creative commons

COMMONS DEED

저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:

저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.

비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.

변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 이용허락규약(Legal Code)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

Disclaimer

dCollection

치의학석사 학위논문

줄기세포 기반의 치주조직재생

2015년 2월

서울대학교 치의학대학원
치의학과
박 재 욱

치의학석사 학위논문

줄기세포 기반의 치주조직재생

Stem cell based periodontal regeneration

2015년 2월

서울대학교 치의학대학원

치의학과

박 재 욱

줄기세포 기반의 치주조직재생

지도교수 : 박 주 철

이 논문을 치의학석사 학위논문으로 제출함

2014년 11월

서울대학교 치의학대학원

치의학과

박 재 욱

박재욱의 석사 학위논문을 인준함

2014년 12월

위 원 장 김 현 만 (인)

부 위 원 장 박 주 철 (인)

위 원 이 장 희 (인)

국문초록

줄기세포 기반의 치주조직재생

(지도교수 박 주 철)

박 재 욱

서울대학교 치의학대학원

치의학과

치주조직은 백악질, 치주인대, 치조골로 구성된 복합 조직으로 치아를 골 안에 유지시켜주고 지지하는 역할을 한다. 치주염은 치아주위의 결합조직 부착과 골의 비가역적인 손상을 초래하여 치아상실의 주요한 원인이 된다. 따라서 치주질환은 치과의사와 환자, 구강보건체계에 있어서 가장 중요한 질환 중 하나이다. 최근 몇 년 동안 임상적인 치주과학의 중요한 목적은 치아주위염증에 의해 손상된 치아주위조직의 원래 형태, 구조 및 기능에 대한 조직의 재생에 관한 것이다.

치아주위조직의 재생은 새로운 결합조직 섬유들이 백악질과 골에 삽입되어야 하며, 치주조직 재생을 위해서는 복잡한 백악질-치주인대-골 연결 구조와 치아와 치조골 사이의 기능적 연결 구조를 복원해야 한다. 따라서 현재 임상적으로 다양한 수술적, 비수술적 방법들과 골대체 재료들이 사용되고 있지만 임상적인 결과는 여전히 제한적이다. 골유도재생술, 조직유도재생술과 같은 골이식이나 골대체 재료들은 손실된 결합조직 부착을 재생하는 능력이 없으며 세포 기반의 치료와 함께 다양한 성장인자나 변조 작용제가 사용되었으나 이 역시 제한적인 성공을 거두었다.

줄기세포기반 치료는 현재 의학, 치의학 분야에서 가장 활발하게 연구 중인 분야이다. 치주질환과 같은 질병이 있을 경우 건전한 줄기 세포가 상실되어 조직 재생이 자연적으로 일어나지 않기 때문에 외부에서 증식한 줄기세포와 같은 외인성의 재생 도구가 숙주 세포를 보충하고 조직 재생을 촉진하는데 도움을 줄 수 있다. 성공적인 치주조직재생을 위한 가장 중요한 요인은 정확한 위치에 적합한 세포가 위치하여 치주 조직의 성분과 일치하는 세포외물질을 생산해내는 것이다. 줄기세포를

이용하여 다른 조직(피부, 연골, 골, 심혈관 성분, 이자 등)의 재생이 성공적으로 증가하였기 때문에 치주조직의 재생에도 조직공학적인 접근과 함께 줄기세포 기반의 치료가 새로운 영역으로 떠오르고 있다.

치아줄기세포는 성인 체내의 다른 부위에서 얻는 줄기세포와 비교할 때 줄기세포를 획득할 수 있는 부위에 접근이 용이한 장점이 있으며 증식, 분화, 유연성과 같은 특징을 가지고 있다. 몇 가지 종류의 줄기세포의 특징에 대해 알아보았으며, 치수줄기세포(dental pulp stem cells, DPSCs), 유치치주줄기세포(Stem cells from exfoliated deciduous teeth, SHED), 치주인대줄기세포(PDL stem cells, PDLSC), 치근단줄기세포(Stem cells from apical papilla, apical papilla stem cells, SCAP), 치낭줄기세포(Dental follicle cells, DFCs), 그리고 MSC는 현재 줄기세포 기반의 치주조직재생을 위해 가장 활발히 연구되고 있다. 하지만 안정성이 아직 충분히 검토되지 않았고, 외부에서 배양과 증식이 어려운 점은 아직까지 줄기세포의 한계점으로 인식되고 있다. 효율적인 줄기세포의 전달 방법과 함께 이런 한계점을 극복하기 위한 연구가 앞으로도 계속되어야 할 것이다.

최근의 줄기세포 기반 치주조직공학과 치주조직재생의 발전과 함께 다음 단계의 연구는 이 진보된 치료 방법의 임상적인 활용에 중점을 두어야 할 것이다. 따라서 후향적 연구에서는 *in vitro*에서 다분화능의 줄기세포성을 유지하는 방법과 *ex vivo*에서 줄기세포를 안전하고 효과적으로 증식시켜서 많은 동물 모델의 치주적 결손부를 회복하는 방법을 개발하는 것이 필요하다.

치아의 부분재생과 함께 전체 치아를 재생하기 위한 연구도 활발히 이루어지고 있다. 전체 치아를 재생하더라도 이를 이식하기 위해서는 치주인대의 재생과 함께 치아와 치주조직의 결합이 필요하므로 결국 치주조직재생은 향후 전체 치아의 재생과 이식 과정의 성공을 위한 필수적인 단계라고 생각된다.

주요어 : 치아줄기세포, 치주조직재생, 치수줄기세포, 유치치주줄기세포, 치주인대줄기세포, 치근단줄기세포, 치낭줄기세포, 골수 유래 중간엽 줄기세포, 지방세포 유래 줄기세포, 배아 줄기세포

학 번 : 2011-22446

목 차

Ⅰ. 서론 ····· 1

Ⅱ. 본론 ····· 2

Ⅲ. 결론 ····· 16

Ⅳ. 참고문헌 ····· 17

Abstract ····· 26

Ⅰ. 서론

치주조직은 백악질, 치주인대, 치조골로 구성된 복합 조직으로 치아를 골 안에 유지시켜주고 지지하는 역할을 한다. 치주염은 치아주위의 결합조직 부착과 골의 비가역적인 손상을 초래하여 치아상실의 주요한 원인이 된다. 따라서 치주질환은 치과의사와 환자, 구강보건체계에 있어서 가장 중요한 질환 중 하나이다. 최근 몇 년 동안 임상적인 치주과학의 중요한 목적은 치아주위염증에 의해 손상된 치아주위조직의 원래 형태, 구조 및 기능에 대한 조직의 재생에 관한 것이다. 치아주위조직의 재생은 새로운 결합조직 섬유들이 백악질과 골에 삽입되어야 하며, 복잡한 백악질-치주인대-치조골 연결 구조와 치아와 치조골 사이의 기능적 연결 구조를 복원해야 하기 때문에 많은 어려움이 있다. 현재 임상적으로 치주조직재생을 위해 골유도재생술, 조직재생유도술과 같은 방법이 사용되고 있지만 임상적인 결과는 매우 다양해서 예측하기 어렵고, 치주조직의 완벽한 재생은 일어나지 않는 한계가 있다.

줄기세포 생물학은 재생의학의 완성과 조직재생의 이해를 위해 중요한 영역으로 최근 치아줄기세포를 조직재생 분야에 이용하려는 시도와 연구들이 진행되고 있다. 치아줄기세포는 간엽기원의 상아질이나 치수, 치주인대 등 손상받은 치아조직의 치유는 물론 상피기원의 법랑질 뿐만 아니라 골이나 신경조직 등의 비치성 조직의 재생에도 많이 적용되고 있다.

최근의 연구에서는 *ex vivo*에서 사람의 치주인대세포가 백악질, 치주인대 및 치주조직을 재생할 수 있다고 밝혀졌고, 치주인대줄기세포를 저온에서 시트 형태로 제작하여 흰쥐의 치주조직손상모델에 적용시켰을 때 골은 형성되지 않았지만 치주인대와 백악질과 같은 유사조직들이 형성되었다는 연구결과도 보고되고 있다.[(1),(2)]

이 논문에서는 줄기세포기반의 치주조직재생에 대한 선행 연구들을 검토해 보고 이 결과를 현재 임상적으로 사용되고 있는 치주적 술식과 비교하여 효용성과 극복해야 하는 문제들, 그리고 향후 연구의 방향성에 대해 알아보았다.

