama antara kedua kelompok.

DPSCs= dental pulp stem cells, EXOs= exosomes, BMD= bone mineral density, BV/TV= bone volume/total volume, Tb. Th= trabecular thickness, Tb. N= trabecular number, Tb. Sp= trabecular separation, COL= collagen membrane, THSG-Exo= 2,3,5,40-Tetrahydroxystilbene-2-O- β -D-glucoside exosomes, ABC-CEJ= distance between the cemento-enamel junction and the alveolar bone crest, GelMA= gelatin methacryloyl, GelMA CY@D-exos= dental pulp stem cell-derived exosomes loaded with the natural derivative of adenosine Cordycepin, OS-EXO= osteogenic exosomes, EXO-MS= exosome-releasing spheres, Ost-EVs= osteogenic inductive DPSC-EVs.

N/trabecular number, Tb. Sp/trabecular separation), dan mengurangi ukuran defek residual dibandingkan dengan kontrol.^{20,22} Pada defek maksila dan alveolar, DPSC-EVs dengan stimulasi bioaktif atau kombinasi hidrogel, secara signifikan meningkatkan volume tulang (*bone volume/total volume/BV/TV*), ketebalan trabekular, jumlah, dan kualitas tulang secara total.^{16,24} Pada model defek tulang kalvarial, DPSC-EV yang dikombinasikan dengan *scaffold* kolagen, β -TCP, atau HA mendorong pembentukan mineralisasi tulang.^{21,23} Pada model hewan yang menua, DPSC-EVs yang direkayasa dapat menyembuhkan tulang dan meningkatkan volume tulang, serta arsitektur trabekular.¹⁹ Selain itu, DPSC-EV dapat mengurangi kehilangan tulang alveolar pada model hewan periodontitis¹⁷ dan secara signifikan meningkatkan regenerasi tulang pada defek kondilus femoralis dengan BV/TV dan BMD yang lebih tinggi.¹⁸

Hasil penilaian risiko bias (RoB)

Penilaian risiko bias menggunakan instrumen SYRCL pada studi *in vivo* yang disertakan menghasilkan 90 entri, dengan 55,56% dinilai *tidak jelas*, 41,11% *ya*, dan 3,33% *tidak*. Seluruh studi menunjukkan penilaian *tidak jelas*, terutama pada P#3, P#5, P#6, P#7, P#8 yang mencakup domain *selection bias*, *performance bias*, *detection bias*, serta *incomplete outcome data* disebabkan oleh keterbatasan pelaporan metodologis. Sebaliknya, pada P#3 dan P#4 mengenai *baseline characteristics* dan *other sources of bias* konsisten dinilai *ya*; tampak pada ringkasan hasil penilaian risiko bias (Tabel 2).

Tabel 2 Risiko bias dari studi yang diikuti berdasarkan instrumen SYRCL

Instrumen SYRCL	Pertanyaan (P)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Swanson WB, et al. ²¹	✓	✓	?	✓	?	?	?	?	✓	✓
Gönen ZB, et al. ²²	?	✓	?	✓	?	?	?	?	×	✓
He X, et al. ¹⁶	?	✓	?	✓	?	?	?	?	×	✓
Imanishi Y, et al. ²³	?	?	?	✓	?	?	?	?	✓	✓
Lee AE, et al. ²⁰	✓	✓	?	✓	?	?	?	?	×	✓
Lin TY, et al. ²⁴	✓	✓	?	✓	?	?	?	?	✓	✓
Qiao X, et al. ¹⁷	✓	✓	?	✓	?	?	?	?	✓	✓
Wang L, et al. ¹⁸	?	✓	?	✓	?	?	?	?	✓	✓
Wang Y, et al. ¹⁹	✓	✓	?	✓	?	?	?	?	✓	✓

