



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](#)

치의학석사 학위논문

줄기세포를 이용한 치아 재생에  
관한 고찰

A review of stem cell mediated  
tooth regeneration

2014 년 2 월

서울대학교 치의학대학원

치 의 학 과

김 철 중

# 줄기세포를 이용한 치아 재생에 관한 고찰

지도 교수 명 훈

이 논문을 치의학석사 학위논문으로 제출함  
2014 년 1 월

서울대학교 대학원  
치 의 학 과  
김 철 중

김철중의 치의학석사 학위论문을 인준함  
2014 년 2 월

위 원 장 \_\_\_\_\_ 서 병 무 \_\_\_\_\_ (인)

부위원장 \_\_\_\_\_ 명 훈 \_\_\_\_\_ (인)

위 원 \_\_\_\_\_ 김 성 민 \_\_\_\_\_ (인)

## 초 록

치아는 배아기 구강 상피세포와 신경능 기원의 중간엽세포 간의 연속적인 상호작용에 의해 발생된다. 실험실에서 하나의 완전한 치아를 생성하기 위해서는 이들 세포의 공급원을 찾아 각 세포를 분리 및 배양한 후에 재조합하는 과정이 필요하다. 지난 10여년간 줄기세포를 이용하여 생체치아를 생성하는 것에 대한 많은 연구가 이루어졌다. 하지만, 대부분의 연구가 배아기 줄기세포를 이용한 것이라 임상적으로 사용되기에는 많은 한계를 가지고 있었다. 최근 들어 성체 줄기세포를 이용하여 생체치아 생성에 성공한 연구들이 발표되고 있다. 줄기세포를 이용한 생체치아 연구에 큰 진보가 이루어졌다고 볼 수 있지만 아직 해결해야 할 과제가 많이 남아 있다. 이러한 연구들도 상피줄기세포와 중간엽줄기세포 둘 중에 하나는 성체 줄기세포를 이용했지만 다른 하나는 배아기 줄기세포를 이용하였다. 또한 상피줄기세포와 중간엽줄기세포 둘 중에 최소한 한 가지는 쥐의 세포를 사용하였기 때문에 면역 거부 반응을 일으켜 생체치아를 사람의 몸에 바로 이식할 수 없다.

생체치아 생성을 위해 줄기세포가 임상적으로 활용되기 위해서는 상피줄기세포와 중간엽줄기세포 모두 사람의 성체줄기세포를 이용해야 한다. 그러면서 상피줄기세포와 중간엽줄기세포 둘 중 하나는 유도 능력을 지녀야 한다. 이러한 요구조건을 만족시키기

위한 해결책으로서 세포 재프로그래밍(Cell reprogramming)이 사용될 수 있다. 즉, 성체줄기세포에 몇 가지 요소를 첨가함으로써 생체치아 발생을 일으키는데 필요한 유도능력을 갖추도록 재프로그래밍하는 것이다

**주요어** : 줄기세포, 생체치아, 치아재생, 세포 재프로그래밍  
**학 번** : 2010-22445

# 목 차

1. 생체치아의 필요성 .....	4
2. 줄기세포의 정의 및 특징.....	5
3. 줄기세포를 이용한 생체치아 생성 과정 .....	6
4. 생체치아 생성에 사용되는 줄기세포 비교.....	7
5. 치아 재생.....	26
6. 줄기세포를 이용한 생체치아 생성의 한계와 발전 방향 .....	30
7. 결론.....	34
참고문헌.....	36
Abstract .....	51

## 1. 생체치아(biotooth)의 필요성

치아는 치주질환, 치아 우식, 외상, 그리고 유전적 결손 등 여러 가지 이유로 상실된다. 임플란트는 20세기 후반부터 사용되기 시작하여 이제는 매우 일반화되고 시술 가격도 낮아지면서 치아 상실 시에 우선적으로 고려되는 치료가 되었다. 임플란트의 성공은 골유착(osseointegration)에 달려있는데, 골유착의 성공을 높이기 위해 임플란트의 재료와 표면처리 방법 등에 관한 연구가 많이 이루어졌다.

하지만, 임플란트는 어쩔 수 없이 가지는 한계점이 있다. 첫째로 임플란트를 식립하기 위해서는 식립 부위의 골이 충분한 부피를 가져야 하며 골질 또한 좋아야 한다. 그렇기 때문에 많은 경우 임플란트 식립 전에 치조골 부피를 증가시키는 시술을 하게 된다. 둘째로 임플란트를 이루는 티타늄과 치조골의 경계는 완벽하게 융합될 수 없기 때문에 시간이 오래 흐르면 안정성이 떨어지게 된다. 셋째로, 임플란트의 형태는 자연치의 치근 형태와 다르고 임플란트 주위에는 PDL이 존재하지 않기 때문에 저작력이 완충되지 못하고 바로 치조골로 전달되어 시간이 흐르면 임플란트 주변의 치조골이 흡수된다. 이러한 한계점 때문에 임플란트를 대체할 수 있는 생체공학적 접근을 통해 치아를 재생하는 것에 대한 연구가 갈수록 활발해지고 있다.