Ⅱ. 본 론

1. 줄기세포의 치료 목적 사용

줄기세포 생물학은 조직의 재생을 이해하고 재생의학을 완성하기 위한 중요한 분야이다.[3] 성체줄기세포는 손상된 조직을 회복하고 대체할 수 있도록 해준다. 이 세포들을 분리하고 배양하는데 까지는 성공했지만 치료적 목적으로 사용되는 기술은 아직 완전하지 않다.[4] 오랜 세월에 걸쳐 골수에서 유래한 중간엽 줄기세포가 연구와 치료를 위해 논의되었다. 이 세포들은 특정한 종류의 백혈병을 치료하기 위해 사용된 조혈모세포와 비슷하다.

1990년대에 이르러 배아간엽선구세포를 배양하여 분리하고, 성인 골수에서 유래한 중간엽 줄기세포를 증식하여 줄기세포의 특성을 유지할 수 있는 조직공학의 새로운 영역을 개척하였다. 21세기에는 매우 많은 발전을 이루었는데 가장 중요한 것은 painting이라고 불리는 cell-coating 기술로, 이것은 정보 단백질을 세포의 외부 표면으로 이끌도록 한다. 이런 paint들은 특별하게 결합된 중간엽 줄기세포나 다른 재생세포들을 특정한 조직으로 유도하는 타겟 주소로 작용한다.[4]

다양한 인체 조직에서 줄기세포나 선구세포가 발견된다. 최근에 치주인대나 치유두, 치낭과 같은 치아주위조직에서도 미분화세포가 발견되었다. 치아 선구세포들은 치주염이나 치아우식증과 같은 질환을 치료하거나 치수의 치유를 촉진하고 두개안면부위의 뼈와 치아를 재생하는데 있어서 유용하게 사용될 수 있다.[5]

2. 치주조직재생에 사용 가능한 줄기세포의 종류

치주조직재생에서 줄기세포를 이용한 새롭고 효과적인 치료법 개발이 많이 연구되고 있다. 복잡한 백악질-치주인대-골 연결 구조와 치아와 치조골 사이의 기능적 연결 구조를 복원하는 연구는 현대 재생의학에서 많은 발전을 이루었다. 이런 목표를 이루기 위해서는 줄기세포를 다루는 기술과 모든 세포, 분자생물학적 신호가 조화를 이루어 결과적으로 두개안면부위의 결손과 치아주위조직의 결손부위를 재건할 수 있어야 한다.[5]

최근에 세포기반의 치료에 사용가능한 다양한 성체줄기세포가 연구되고 있다. 이

상적인 줄기세포는 비면역성, 높은 증식성, 채취의 용이성, 분화의 유연성이 있어야 하며, 특정한 종류의 세포로 분화할 수 있는 능력이 있어야 한다.[6]

3. 치아의 제한적 재생 과정

1) 치수조직 재생

치아 발생은 구강상피세포와 외배엽성중배엽 세포의 상호작용에 의해 일어나며 이 세포들은 모두 이주한 신경능 세포에서 기원한다.[7] 복잡한 치아의 구조는 강도와 내구성을 제공하는 반면 이 단단한 구조물은 물리적인 외력, 화학성분, 세균의 감염에 취약하기도 하다.

골과 같은 다른 조직은 출생 후에도 계속적인 리모델링 과정을 통하여 회복될 수 있는 능력을 갖추고 있지만, 상대적으로 정적인 치아의 구성성분은 제한적인 재생 과정만 수행할 수 있다. 이 제한적 재생 과정으로 수복 상아질의 형성이 있으며 이는 일차, 이차 상아질에 비해 광화의 정도는 낮지만 치수를 보호하는 방어막을 형성해 준다.[8]

새로운 백악질의 형성이나 치주인대의 리모델링, 그리고 새로운 골의 형성은 교정적 치아 이동 과정에서 관찰할 수 있으나 이런 과정은 재생이나 회복의 과정이라보다 생리적 반응의 결과에 더 가깝다.[9] 또한 초기 단계의 치주질환에서 치주조직의 약한 재생이 일어나기도 하지만 질환이 안정기에 접어들면 자발적인 재생은 특정한 치료적 개입이 없이는 일어나지 않는다. 치주조직재생의 과정은 국소적으로 치주인대 형성세포나 광물질을 형성하는 백악모세포의 유도과정을 포함하며 백악질과 주위 치조골이 결합되어야 한다.[10]

우리가 치아 질환의 병인에 대해 많은 지식을 가지고 있지만, 손상되거나 이환된 치아 조직을 치료하는 방법은 아직까지 인공적인 임플란트나 구조적인 대체물 뿐이다. 예를 들어 노출된 치수를 보호하기 위한 임상적인 방법으로 수산화칼슘(calcium hydroxide)을 이용해 치수 복조(pulp capping)를 하는데 이것은 종종 치수 조직의 염증과 괴사를 야기한다. 결국 이 방법은 치아의 변색과 상아질의 파절로 이어져 치아의 상실을 초래하기도 한다.[11]

일반적으로 심각한 치수의 질환에 이환된 치아를 살리기 위한 방법으로는 근관

치료가 유일한 방법이다. 하지만 몇 가지 연구에서 치수 복조의 가능한 치료 방법으로 광화되지 않은 상아질 입자, 세포외 기질 구성성분(collagen, fibronectin, fibrin glue), 생체친화적인 인산칼슘 기반의 시멘트(hydroxy apatite, α/β-tricalcium phosphate, tetracalcium, and octacalcium)들을 사용하는 방법이 보고되었다.[12] 더 정교한 조직 공학 접근법은 사이토카인(BMPs, TGF-β)을 사용하는 방법을 포함하며 인공 지지체(polyglycolic acid)를 사용하여 살아있는 내인성 치수 조직을 재생하는데 도움을 주어 수복 상아질의 형성을 촉진한다.[13]

2) 치주조직 재생

치주조직을 재생하기 위한 시도는 대부분 소실된 치조골의 재생에 집중되었고, 자가이식(피질골/해면골, 골수), 동종이식(탈회된 냉동 건조골/ 냉동 건조골), 인공성형재료(ceramic, hydroxyapatite, polymers, bioglass)를 사용한다. 하지만 이런 전략의 대부분은 안전성 및 효율성 측면에서 결과가 일정하지 않아 실제적인 치주조직의 재생 방법으로 효과적인지 의문이 제기되고 있다.[10]

이후에 기존의 방법에 대한 대체 방법으로 유전자 치료와 BMPs, TGF-β, β-FGF, PDGF, IGF-1과 같은 성장인자를 포함하거나 포함하지 않는 생체친화적 지지체를 국소적으로 적용하는 조직공학적 접근법이 소개되었다.[14] 가장 최근에 치아의 구조를 재생할 수 있는 줄기세포의 집단이 소개되었고 외상, 암, 우식, 치주질환에 의한 손상에 대한 생후 줄기세포 기반의 치료법이 관심을 받고 있다.[15]

4. 치주조직 재생에 사용되는 임상적 술식

치주조직은 치근백악질, 치주인대, 치조골 그리고 치아치은결합부로 구성된 복잡한 구조이다. 치주조직은 치아를 하악과 상악에 붙어있도록 하여 위치를 고정하고 치아에 영양을 공급하도록 한다. 또한 정확한 기능과 저작압을 분산시켜 치아와 상악, 하악의 손상을 방지한다. 백악질은 혈관이 없고 치근상아질을 덮고 치주인대 섬유에 붙는 석회화된 결합조직이 분포되지 않는다. 치주인대는 교원섬유로 구성되어 있으며 교합력을 치조골에 흡수시키고 분산시키는 역할을 한다. 치조골은 치아와