✓ Ya, × Tidak, ? Tidak Jelas

PEMBAHASAN

Terapi berbasis stem sel, khususnya yang menggunakan stem sel mesenkimal (MSC), telah banyak diteliti untuk regenerasi tulang karena kemampuannya dalam diferensiasi multilineage, pensinyalan parakrin, dan imunomodulasi. Namun, translasi klinisnya masih sangat terhambat oleh beberapa keterbatasan utama, termasuk morbiditas pada lokasi donor, keterlekatan (*engraftment*) yang terbatas, rendahnya kelangsungan hidup sel yang ditransplantasikan pada lingkungan inflamasi, risiko tumorigenitas, variabilitas sumber sel, kompleksitas logistik, serta kendala etik.²⁵⁻²⁷

Sebagai alternatif, terapi bebas sel yang menggunakan EVs yang berasal dari MSC telah menarik perhatian sebagai pendekatan yang menjanjikan dan lebih aman. EVs mengenkapsulasi biomolekul re-

generatif, termasuk mikroRNA, protein, dan lipid, yang meniru banyak efek parakrin MSC sekaligus menghindari risiko yang terkait dengan transplantasi sel hidup. Selain itu, EVs menawarkan keunggulan dalam hal kemudahan penyimpanan, sterilisasi, skalabilitas, serta kompatibilitas dengan pembawa biomaterial.²⁸

Sejumlah studi praklinis menunjukkan bahwa *scaffold* yang memuat EVs secara signifikan meningkatkan penyembuhan tulang dibandingkan kelompok kontrol, bahkan mencapai pembentukan tulang baru yang sebanding pada defek berukuran kritis.²⁹ EVs tidak hanya meningkatkan osteogenesis dan angiogenesis, tetapi juga memodulasi aktivitas imun dan osteoklas sehingga menciptakan lingkungan mikro yang mendukung remineralisasi.³⁰

Mekanisme biomolekuler dan efek imunomodulator

DPSC-EVs memfasilitasi regenerasi tulang melalui berbagai jalur biomolekuler dan imunomodulator yang mendorong proses osteogenesis, angiogenesis, dan menciptakan lingkungan mikro imun yang reparatif.

EV yang disekresikan oleh berbagai jenis sel membawa protein kargo bioaktif, lipid, mRNA, dan miRNA pengatur yang mengatur peristiwa seluler kunci dalam sel penerima, sehingga EV berperan penting pada komunikasi antar sel dalam lingkungan mikro tulang.³¹ EV yang berasal dari MSC khususnya DPSC menunjukkan sifat osteoinduktif yang kuat karena dimediasi oleh berbagai muatan miRNA seperti miR-21, miR-196a, miR-27a, dan miR-206 yang berperan penting mengatur ekspresi regulator transkripsi utama osteogenesis.³² Aktivasi regulator transkripsi ini selanjutnya mendorong peningkatan ekspresi gen osteogenik hilir seperti RUNX2, *osterix*, *alkaline phosphatase* (ALP), *collagen type I* (COL1A1), dan *osteocalcin* (OCN), yang berkontribusi pada mineralisasi matriks dan pembentukan tulang baru.³³ Lee, et al dan Wang, et al. dalam penelitiannya melaporkan bahwa DPSC-EVs yang dikombinasi dengan *scaffold* secara signifikan meningkatkan ekspresi gen *osteogenic* utama seperti OCN, BSP2, dan RUNX2.^{18,20} Efek ini sering dimediasi oleh aktivasi jalur pensinyalan ERK, MAPK, dan TGF- β 1/Smad.^{16,19-21} Secara khusus, peningkatan RUNX2 melalui fosforilasi ERK merupakan pendorong utama diferensiasi osteoblastik.²¹