치은조직을 지지하여 교합력을 치주인대에 분산시키고 흡수시킨다. 치주조직의 기능은 치주조직의 구조적 온전성과 구성성분 사이의 상호작용에 의해 결정된다. 하지만 치주질환은 치주조직을 급격하게 파괴시키고 궁극적으로 치아 상실을 초래한다. 세균의 자극으로 인한 만성 염증과 면역 반응에 의해 조직의 온전성이 상실되어 치근 표면에 연조직의 부착이 상실된다. 치조골의 상실은 치아 주위에 치주낭을 만들어서 혐기성 세균의 증식을 하게 하고 결국 치아를 잃게 만든다.[16]

치은퇴축은 전세계적으로 수백만의 환자에게 영향을 미치는 또다른 치주적 질환이다.[17] 이것은 다양한 조건에 의해 일어나는데 예를 들어서 치주질환, 외상, 성별, 담배의 소비와도 관련이 있다.[18] 이것은 치은변연이 치근쪽으로 이동하여 치근의 표면이 노출되는 현상이다.[19]

치은퇴축과 치주질환으로 손상된 치주조직을 재생하기 위해 다양한 치료 방법이 제안되었다. 치은퇴축을 치료하기 위해 경구개 주위의 자가조직을 이식하는 등의 전통적인 수술적 방법이 사용된다. 조직에서 유래된 교원질 성분의 막이 전통적인 방법을 대체하기 시작하였고 이것은 수술 부위의 수를 줄여주어 관련된 통증과 이환율을 상당히 줄여준다.[19][20]

1) 스케일링 / 치근활택술

스케일링과 치근활택술은 치주질환을 치료하는 가장 기초적이고 전통적인 방법이다. 이 치료 방법의 목표는 세균막을 제거하고 치석과 오염된 백악질을 제거하는 것이다. 다양한 연구를 통해 이 방법이 세균의 양을 줄이고 치은연하 세균의 구성을 조절하는 효과적인 방법이라는 것이 증명되었다.[21] 하지만 스케일링과 치근활택술, 피판형성술 후의 새로운 결합조직의 부착은 예측하기 어렵다. 따라서 스케일링과 치근활택술은 만성 치주염에 대한 효과는 의심의 여지가 없지만 재생과정의 치료로는 고려될 수 없을 것이다.[22]

2) 골유도재생술

골 충전재라고 불리는 자가골, 동종골, 이종골 대체물과 합성골 재료들은 치주조직재생을 목표로 한다. 최근의 연구에서 내부골과 ClassⅡ 이개부 결손부에 임상적으로 효과가 있었다.[23] 골 충전재를 사용하는 원리는 이식된 세포가 조골세포로 분

화하여 골전도, 골유도, 골 형성이라고 불리는 특성을 나타내도록 하는 것이다.[24] 골유도재생술에서처럼 비골유도성 골 충전재(nonosteoinductive bone filler)는 오직 이미 존재하는 골의 측면에만 침착을 보여준다.[22]

하지만 이런 관찰결과들은 단지 골의 형성에만 제한된다. 치근 표면에 새로운 결합조직 부착의 형성을 포함하는 치주조직재생에 관해서는 현재까지는 가능한 결과가 보이지 않는다. 새로운 결합조직의 부착에 대한 조직학적 증거는 제한되어 있다. 조직학적 평가는 보통 이런 재료들이 골유도 능력이 거의 없음을 보여주고 치주조직으로 구성되기보다 치밀한 교원질의 결합조직으로 둘러싸인 것으로 나타났다.[25] 골이식이나 골대체재료들은 손실된 결합조직 부착을 재생하는 능력이 없다.[26]

3) 조직유도재생술

최근에는 조직유도재생술이 치주조직재생에 있어 표준적인 술식이 되고 있다. 조직유도재생술이란 상피와 치은 결합 조직을 배제함으로써 치주인대에서 유래한 세포들이 치근면에 배열하도록 하여 상실된 치주조직을 재생시키는 것을 의미한다.[27]

조직유도재생술의 원리는 물리적인 차단을 통해 선택적으로 세포의 증식과 조직의 확장을 유도하는 것이다. 차단막은 치은상피와 결합조직의 확장을 막고 치주조직의 결손 부위의 치주인대와 치조골의 이주를 돕는다.[26] 조직유도재생술의 개발은 치주인대가 치주조직재생과정에서 가장 중요한 과정이라는 것을 깨달으면서 이루어졌다.[27]

초기에는 조직유도재생술 술식이 많은 결손부의 종류에 효과가 있을 것이라고 기대했지만 여기에는 몇 가지 문제가 있다. 차단막이 구강 환경에 노출되면 세균에 의해 감염되는 문제가 있으며 비흡수성 막은 특히 더 구강 환경에 노출되기 쉽다.[26] 결과적으로 세균이 침착되고 감염되어 치유가 지연되고 좋지 않은 재생의 결과를 얻게 된다. 흡수성 교원질 막은 노출의 위험이 낮고, 제거를 위한 이차 수술 과정이 필요 없다는 점에서 장점이 있으나 기계적 성질이 비흡수성 막에 비해 좋지 못하다. 최근의 연구에 의하면 대부분 이식재와 차단막이 결합되면 조직학적으로 치주조직의 재생을 유도하는 것으로 나타났다.[28]

조직유도재생술 술식은 술자의 능력과 경험이 중요한 술식으로 합성 막의 해로운 분해 산물에 의한 영향, 치아와 치은 사이의 공간을 확실하게 막기 어렵다는 한계가 있다. 조직유도재생술의 제한적 성공으로 인해 과학자들은 세포외 성장인자나

줄기세포 기반 치료법을 함께 사용하여 개선시키려는 노력을 기울이고 있다.

5. 줄기세포를 이용한 치주조직재생

치주조직재생을 위해 다양한 수술적, 비수술적 방법들과 골대체 재료들이 사용되었지만 임상적인 결과는 여전히 제한적이다. 성공적인 치주조직재생을 위한 가장 중요한 요인은 정확한 위치에 적합한 세포가 위치하여 치주 조직의 성분과 일치하는 세포외물질을 생산해내는 것이다.[29] 줄기세포를 이용하여 다른 조직(피부, 연골, 뼈, 심혈관 성분, 이자 등)의 재생이 성공적으로 증가하였기 때문에[30] 치주조직의 재생에도 조직공학적인 접근과 함께 줄기세포 기반의 치료가 새로운 영역으로 떠오르고 있다.

최근에는 배양된 인간의 치주인대줄기세포가 누드 랫드의 치주 결손부에 수술적으로 이식되었다. 이식된 치주인대줄기세포는 치조골과 백악질 표면 모두에 부착되어 치주인대와 같은 구조물을 형성하였다.[1]

6. 줄기세포의 종류

다능성 성체줄기세포는 다양한 조직에서 발견되며 대부분 그들의 기원한 조직에 따라 명명된다. 성인의 건강한 치주인대는 줄기세포를 가지고 있으며 치주조직의 재생에 핵심적인 역할을 한다.[31] 하지만 치주질환과 같은 질병이 있을 경우 건전한 줄기세포가 상실되어 조직 재생이 자연적으로 일어나지 않는다.[32] 따라서 *ex vivo*에서 증식한 줄기세포와 같은 외인성의 재생 도구가 숙주 세포를 보충하고 조직 재생을 촉진하기 위해 필요할 수 있다.[33] 이식된 세포들은 손상되거나 병든 조직을 치유하고 구성 요소(building block)로 제공되거나 영양 인자(trophic factor)의 분비를 통한 재생과정의 조절과 같은 방법으로 조직의 재생에 직간접적으로 기여한다.[34]

치아의 각각 다른 부분에서 분리된 다양한 줄기세포 집단은 일반적으로 치아줄기

세포라고 불리며 치수줄기세포(dental pulp stem cells, DPSCs), 유치치주줄기세포(Stem cells from exfoliated deciduous teeth, SHED), 치주인대줄기세포(PDL stem cells, PDLSC), 치근단줄기세포(Stem cells from apical papilla, apical papilla stem cells, SCAP), 치낭줄기세포(Dental follicle cells, DFCs), 그리고 치은 조직에서 유래한 MSCs가 있다. 또한 BMMSC (bone marrow-derived mesenchymal stem cells)와 ASC(adipose-derived stem cells)와 같은 배아줄기세포도 배아 발달 메커니즘을 모방하여 치주조직재생에 사용될 수 있다.

치아줄기세포는 성인 체내의 다른 부위에서 얻는 줄기세포와 비교할 때 줄기세포를 획득할 수 있는 부위에 접근이 용이한 장점이 있다.[35] 치아줄기세포는 증식, 분화, 유연성과 같은 특징을 가지고 있기 때문에 임상적으로 정형외과와 구강악안면뼈의 재건에 있어 중요한 발전을 이루었다.[36]

1) 치아줄기세포

(1) 치수줄기세포

치수 세포의 한 가지 중요한 특징은 그들의 상아질모세포로의 분화 능력이다. 깊은 우식이나 경도의 외상에서 재생 상아질을 형성하는 능력은 모세포가 상아질과 같은 경조직을 형성할 수 있는 기능적인 상아질모세포로 분화할 수 있다는 사실을 암시한다. 발생중인 제3 대구치에서 획득한 치수줄기세포는 상아질모세포와 유사한 세포를 형성하여 상아질을 생산하고, neuronal marker인 nestin을 발현한다는 사실이 증명되었다.[36] 치수줄기세포는 건강한 치수에서도 얻을 수 있고, 발거된 유치에서도 얻을 수 있다. 최근에는 치수줄기세포를 염증이 있는 치수에서도 얻을 수 있다는 것이 알려졌고, 일반적으로 사용되는 근관치료시에 염증성 치수 조직에서 치수줄기세포를 얻을 수 있는 새로운 길이 열렸다.[37] 치수줄기세포는 뼈와 비슷한 조직을 형성할 수 있는 능력이 있기 때문에 치주조직과 골의 재생에 사용될 수 있으며 상아질과 치수와 비슷한 조직을 형성할 수도 있다.[38] 높은 골형성능력이 있기 때문에 치아 이식재료 주변에 조직공학을 이용한 골의 재생을 위한 유용한 세포로 사용할 수 있다.[39]

최근에는 치수줄기세포가 *in vivo* 동물 실험에서 심장, 근육, 뇌와 치아를 재생하고 치유하기 위한 새로운 대체 세포로 제공될 수 있다는 사실이 밝혀졌다.[33] 2009

년에는 치수줄기세포를 이용한 첫 번째 임상적인 치조골 재건이 성공적으로 시행되었다. 이 연구는 치수줄기세포/collagen sponge 복합체가 사람의 하악골 결손부를 완전하게 복원시킬 수 있고 이 세포들이 나아가 조직과 장기의 재생에도 사용될 수 있다는 사실을 암시한다.[36]

(2) 유치치주줄기세포

유치치주줄기세포는 치수줄기세포나 BMMSC보다 더 빠르게 분화할 수 있다. 그들의 빠른 분화 속도 때문에 영양 배지에 부착되어 구형의 군집을 이루며 연구자들은 나중에 유치치주줄기세포를 분리하여 'immature DPSCs'(IDPSCs)라고 명명하였다.[40] 치수줄기세포와 마찬가지로 유치치주줄기세포는 골형성, 지방세포 형성을 하는 세포로 분화할 수 있는 능력을 보여준다.[41] *Ex vivo*에서 증식된 유치치주줄기세포가 면역억제된 쥐에 이식된 결과 직접적으로 상아질과 유사한 구조를 가진 상아질모세포 유사 세포가 얻어졌다.[3] 한 가지 놀라운 유치치주줄기세포의 특징은 그들이 수여자 쥐의 세포를 뼈 형성 세포로 분화하도록 유도하는 능력이 있다는 것이고, 이것은 *in vivo*에서 치수줄기세포를 이식했을 때는 나타나지 않는 특징이다. 유치치주줄기세포가 골모세포로 직접적으로 분화하는 것은 아니지만 그들은 골유도성 형판(osteoinductive template)을 수여자의 골형성 세포로 유도할 수 있다.[41]

최근의 연구에서는 이런 골유도성 능력과 함께 유치치주줄기세포가 쥐의 심각한 두개골 결손 부위를 상당량의 뼈 형성을 통해 회복할 수 있다는 사실도 밝혀졌다.[42] 하지만 이런 유치치주줄기세포는 유치에서만 얻을 수 있기 때문에 임상적으로 이용시 장기간 보관할 수 있는 방법의 개발이 필요하다.

(3) 치주인대줄기세포

사람의 치주인대는 치주 조직의 구조와 기능을 유지하고 재생하는 몇 개의 작은 집단으로 이루어져 있다. 이 세포들은 다분화능을 가지고 조골세포, 섬유모세포, 치아 백악모세포로 분화할 수 있으며, 백악질, 치주인대와 유사한 조직을 만들고, 치주인대줄기세포라고 불리는 세포들을 형성할 수 있다.

치주인대줄기세포는 발치된 사람의 제 3 대구치 치주인대 조직에서 처음으로 분리되었다.[1] 최근에는 잘 정제된 사람의 치주인대줄기세포 클론이 성인 사람의 치주

인대 조직에서 얻어졌다.[43] 흥미롭게도 최근의 연구에서 치주인대줄기세포 역시 치수줄기세포처럼 염증성 치주인대 조직에서도 얻어질 수 있다는 보고가 있었고, 이 세포들은 백악질과 관련된 치주인대 조직을 재생할 수 있는 가능성을 가지고 있었다.[44] 또한 면역억제된 쥐의 하악 구치부에 수술적으로 만들어진 결손부위에 이식된 치주인대줄기세포가 치조골과 치아 뿌리 표면에 치주인대 조직을 만든 것을 볼 수 있었다.[1]

자가 조직 치주인대줄기세포 이식을 사용하는 방법을 통해 심각한 면역 거부반응을 없앨 수 있다, 그러나, 실제로 하나의 공여 부위에서 자가이식을 위한 충분한 양의 치주인대줄기세포를 생성하는 것이 어렵다. 최근에는 사람의 치주인대줄기세포가 BMMSC와 유사하게 면역 거부 반응과 염증 반응을 억제하는 능력을 가지고 있다는 것이 밝혀졌는데, 이것은 치주인대줄기세포가 새로운 동종 줄기세포기반 치료의 후보로 사용될 수 있다는 것을 나타낸다.[45] 사람을 대상으로 한 첫 번째 실험에서 치주인대줄기세포를 치주조직의 깊은 내부 골 결손부위에 이식한 결과 3명의 환자 모두에게서 아무런 부작용이 없이 치주질환이 많이 개선된 결과를 보였다.[46]

요약하면 치주인대줄기세포는 줄기세포 특성을 가질 뿐 아니라 자기재생과 다분화 능력, 그리고 BMMSC와 비슷한 면역조절 특성을 가지기 때문에 임상적으로 가치가 있고 치주조직의 생체공학에 있어 가장 우선시되는 줄기세포이다.[47]

(4) 치근단줄기세포

치유두는 발생중인 영구치 치근단의 연조직을 말한다. 치유두 조직은 구강내에서 치아가 맹출하기 전에 치근 발생중일 때에만 존재한다. 치유두는 상피횡격보다 더 치근쪽에 있으며 치유두와 치수 사이에 치근단의 세포가 풍부한 부위가 존재한다.[48] 이 세포들은 다른 MSC 집단과 유사하게 *in vitro*에서 지방세포와 상아모세포, 골모세포로 분화할 수 있다.[49] 치근단줄기세포 세포들은 *in vitro*에서 치수줄기세포보다 증식률이 높고 광화 능력이 더 좋다.[50] 또한 초기에는 치주인대줄기세포에 비해 증식률이 더 높기도 했는데 이것은 뼈와 치아 조직 재생을 위해 중요한 문제이다.[51]

(5) 치낭줄기세포

치낭은 맹출 전 발생중인 치아에서 치유두와 법랑기를 둘러싸고 있는 외배엽성 중간엽 조직이다. 이 조직은 치주조직을 형성하는 선구세포를 포함하는데 선구세포는 매복 제 3 대구치의 치낭에서 분리되었다.[52] 최근의 연구에서는 치낭줄기세포가 치아 맹출 이전이나 맹출 중에 치주조직 안에 위치하며 독특하게 분화되지 않은 세포의 종류를 이루고 있으며 치주조직의 발생 과정 동안 치주인대 섬유모세포, 골모세포, 백악질을 만드는 백악모세포로 분화할 수 있다고 생각된다.[39] 치낭줄기세포가 *in vivo*에서 이식되었을 때 치주인대와 유사한 조직을 만들었다는 사실은 치주 조직 재생 분야와 치주인대의 형성과 관련해서 치낭 선구 세포가 유용한 연구 도구가 될 수 있다는 사실을 나타낸다.[51][53] 최근의 연구에서 상피 근초 세포에 의해 유도된 치낭줄기세포 세포가 상피-간엽 상호작용에 의해 치주조직을 만들 수 있다는 사실이 밝혀졌다.[52]