Selain mengatur ekspresi regulator transkripsi osteogenik melalui muatan miRNA, DPSC-EV juga berperan dalam mengendalikan osteogenesis dan respon inflamasi melalui modulasi jalur pensinyalan intraseluler dan keberagaman proteomik yang dikandungnya. Qiao, et al. melaporkan bahwa DPSC-EVs yang diinjeksikan secara langsung dapat menghambat jalur sinyal IL-6/JAK2/STAT3 untuk mengatur peradangan periodontitis selama stres akut.¹⁷ Selama proses pembentukan dan remodeling tulang, osteoblas, osteosit, osteoklas, dan kondrosit sangat dipengaruhi oleh berbagai sitokin dan reseptornya seperti reseptor IL-6 yang ditandai oleh tirosin kinase dari keluarga JAK. Terdapat beberapa sitokin terkait tulang yang terlibat dalam perkembangan tulang telah dijelaskan, termasuk yang memberi sinyal melalui jalur JAK dan STAT seperti keluarga sitokin IL-6.³⁴ Selain itu, analisis proteomik telah mengidentifikasi protein unik di dalam DPSC-EVs, seperti *bone morphogenetic protein-1* (BMP-1), yang mengaktifkan sel osteoprogenitor, dan *vascular endothelial growth factor C* (VEGFC), yang membantu perbaikan jaringan.²⁴ Interaksi angiogenik-osteogenik yang difasilitasi oleh EVs menjadi sangat penting pada defek tulang kritis, karena pembentukan vaskular sering kali menentukan kelangsungan hidup sel dan keberhasilan integrasi *graft*. Pada defek tulang iskemik atau gangguan penyembuhan seperti diabetes atau penuaan, suplai darah yang tidak mencukupi menyebabkan

kan apoptosis seluler dan osteogenesis menjadi terganggu.³⁵

Perubahan respons imun juga berperan penting dalam menciptakan kondisi yang kondusif bagi kelangsungan hidup sel, diferensiasi osteogenik, dan pembentukan jaringan vaskular, khususnya pada kondisi defek tulang kritis atau gangguan penyembuhan. DPSC-EVs memiliki sifat imunomodulator yang baik dengan mengubah lingkungan lokal dari keadaan pro-inflamasi menjadi keadaan pro-regeneratif. Salah satu fungsi imunomodulator utama adalah menginduksi polarisasi makrofag dari fenotipe M1 pro-inflamasi ke fenotipe M2 anti-inflamasi.^{17,22} Makrofag M2 berperan pada perbaikan jaringan dengan mensekresikan mediator anti-inflamasi dan memfasilitasi fagositosis sel-sel apoptosis.^{17,18} Semakin banyak bukti menunjukkan bahwa potensi regeneratif makrofag tidak hanya bergantung pada sitokin terlarut dan reseptor permukaan, tetapi juga pada sekresi EV yang berfungsi sebagai efektor parakrin yang diatur secara tepat dalam lingkungan penyembuhan tulang.³⁶ Lebih lanjut, DPSC-EVs menyebabkan penurunan sitokin pro-inflamasi, seperti IL-1 β , TNF- α , dan IL-6, sementara secara bersamaan meningkatkan faktor anti-inflamasi seperti IL-10 dan TGF- β .^{17,18} Selain itu, DPSC-EVs mengandung protein imunoregulator seperti *tumor necrosis factor- α -induced protein 6* (TNFAIP6/TSG-6), yang dapat berkompetisi dengan molekul pada permukaan osteoklas sehingga menghambat aktivitas resorptif dan mendorong apoptosis osteoklas. Temuan histologis menunjukkan bahwa pemberian DPSC-EVs secara signifikan menurunkan jumlah osteoklas pada area defek tulang. Efek ini memperkuat peran imunomodulator DPSC-EVs dalam menjaga keseimbangan remodeling tulang, khususnya pada inflamasi atau gangguan penyembuhan, saat aktivitas osteoklas sering meningkat secara patologis.^{17,24}