2) 비치성 기원의 줄기세포

(1) 골수 유래 중간엽 줄기세포

다양한 조직, 기관에서 얻은 MSC은 다분화능의 세포로 다양한 면역관련 질환을 치료하는데 새로운 치료 방법으로 임상적으로 실험되어왔다. BMMSC은 임상적 응용을 위해 가장 쉽게 많은 양을 얻을 수 있기 때문에 가장 많이 연구된 MSC이다.[39] 이 세포들은 *in vivo*에서 뼈와 연골을 형성하는 능력을 가지고 있으며 이들의 분화 능력 때문에 특히 정형외과 분야에서 임상적으로 다양한 분야에 적용되어 왔다.[32] 하지만, BMMSC는 단지 뼈 조직에서만 효율적으로 재생되는 것은 아니고 다양한 동물 모델들에서 치주조직도 재생할 수 있었다. 동물 실험에서 classⅢ 이개부 결손 동물에 BMMSC를 자가이식했을 때 결손부가 백악질, 치주인대, 그리고 치조골로 재생되었다.[39] 또한 면역조직학적 분석에서 green fluorescent protein(GFP)로 표시된 이식된 BMMSC들이 4주 후에도 발견되었고, 치주 결손부위가 대부분 치주 조직으로 재생되었다. 재생된 조직의 백악모세포, 골모세포, 골세포들과 섬유모세포가 GFP에 양성이었고, 이것은 이식된 BMMSC들이 생존하여 치주 조직의 세포로 분화한 후 치주조직을 재생한다는 것을 보여준다.[53] 몇 가지 임상적 결과에서

도 치주적 결손부에 순수한 MSC들과 골전구 세포들을 동종 이식했을 때 성공적으로 치료되었다.[54] 이런 결과들은 골수가 치주 재생을 위한 MSC들을 얻기 위한 유용한 자원이 될 수 있다는 것을 보여준다. 하지만 이런 MSC들을 얻기 위해서는 골수를 채취하는 것이 필수적이고, 쉽게 얻을 수 있는 치아줄기세포에 비해 과정이 복잡하다는 단점이 있다.

(2) 지방세포 유래 줄기세포

골수 외에도 MSC와 유사한 세포들은 지방조직과 같은 다른 많은 조직에서도 발견된다.[55] 지방세포는 상대적으로 많은 양을 채취할 수 있고 상당량의 기질세포가 존재하기 때문에 조직 공학 전략에서 중요한 자원이 될 수 있다. 지방세포 유래 줄기세포는 *in vitro*에서 안정적인 성장 곡선을 보이며 골세포, 연골세포, 지방세포와 같은 다양한 세포로 분화할 수 있다.[56] 많은 연구들에서 지방세포 유래 줄기세포의 표현형과 유전자형이 BMMSC와 치수줄기세포와 비슷하다는 것이 밝혀졌다.[55] 최근에는 지방세포 유래 줄기세포도 치주조직 재생에 관여한다는 것이 알려졌다. 예를 들어 지방세포 유래 줄기세포와 혈소판풍부혈장(PRP)를 함께 치주조직이 결손된 쥐에 이식한 결과 8주 후에 새로운 치주인대와 유사한 구조물과 치조골과 유사한 구조물이 형성되었다.[57] 치주조직 재생의 견치 모델에서는 지방세포 유래 줄기세포가 혈소판풍부혈장과 함께 치근 이개부 결손부에 이식되었고, 이들이 4주 후에 결손부에 상피세포의 침투를 억제하는 반면 새롭게 유도된 뼈가 8주 후에 관찰되었다.[57] 이런 사실은 지방세포 유래 줄기세포도 *in situ*에서 치주조직재생을 할 수 있다는 것을 나타내고, MSC보다 상대적으로 많은 양을 얻기 쉬워 BMMSC를 대체할 수 있는 가능성을 보여준다.

(3) 배아줄기세포(Embryonic stem cells, ESCs)

배아줄기세포는 그들의 이름에서 알 수 있듯이 배아에서 얻어지며 다음과 같은 중요한 두 가지 특징이 있다. 먼저 분화되지 않은 다능성의 세포로 증식할 수 있는 능력이 있으며 많은 특정한 세포 종류로 분화할 수 있는 능력도 가지고 있다. 배아줄기세포의 이러한 무한한 세포로 분화할 수 있는 가능성은 재생 의학에서 매우 특별한 의미를 지닌다.[58]

하지만 이 특별한 세포를 임상적으로 적용하는 데는 많은 어려움이 있다. 완전히 기능하는 세포 종류로 분화시키는 것이 어렵고, 테라토마를 형성할 수 있기 때문에 안전성의 문제도 있다. 또 다른 어려움은 사람의 배아줄기세포는 배아에서 분리할 수 있기 때문에 심각한 윤리적 문제가 뒤따르게 된다. 이런 어려움에도 불구하고 ESC만이 갖는 특별한 장점을 이용할 수 있다면, 치주조직재생을 비롯한 재생의학에서 매우 유용한 자원이 될 수 있을 것이다.

7. 줄기세포 전달 방법

어떤 치료적인 개입이 없어도 치주조직과 같은 살아있는 조직에서는 자연적으로 많은 양의 재생이 일어난다.[59] 하지만 치주조직과 골의 심각한 결손부에서는 내부적인 과정만으로 조직 재생이 일어나기 어렵기 때문에 이를 대체하여 재생을 촉진하는 줄기세포의 이식과 같은 과정이 필요하며 이와 관련해 많은 연구가 수행되고 있다.[32] 이런 연구들의 원리는 MSC를 치아 조직 또는 골수나 지방과 같은 다른 조직에서 분리하여 *ex vivo*에서 증식시키고 치주적 손상 부위에 생체재료 없이 또는 생체재료와 함께 이식하는 것이다.[32] 이런 방법은 수 년 전에 처음 만들어졌으나 최근에서야 이런 방법이 치주조직 재생에 효과적일 수 있다는 사실이 밝혀졌다.[60] 사용된 세포의 종류 뿐 아니라 세포의 전달 방법 역시 치주주직 재생에 있어 중요한 문제이다. 과거의 연구가 재생에 가능한 세포를 찾는 것에 집중했다면, 이제는 이런 세포들을 이식하여 재생 능력을 효율적으로 촉진하는 전략을 개발하는 것도 동등하게 중요한 일이다.[34] 세포의 전달은 직접 세포를 주입하거나 또는 자연적인/합성의 생체재료 운반체를 이용한 공학적 구조물을 이식할 수도 있다.[61] 이런 방법의 결정은 개인적인 질병의 상태나 조직의 상태, 그리고 해당 질환의 치료 성공 정도에 의해 결정되어야 할 것이다.[62]

직접 세포를 주입하는 것이 가장 흔하고 편리한 세포 전달 방법이지만, 최근에는 세포 시트 공학과 같은 운송체 없는 세포 전달 방법도 미래의 연구 방향으로 제시되고 있다.[63] 온도에 반응하는 poly(N_isopropylacrylamide)배양 접시가 개개의 시트들이 세포들의 침착된 세포외기질과 함께 결합되어 배양된 세포들의 비침습적인 획득에 사용된다.[64] 세포 시트를 만들기 위해 세포들은 세포 배양 접시에서 합류되

어 자라고, 시간이 지나며 세포간 결합이나 세포외기질과 결합을 형성한다.[63] 세포 시트는 implant patch처럼 목표한 부위에 직접 이식할 수 있는 장점이 있는 반면, 그들의 약한 구조로 인해 치주 수술 도중에 다루기 어려운 단점이 있다. 세포 시트는 치근 표면에 위치되었을 때 그 구조를 유지하기 어렵다. 이런 측면에서 여러 층의 세포 시트를 두껍게 유지하여 좀 더 단단하게 만드는 방법이 필요할 것이다.[64]

8. 줄기세포 기반의 치주조직 재생의 전망과 한계

줄기세포 연구는 현재 치의학과 의학 분야에서 가장 활발하게 연구되고 있는 분야 중 하나이다. 현재 존재하는 치아 간엽 세포 유래의 조직을 유도할 수 있는 치수줄기세포, 유치치주줄기세포, 치주인대줄기세포, 치근단줄기세포, 치낭줄기세포, 그리고 비치성 기원의 MSC, 지방세포 유래 줄기세포, 배아줄기세포 등 많은 종류의 세포 자원이 있다. 하지만 사람의 줄기세포 기반 치료는 다음과 같은 한계점이 있다.

안전성 측면에서 줄기세포의 특성상 종양의 형성을 억제하는 것이 중요한 문제이다. 하지만 현재의 연구는 완전한 결론을 내기 위한 충분한 양의 통계적 힘과 장기간의 추적 연구가 결여되어 있다.[65] 또한 현존하는 세포 배양 방법으로는 소태아혈청(FBS)이 영양 공급원으로 사용되는데 불행하게도 소태아혈청은 치료목적의 세포 배양에는 적합하지 않다. 그 이유는 소태아혈청이 바이러스, 프리온 질환을 전파시킬 위험이 있기 때문이다. 혈소판풍부혈장이나 platelet lysate(PL)과 같은 물질들이 소태아혈청을 많은 세포 배양 시스템에서 대체하고 있지만 이런 물질들로 줄기세포를 배양하기 위해서는 아직도 많은 연구가 진행되어야 한다.[66] 그리고 이식된 줄기세포가 면역 반응을 나타낼 가능성은 없는지 임상시험 이전에 확인되어야 한다.[31]

치아줄기세포들은 매우 적은 양 존재하여 그들이 한 번 몸에서 추출되고 나면 그들의 효율이 감소하고 심지어 세포분열이 감소되어 실험실에서 배양하는 일이 매우 어렵고 도전적인 과제가 된다.[34] 반면에 이들을 치료적인 목적으로 이식하기 위해서는 임상적으로 사용할 만큼 많은 양 증식할 수 있어야 한다. 또한 치아줄기세포는 법랑질 형성이 끝나면 세포사멸이 진행되고 따라서 맹출된 치아에서는 발견되지 않는다. 따라서 분화되지 않은 제3 대구치나 매복치가 유일한 사람 치아줄기세포의

기원이 될 수 있다. 다음으로 *ex vivo*에서 치아줄기세포의 증식이 어렵다는 점인데, 이것은 태생적으로 간엽세포에 비해 세포 배양을 통해 증식시키기 어려운 상피세포의 특성 때문이다.[67]

가장 중요한 것은 세포의 생존율을 높이기 위한 세포 전달 전략과 *in vivo* 세포 접종 방법의 개발, 그리고 줄기세포의 치료적 메커니즘을 밝히는 것이다.[39] 최근의 줄기세포 기반 치주조직공학과 치주조직재생의 발전과 함께 다음 단계의 연구는 이 진보된 치료 방법의 임상적인 활용에 중점을 두어야 할 것이다. 따라서 후향적 연구에서는 *in vitro*에서 다분화능의 줄기세포성을 유지하는 방법과 *ex vivo*에서 줄기세포를 안전하고 효과적으로 증식시켜서 많은 동물 모델의 치주적 결손부를 회복하는 방법을 개발하는 것이 필요하다.[39]

Ⅲ. 결론

이 논문에서 줄기세포기반의 치주조직재생에 대해 선행 연구들을 검토해 보았다. 치주조직 재생을 위해서는 복잡한 백악질-치주인대-골 연결 구조와 치아와 치조골 사이의 기능적 연결 구조를 복원해야 한다. 따라서 현재 임상적으로 다양한 수술적, 비수술적 방법들과 골대체 재료들이 사용되고 있지만 임상적인 결과는 여전히 제한적이다. 세포 기반의 치료에서는 다양한 성장인자나 변조 작용제가 사용된 바 있으나 이 역시 제한적인 성공에 그치고 있다.

줄기세포기반 치료는 현재 의학, 치의학 분야에서 가장 활발하게 연구 중인 분야이다. 치주질환과 같은 질병이 있을 경우 건전한 줄기세포가 상실되어 조직 재생이 자연적으로 일어나지 않기 때문에 외부에서 증식한 줄기세포와 같은 외인성의 재생 도구가 숙주 세포를 보충하고 조직 재생을 촉진하는데 도움을 줄 수 있다.

치아줄기세포는 성인 체내의 다른 부위에서 얻는 줄기세포와 비교할 때 줄기세포를 획득할 수 있는 부위에 접근이 용이한 장점이 있으며 증식, 분화, 유연성과 같은 특징을 가지고 있다. 몇 가지 종류의 줄기세포의 특징에 대해 알아봤으며, 치수줄기세포, 유치치주줄기세포, 치주인대줄기세포, 치근단줄기세포, 치낭줄기세포, 그리고 MSC는 현재 줄기세포 기반의 치주조직재생을 위해 가장 활발히 연구되고 있다. 하지만 안정성의 측면에서, 그리고 외부에서 배양과 증식이 어려운 점은 아직까지 줄기세포의 한계점으로 인식되고 있다. 효율적인 줄기세포의 전달 방법과 함께 이런 한계점을 극복하기 위한 연구가 앞으로도 계속되어야 할 것이다.

치아의 부분재생과 함께 전체 치아를 재생하기 위한 연구도 활발히 이루어지고 있다. 전체 치아를 재생하더라도 이를 이식하기 위해서는 치주인대의 재생과 함께 치주조직의 결합이 필요하므로 결국 치주조직재생은 임플란트와 향후 전체 치아의 재생과 이식 과정의 성공을 위한 필수적인 단계라고 생각된다.

Ⅳ. 참고문헌

(1) Seo BM, Miura M, Gronthos S, Bartold PM, Batouli S, Brahim J, Young M, Robey PG, Wang CY, Shi S.Investigation of multipotent postnatal stem cells from human periodontal ligament. Lancet, 364(9429): 149-155, 2004.

(2) Liu J, Wang L, Liu W, Li Q, Jin Z, Jin Y. Dental follicle cells rescue the regenerative capacity of periodontal ligament stem cells in an inflammatory microenvironment. PLoS One, 2(9):e108752, 2014

(3) Huang GT, Gronthos S, Shi S. Mesenchymal stem cells derived from dental tissues vs. those from other sources: their biology and role in regenerative medicine. Journal of Dental Research, 88(9): 792-806, 2009.

(4) Caplan AI. Mesenchymal stem cells: cell-based reconstructive therapy in orthopedics. Tissue Engineering, 11(7-8): 1198-1211, 2005.

(5) Morsczeck C, Schmalz G, Reichert TE, Völlner F, Galler K, Driemel O. Somatic stem cells for regenerative dentistry. Clinical Oral Investigations, 12(2): 113-118, 2008.

(6) Herberg S, Siedler M, Pippig S, Schuetz A, Dony C, Kim CK, Wikesjö UM. Development of an injectable composite as a carrier for growth factor¯enhanced periodontal regeneration. Journal of Clinical Periodontology, 35(11): 976-984, 2008.

(7) Thesleff I, Sharpe P. Signalling networks regulating dental development. Mechanisms of Development, 67(2): 111-123, 1997.

(8) Tziafas D. The future role of a molecular approach to pulp-dentinal regeneration. Caries Research, 38(3): 314-320, 2004.

(9) Shi S, Bartold PM, Miura M, Seo BM, Robey PG, Gronthos S. The efficacy of mesenchymal stem cells to regenerate and repair dental structures. Orthodontics and Craniofacial Research, 8(3): 191-199, 2005.

(10) Bartold PM, McCulloch CA, Narayanan AS, Pitaru S. Tissue engineering: a new paradigm for periodontal regeneration based on molecular and cell biology. Periodontology 2000 24(1): 253-269, 2000.

(11) Schuurs AH, Gruythuysen RJ, Wesselink PR. Pulp capping with adhesive resin-based composite vs. calcium hydroxide: a review. Dental Traumatology, 16(6): 240-250, 2000.