Jenis *scaffold* pada penghantaran DPSC-EVs

EVs telah muncul sebagai kandidat menjanjikan untuk terapi regenerasi tulang bebas sel, meskipun tantangan utama penerapannya adalah rendahnya retensi EV di lokasi defek tulang.^{37,38} Untuk mengatasi keterbatasan ini, integrasi EVs dengan *scaffold* biomaterial dikembangkan guna memungkinkan agregasi berkelanjutan dan pelepasan EVs yang terkontrol. Berbagai studi menunjukkan bahwa biomaterial *scaffold* memiliki potensi kuat sebagai *platform* untuk membawa EVs yang efisien dan modulasi pelepasannya.³⁹ Secara konvensional, rekayasa jaringan tulang mengandalkan tiga elemen utama, yaitu *scaffold*, sel, dan faktor pertumbuhan; namun, integrasi EVs ke dalam *scaffold* berpotensi menyederhanakan pendekatan ini menjadi model dua elemen yang terdiri atas biomaterial *scaffold* dan EVs.^{40,41} Beberapa studi menunjukkan bahwa terapi EVs menggunakan *scaffold* dapat meningkatkan regenerasi tulang pada model defek tulang.⁴²

Disimpulkan bahwa pemanfaatan DPSC-EVs yang dikombinasikan *scaffold* telah menunjukkan efektivitas sebagai pilihan terapi pendekatan bebas sel dalam meningkatkan regenerasi tulang pada model praklinis. EVs menunjukkan pendekatan sinergis dalam meningkatkan regenerasi tulang melalui peningkatan osteogenesis, angiogenesis, dan imunomodulasi. Temuan ini menyoroti potensi EVs dengan kombinasi *scaffold* sebagai pendekatan terapeutik yang menjanjikan untuk regenerasi tulang dalam konteks klinis. Namun, penelitian lanjut diperlukan untuk menjelaskan mekanisme biologis yang mendasari efek regeneratif ini. Pemahaman lebih mendalam tentang mekanisme tersebut sangat penting untuk mengoptimalkan hasil klinis yang terkait penerapan EVs yang berasal dari DPSC dalam regenerasi tulang. Selain itu, sangat penting untuk menilai dan menangani potensi risiko yang mungkin timbul dari pemanfaatan sistem biologis baru ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Brunello G, Zanotti F, Trentini M. Exosomes derived from dental pulp stem cells show different angiogenic and osteogenic properties in relation to the age of the donor. *Pharmaceutics* 2022;14(5):908.
2. Qi J, Yu T, Hu B, Wu H, Ouyang H. Current biomaterial-based bone tissue engineering and translational medicine. *Int J Mol Sci* 2021;22(19):10233.
3. Li M, Fang F, Sun M, Zhang Y, Hu M, Zhang J. Extracellular vesicles as bioactive nanotherapeutics: an emerging paradigm for regenerative medicine. *Theranostics* 2022;12(11):4879-903.
4. Bashor CJ, Hilton IB, Bandukwala H, Smith DM, Veiseth O. Engineering the next generation of cell-based therapeutics. *Nat Rev Drug Discov* 2022;21(9):655-75.
5. Lin CY, Kuo PJ, Chin YT, Weng IT, Lee HW, Huang HM, et al. Dental pulp stem cell transplantation with 2,3,5,4'-tetrahydroxystilbene-2-O- β -D-glucoside accelerates alveolar bone regeneration in rats. *J Endod*. 2019;45(4):435-41.
6. Guo R, Wu C, Liu F, Dong T, Zhang T. Biomimetic composite hydrogel promotes new bone formation in rat bone defects through regulation of miR-19b-3p/WWP1 axis by loaded extracellular vesicles. *J Nanobiotechnol* 2023;21(1):459.
7. Yong T, Wei Z, Gan L, Yang X. Extracellular-vesicle-based drug delivery systems for enhanced antitumor therapies through modulating the cancer-immunity cycle. *Adv Mater*. 2022;34:e2201054.