(12) Mooney DJ, Powell C, Piana J, Rutherford B. Engineering Dental Pulp-like Tissue in Vitro. Biotechnology Progress, 12(6): 865-868, 1996.

(13) Rutherford B, Spångberg L, Tucker M, Charette M. Transdentinal stimulation of reparative dentine formation by osteogenic protein-1 in monkeys. Archives of Oral Biology, 40(7): 681-683, 1995.

(14) Jin QM, Anusaksathien O, Webb SA, Rutherford RB, Giannobile WV. Gene therapy of bone morphogenetic protein for periodontal tissue engineering. Journal of Periodontology, 74(2): 202-213, 2003.

(15) Miura M, Chen XD, Allen MR, Bi Y, Gronthos S, Seo BM, Lakhani S, Flavell RA, Feng XH, Robey PG, Young M, Shi S. A crucial role of caspase-3 in osteogenic differentiation of bone marrow stromal stem cells. The Journal of Clinical Investigation, 114(12): 1704-1713, 2004.

(16) Bottino MC, Thomas V, Schmidt G, Vohra YK, Chu TM, Kowolik MJ, Janowski

GM.Recent advances in the development of GTR/GBR membranes for periodontal regeneration—a materials perspective. Dental Materials, 28(7): 703-721, 2012.

(17) Kassab MM, Cohen RE. The etiology and prevalence of gingival recession. Journal of the American Dental Association, 134(2): 220-225, 2003.

(18) Tugnait A, Clerehugh V. Gingival recession—its significance and management. Journal of Dentistry, 29(6): 381-394, 2001.

(19) Santos A, Goumenos G, Pascual A. Management of gingival recession by the use of an acellular dermal graft material: a 12-case series. Journal of Periodontology, 76(11): 1982-1990, 2005.

(20) Felipe ME, Andrade PF, Grisi MF, Souza SL, Taba M, Palioto DB, Novaes AB. Comparison of two surgical procedures for use of the acellular dermal matrix graft in the treatment of gingival recessions: a randomized controlled clinical study. Journal of Periodontology, 78(7): 1209-1217, 2007.

(21) Cobb CM. Clinical significance of non-surgical periodontal therapy: an evidence-based perspective of scaling and root planing. Journal of Clinical Periodontology, 29(S2): 22-32, 2002.

(22) Bosshardt DD, Sculean A. Does periodontal tissue regeneration really work?. Periodontology 2000, 51(1): 208-219, 2009.

(23) Reynolds MA, Aichelmann-Reidy ME, Branch-Mays GL, Gunsolley JC. The efficacy of bone replacement grafts in the treatment of periodontal osseous defects. A systematic review. Annals of periodontology, 8(1): 227-265, 2003.

(24) DeLuca L1, Raszewski R, Tresser N, Guyuron B. The fate of the autogenous bone

graft. Plastic and Reconstructive Surgery, 99(5): 1324-1328, 1997.

(25) Wang HL, Greenwell H, Fiorellini J, Giannobile W, Offenbacher S, Salkin L, Townsend C, Sheridan P, Genco RJ; Research, Science and Therapy Committee. Periodontal regeneration. Journal of Periodontology, 76(9): 1601-1622, 2001.

(26) Bosshardt DD, Sculean A. Does periodontal tissue regeneration really work?. Periodontology 2000, 51(1): 208-219, 2009.

(27) Park JU, Kim BO, Park JC, Jang HS. The effects of Acellular dermal matrix on the healing of wall intrabony defects in dogs. Jounal of Periodontal and Implant Science 36(1):27-37, 2006.

(28) Sculean A, Nikolidakis D, Schwarz F. Regeneration of periodontal tissues: combinations of barrier membranes and grafting materials–biological foundation and preclinical evidence: a systematic review. Journal of Clinical Periodontology, 35(S8): 106-116, 2008.

(29) Pejcic A, Kojovic D, Mirkovic D, Minic I. Stem cells and periodontal regeneration. Periodontology 2000, 40(1): 164-172, 2006.

(30) Persidis A. Tissue engineering. Nature Biotechnology, 17: 508-510, 1999.

(31) Hynes K, Menicanin D, Gronthos S, Bartold PM. Clinical utility of stem cells for periodontal regeneration. Periodontology 2000, 59(1): 203-227, 2012.

(32) Lin NH, Gronthos S, Bartold PM. Stem cells and future periodontal regeneration. Periodontology 2000, 51(1): 239-251, 2009.

(33) Catón J, Bostanci N, Remboutsika E, De Bari C, Mitsiadis TA. Future dentistry:

cell therapy meets tooth and periodontal repair and regeneration. Journal of Cellular and Molecular Medicine, 15(5): 1054-1065, 2011.

(34) Mooney DJ, Vandenburgh H. Cell delivery mechanisms for tissue repair. Cell Stem Cell, 2(3): 205-213, 2008.

(35) Volponi AA, Pang Y, Sharpe PT. Stem cell-based biological tooth repair and regeneration. Trends in Cell Biology, 20(12): 715-722, 2010.

(36) d'Aquino R, De Rosa A, Lanza V, Tirino V, Laino L, Graziano A, Desiderio V, Laino G, Papaccio G. Human mandible bone defect repair by the grafting of dental pulp stem/progenitor cells and collagen sponge biocomplexes. Europian Cells and Materials, 18: 75-83, 2009.

(37) Alongi DJ, Yamaza T, Song Y, Fouad AF, Romberg EE, Shi S, Tuan RS, Huang GT. Stem/progenitor cells from inflamed human dental pulp retain tissue regeneration potential. Regenerative Medicine, 5(4): 617-631, 2010.

(38) Wang J, Wang X, Sun Z, Wang X, Yang H, Shi S, Wang S. Stem cells from human exfoliated deciduous teeth. Proceedings of the National Academy of Sciences, 100(10): 5807-5812, 2003.

(39) Chen FM, Sun HH, Lu H, Yu Q. Stem cell-delivery therapeutics for periodontal tissue regeneration. Biomaterials, 33(27): 6320-6344, 2012.

(40) Kerkis I, Kerkis A, Dozortsev D, Stukart-Parsons GC, Gomes Massironi SM, Pereira LV, Caplan AI, Cerruti HF. Isolation and characterization of a population of immature dental pulp stem cells expressing OCT-4 and other embryonic stem cell markers. Cells Tissues Organs, 184(3-4): 105-116, 2007.

(41) Miura M, Gronthos S, Zhao M, Lu B, Fisher LW, Robey PG, Shi S. SHED: stem cells from human exfoliated deciduous teeth. Proceedings of the National Academy of Sciences, 100(10): 5807-5812, 2003.

(42) Seo BM, Sonoyama W, Tamaza T, Coppe C, Kikuiri T, Akiyama K, Lee JS, Shi S. SHED repair critical¯size calvarial defects in mice. Oral Diseases, 14(5): 428-434, 2008.

(43) Singhatanadgit W, Donos N, Olsen I. Isolation and characterization of stem cell clones from adult human ligament. Tissue Engineering Part A, 15(9): 2625-2636, 2009.

(44) Park JC, Kim JM, Jung IH, Kim JC, Choi SH, Cho KS, Kim CS. Isolation and characterization of human periodontal ligament (PDL) stem cells (PDLSCs) from the inflamed PDL tissue: in vitro and in vivo evaluations. Journal of Clinical Periodontology, 38(8): 721-731, 2011.

(45) Wada N, Menicanin D, Shi S, Bartold PM, Gronthos S. Immunomodulatory properties of human periodontal ligament stem cells. Journal of Cellular Physiology, 219(3): 667-676, 2009.

(46) Feng F, Akiyama K, Liu Y, Yamaza T, Wang TM, Chen JH, Wang BB, Huang GT, Wang S, Shi S. Utility of PDL progenitors for in vivo tissue regeneration: a report of 3 cases. Oral Diseases, 16(1): 20-28, 2010.

(47) Iwata T, Yamato M, Zhang Z, Mukobata S, Washio K, Ando T, Feijen J, Okano T, Ishikawa I. Validation of human periodontal ligament¯derived cells as a reliable source for cytotherapeutic use. Journal of Clinical Periodontology, 37(12): 1088-1099, 2010.