8. Anitua E, Troya M, Zalduendo M. Progress in the use of dental pulp stem cells in regenerative medicine. *Cytotherapy*. 2018;20:479-98.
9. Li Y, Duan X, Chen Y, Liu B, Chen G. Dental stem cell-derived extracellular vesicles as promising therapeutic agents in the treatment of diseases. *Int J Oral Sci* 2022;14:2.
10. Carretero-González A, Otero I, Carril-Ajuria L, de Velasco G, Manso LE. Definition, role in tumor development and clinical implications. *Cancer Microenviron* 2018;11(1):13-21.
11. Luo H, Ahmadi Birjandi A, Ren F. Advances in oral mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles in health and disease. *Genes Dis* 2023;11(1):346-57.
12. Murphy DE, de Jong OG, Brouwer M, et al. Extracellular vesicle-based therapeutics: natural versus engineered targeting and trafficking. *Exp Mol Med*. 2019;51(3):1-12.
13. Suzuki E, Fujita D, Takahashi M, Oba S, Nishimatsu H. Therapeutic effects of mesenchymal stem cell-derived exosomes in cardiovascular disease. *Adv Exp Med Biol*. 2017;998:179-85.
14. Page MJ, McKenzie JE, Bossuyt PM, Boutron I, Hoffmann TC, Mulrow CD, et al. The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews. *Br Med J* 2021;372:n71.
15. Hooijmans CR, Rovers MM, de Vries RBM. SYRCLE's risk of bias tool for animal studies. *BMC Med Res Methodol*. 2014;14:43.
16. He X, Chu XY, Chen X, Xiang YL, Li ZL, Gao CY, et al. Dental pulp stem cell-derived extracellular vesicles loaded with hydrogels promote osteogenesis in rats with alveolar bone defects. *Mol Med Rep*. 2025;31(1):29.
17. Qiao X, Tang J, Dou L, Yang S, Sun Y, Mao H. Dental pulp stem cell-derived exosomes regulate anti-inflammatory responses and osteogenesis and promote repair of experimental periodontitis in rats. *Int J Nanomed* 2023;18:4683-703.
18. Wang L, Wei X, He X, Xiao S, Shi Q, Chen P, et al. Osteoinductive dental pulp stem cell-derived extracellular vesicle-loaded multifunctional hydrogel for bone regeneration. *ACS Nano*. 2024;18(12):8777-97.
19. Wang Y, Jin S, Guo Y, Zhu L, Lu Y, Li J, et al. Cordycepin-loaded dental pulp stem cell-derived exosomes promote aged bone repair by rejuvenating senescent mesenchymal stem cells and endothelial cells. *Adv Healthc Mater* 2025;14:2402909.
20. Lee AE, Choi JG, Shi SH, He P, Zhang QZ, Le AD. Dental pulp stem cell-derived extracellular vesicles promote rat jawbone regeneration. *J Dent Res*. 2023;102(3):313-21.
21. Swanson WB, Zhang Z, Xiu K, Gong T, Eberle M, Wang Z, et al. Scaffolds with controlled release of pro-mineralization exosomes to promote craniofacial bone healing without cell transplantation. *Acta Biomater*. 2020;118:215-32.
22. Gönen ZB, Kemaloğlu CA, Gökdemir NS, Soylu E, Bolat D, Yay A. Mesenchymal stem cell-derived exosomes combined with bone grafts ameliorate bone regeneration in mandibular defects. *J Craniofac Surg*. 2025;36(4):1425-9.
23. Imanishi Y, Hata M, Matsukawa R, Aoyagi A, Omi M, Mizutani M, et al. Efficacy of extracellular vesicles from dental pulp stem cells for bone regeneration in rat calvarial bone defects. *Inflamm Regen*. 2021;41(1):12.
24. Lin TY, Huang TY, Chiu HC, Chung YY, Lin WC, Lin HY, et al. THSG-stimulated dental pulp stem cell-derived exosomes for wound healing and bone regeneration. *J Dent Sci*. 2025;20(1):154-63.
25. Zhou T, Yuan Z, Weng J. Challenges and advances in clinical applications of mesenchymal stromal cells. *J Hematol Oncol*. 2021;14:24.
26. Han D, Liu W, Gong J, Ma Y, Sun Z. Challenges and future perspectives in using mesenchymal stem cells for efficient bone fracture healing. *Front Bioeng Biotechnol* 2025;13:1568914.
27. Shan Y, Zhang M, Tao E. Pharmacokinetic characteristics of mesenchymal stem cells in translational challenges. *Signal Transduct Target Ther* 2024;9:242.
28. Gholami L, Nooshabadi VT, Shahabi S. Extracellular vesicles in bone and periodontal regeneration: current and potential therapeutic applications. *Cell Biosci* 2021;11:16.
29. Bahraminasab M, Talebi A, Doostmohammadi N, Arab S, Ghanbari A, Zarbakhsh S. Healing of bone defects by cell-free and stem cell-seeded 3D-printed PLA scaffolds. *J Orthop Surg Res*. 2022;17(1):320.
30. Liu F, Sun T, An Y, Ming L, Li Y, Zhou Z, et al. The potential therapeutic role of extracellular vesicles in critical-size bone defects. *Front Bioeng Biotechnol* 2023;11:1050916.
31. Yokoi A, Ochiya T. Exosomes and extracellular vesicles: rethinking the essential values in cancer biology. *Semin Cancer Biol*. 2021;74:79-91.
32. Wang L, Xu H, Weng L, Sun J, Jin Y, Xiao C. Activation of cancer immunotherapy by nanomedicine. *Front Pharmacol* 2022;13:1041073.
33. Zou ML, Chen ZH, Teng YY, Liu SY, Jia Y, Zhang KW, et al. The Smad-dependent TGF- β and BMP signaling pathway in bone remodeling and therapies. *Front Mol Biosci* 2021;8:593310.
34. Morris R, Kershaw NJ, Babon JJ. The molecular details of cytokine signaling via the JAK/STAT pathway. *Protein Sci*. 2018;27:1984-2009.
35. Ateeq M, Broadwin M, Sellke FW, Abid MR. Extracellular vesicles' role in angiogenesis and altering angiogenic signaling. *Med Sci*. 2024;12:4.
36. Han Y, Yang J, Fang J, Zhou Y, Candi E, Wang J, et al. The secretion profile of mesenchymal stem cells and potential applications in treating human diseases. *Signal Transduct Target Ther*. 2022;7:92.
37. Cooper LF, Ravindran S, Huang CC, Kang M. A role for exosomes in craniofacial tissue engineering and regeneration. *Front Physiol*. 2019;10:1569.
38. Zhou Y, Xiao Y. The development of extracellular vesicle-integrated biomaterials for bone regeneration. *Adv Exp Med Biol*. 2020;1250:97-108.
39. Re F, Borsani E, Rezzani R, Sartore L, Russo D. Bone regeneration using mesenchymal stromal cells and biocompatible scaffolds: a concise review of current clinical trials. *Gels*. 2023;9(5):389.
40. Ferraz MP. An overview on the big players in bone tissue engineering: biomaterials, scaffolds and cells. *Int J Mol Sci*. 2024;25(7):3836.
41. Tao SC, Li XR, Wei WJ. Polymeric coating on beta-TCP scaffolds provides immobilization of small extracellular vesicles with surface functionalization and ZEB1 loading for bone defect repair in diabetes mellitus. *Biomater* 2022;283:121465.
42. Yan HC, Yu TT, Li J, Qiao YQ, Wang LC, Zhang T, et al. The delivery of extracellular vesicles loaded in biomaterial scaffolds for bone regeneration. *Front Bioeng Biotechnol*. 2020;8:1015.