(48) Rubio D, Garcia-Castro J, Martín MC, de la Fuente R, Cigudosa JC, Lloyd AC, Bernad A. Spontaneous human adult stem cell transformation. Cancer Research, 65(8): 3035-3039, 2005.

(49) Sonoyama W, Liu Y, Fang D, Yamaza T, Seo BM, Zhang C, Liu H, Gronthos S, Wang CU,Shi S, Wang S. Mesenchymal stem cell-mediated functional tooth regeneration in swine. PLoS ONE, 1(1): e79, 2006.

(50) Kémoun P, Laurencin-Dalicieux S, Rue J, Farges JC, Gennero I, Conte-Auriol F, Briand-Mesange F, Gadelorge M, Arzate H, Narayanan AS, Brunel G, Salles JP. Human dental follicle cells acquire cementoblast features under stimulation by BMP-2/-7 and enamel matrix derivatives (EMD) in vitro. Cell and Tissue Research, 329(2): 283-294, 2007.

(51) Han C, Yang Z, Zhou W, Jin F, Song Y, Wang Y, Huo N, Chen L, Qian H, Hou R, Duan Y, Jin Y. Periapical follicle stem cell: a promising candidate for cementum/periodontal ligament regeneration and bio-root engineering. Stem Cells and Development, 19(9): 1405-1415, 2009.

(52) Morsczeck C, Götz W, Schierholz J, Zeilhofer F, Kühn U, Möhl C, Sippel C, Hoffmann KH. Isolation of precursor cells (PCs) from human dental follicle of wisdom teeth. Matrix Biology, 24(2): 155-165, 2005.

(53) Yokoi T, Saito M, Kiyono T, Iseki S, Kosaka K, Nishida E, Tsubakimoto T, Harada H, Eto K, Noguchi T, Teranaka T. Establishment of immortalized dental follicle cells for generating periodontal ligament in vivo. Cell and Tissue Research, 327(2): 301-311, 2007.

(54) McAllister BS. Stem cell-containing allograft matrix enhances periodontal regeneration: case presentations. International Journal of Periodontics and Restorative

Dentistry, 31(2): 149, 2011.

(55) Izadpanah R, Trygg C, Patel B, Kriedt C, Dufour J, Gimble JM, Bunnell BA. Biologic properties of mesenchymal stem cells derived from bone marrow and adipose tissue. Journal of Cellular Biochemistry, 99(5): 1285-1297, 2006.

(56) Zhu Y, Liu T, Song K, Fan X, Ma X, Cui Z. Adipose¯derived stem cell: a better stem cell than BMSC. Cell Biochemistry and Function, 26(6): 664-675, 2008.

(57) Tobita M, Uysal AC, Ogawa R, Hyakusoku H, Mizuno H. Periodontal tissue regeneration with adipose-derived stem cells. Tissue Engineering Part A, 14(6): 945-953, 2008.

(58) Bajada S, Mazakova I, Richardson JB, Ashammakhi N. Updates on stem cells and their applications in regenerative medicine. Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine, 2(4): 169-183, 2008.

(59) Chen FM, Zhang J, Zhang M, An Y, Chen F, Wu ZF. A review on endogenous regenerative technology in periodontal regenerative medicine. Biomaterials, 31(31): 7892-7927, 2010.

(60) Knighton DR, Ciresi K, Fiegel VD, Schumerth S, Butler E, Cerra F. Stimulation of repair in chronic, nonhealing, cutaneous ulcers using platelet-derived wound healing formula. Surgery, Gynecology and Obstetrics, 170(1): 56-60, 1990.

(61) Marx RE, Garg AK Bone structure, metabolism, and physiology: its impact on dental implantology. Implant Dentistry, 7(4): 267-276, 1998.

(62) Anitua E. Plasma rich in growth factors: preliminary results of use in the preparation of future sites for implants. International Journal of Oral and Maxillofacial

Implants, 14(4): 529-535, 1999.

(63) Radosevich M, Goubran HI, Burnouf T. Fibrin sealant: scientific rationale, production methods, properties, and current clinical use. Vox Sanguinis, 72(3): 133-143, 1997.

(64) Fernández Lobato R, García Septiem J, Ortega Deballon P, Martín Lucas FJ, Ruíz de Adana JC, Limones Esteban M. Tissucol application in dermolipectomy and incisional hernia repair. International Surgery, 86(4): 240-245, 2001.

(65) Anitua E, Sánchez M, Nurden AT, Nurden P, Orive G, Andía I. New insights into and novel applications for platelet-rich fibrin therapies. Trends in Biotechnology, 24(5) 227-234, 2006.

(66) Camargo PM, Lekovic V, Weinlaender M, Divnic-Resnik T, Pavlovic M, Kenney EB. A surgical reentry study on the influence of platelet-rich plasma in enhancing the regenerative effects of bovine porous bone mineral and guided tissue regeneration in the treatment of intrabony defects in humans. Journal of Periodontology, 80(6): 915-923, 2009.

(67) Yen AH, Yelick PC. Dental tissue regeneration¬a mini-review. Gerontology, 57(1): 85-94, 2010.

Abstract

Stem cell based periodontal regeneration

(directed by professor Joocheol Park)

Jaewook Park

School of Dentistry
The graduate School
Seoul National University

Periodontium is complex tissue composed of cementum, periodontal ligament and alveolar bone which holds the tooth in the bone. periodontitis is main cause of tooth loss leads to loss of attachment of connective tissue and irreversible bony destruction. So periodontitis has been one of the main concern to dentist, patient and oral health system. For recent years the main purpose of periodontics is regeneration of damaged peroidontium on shape, structure and function.

In periodontal regeneration, new connective tissue fibers should be inserted in the cementum and bone, and construct the complex cementum-ligament-bone interfaces and provide a functional connection between a tooth and the surrounding jaw. Recently, many surgical, nonsurgical therapies and bone substitutes are using, but the clinical outcomes are still limiting. Bone transplantation or bone substitutes like guided bone regeneration, guided tissue regeneration don't have the capacity to regenerate destructed connective tissue. With cell based therapy, numerous growth factors and modulating agents have used but it made limited success.

Stem cell based therapy is the most active researching field in medical and dental area. However, when diseased periodontal condition, tissue repair does not occur naturally because of the lack of sound stem cells. So exogenous regenerative tools such as *ex vivo* expanded/manipulated stem cells will be needed to replenish the host cell

niche and facililtate tissue regeneration. As the increasing success of regenerating other tissues(skin, cartilage, bone, cardiovascular component, pancreas), stem cell based periodontal regeneration with tissue engineering approach can be new field of treatment.

Comparing stem cells from other sites of adult body, dental stem cells have advantage that is easy access to gaining site and have characteristics like proliferation, differentiation, and flexiblity. Some kind of reviewed stem cells, dental pulp stem cells(DPSCs), Stem cells from exfoliated deciduous teeth(SHED), PDL stem cells(PDLSCs), Stem cells from apical papilla, apical papilla stem cells(SCAP), Dental follicle cells(DFCs), and MSCs are most actively studied for stem cell based periodontal regeneration. However, safety problems are not completely examined, and the difficulty of *ex vivo* proliferation is still recognized to limiatation of stem cells. With effective stem cell delivery strategy, research to overcome these limitations should be continued.

With recent advancement of stem cell based periodontal tissue engineering and periodontal regeneration, next step of research should be concentrated to clinical application of this advanced therapeutic method. Accordingly, further studies are required to develop new methods to identify and maintain multipotent stem cells in vitro and to determine the long term safety and efficacy of *ex vivo* expanded stem cells to repair periodontal defects in large animal models.

With partial regeneration of tooth, whole tooth regeneration has been actively studied. When whole tooth regeneration succeed, regenerating periodontal ligament and contact of tooth-periodontium are needed to transplant regenerated tooth. So periodontal regeneration is essential step to achieve whole tooth regeneration and replantation.

Keywords : dental stem cell, periodontal regeneration, dental pulp stem cells, Stem cells from exfoliated deciduous teeth, PDL stem cells, stem cells from apical papilla, dental follicle cells, bone marrow-derived mesenchymal stem cells, adipose-derived stem cells, embryonic stem cells

Student number : 2011-22446