이상적인 생체치아는 사람의 자가 조직을 이용하여 생성되고 악골에서 자랄 수 있으며 맹출 후에는 악골에 단단하게 결합되어 안전하게 기능하는 치아이다. 그러한 생체치아는 자연치와 동일한 기능을 가질 것이고 인공 보철물이 가지는 어쩔 수 없는

한계점들을 극복할 수 있을 것이다. 생체치아는 자연치와 마찬가지로 재생 능력을 보유하여 치아의 계속성(integrity)와 수명을 유지하도록 할 것이다<sup>1</sup>.

## 2. 줄기세포의 정의 및 특징

줄기세포란 동일한 딸세포를 계속해서 생산해낼 수 있고 좀 더 제한된 특성을 지니는 세포를 생산해내는 능력을 지닌 세포를 말한다<sup>2</sup>. 줄기세포는 대칭적으로 분열하거나 비대칭적으로 분열할 수 있다. 대칭적으로 분열 시에는 줄기세포의 수가 증가하게 되고 비대칭적으로 분열 시에는 줄기세포의 수는 그대로 유지하면서 특성이 다른 세포를 생산한다<sup>2</sup>. 이 세포들은 선조체(progenitor) 혹은 변화증식 세포(transit amplifying cells)로서 증식하거나 최종 분화하게 된다. 선조체와 변화증식 세포는 한정된 수명을 가지기 때문에 이식되었을 때 단기간 동안만 조직을 구성할 수 있다<sup>2</sup>. 반면, 줄기세포는 자기재생을 보여 평생 동안 어느 조직이든 재생할 수 있다. 이것이 바로 성공적인 줄기세포 치료의 핵심이다. 배양을 통해 줄기세포 수를 늘릴 수 있는 것은 재생 의료에서 필수적인 요구 조건이고, 배양 과정을 거쳤을 때 줄기세포의 특성에 어떤 영향을 주는지에 대한 많은 연구가 이루어졌다<sup>2</sup>.

줄기세포는 어느 조직에서건 확실성을 가지고 찾아낼 수 없다. 연구자들은 표면 단백질의 목록, 느린 세포주기, 증식성, 그리고 미분화된 상태 등의 간접적인 특성을 가지고 줄기세포를 찾아낸다<sup>2</sup>. 하지만 이러한 기준들은 줄기세포 특이적이지 않다. 줄기세포임을 보이는 최고의 방법은 자기재생 능력을 평가하는 것이다<sup>2</sup>. 즉, 후보



줄기세포를 분리, 이식하여 장기간 동안 조직을 구성하는지를 평가하는 것이다.

### 3. 줄기세포를 이용한 생체치아 생성 과정

치아는 상피조직과 중간엽조직으로부터 형성되므로 치아를 생성하기 위해서는 치성 상피세포와 중간엽세포의 조합을 필요로 한다. 치성 상피세포와 중간엽세포를 각각 분리하여 재조합 시에 *in vitro*와 *in vivo*에서 치아를 형성하였다<sup>3, 4</sup>. 지난 십여 년간 *in vivo*에서 치아를 생성하기 위한 여러 시도가 진행되었다. 쥐, 돼지, 쥐의 치배에서 세포를 분리하여 적합한 생체재료에 위치시킨 후 면역억제된 동물의 장막에 이식하였다<sup>5-11</sup>. 이러한 연구들에서는 상아질과 법랑질의 생성을 확인하였다. 이는 재조합된 세포들이 각각의 층을 형성하고 상아질모세포와 법랑질모세포로 분화한다는 것을 의미한다. 대부분의 연구에서 세포들은 별도의 *in vitro* 과정 없이 생체재료에 놓여졌다. *In vivo* 이식 전에 *in vitro* 과정을 포함하는 연구에서는 결과가 혈청의 존재 여부, 혈청의 유형, 배지의 조성, 세포 밀도, 상피와 중간엽세포의 비율 등의 여러 중요한 변수에 의해 영향을 받을 수 있다<sup>2</sup>. 그렇기 때문에 치아 생성을 위한 정형화된 프로토콜은 아직 정립되지 않았다.

법랑질과 상아질을 가지는 치아를 *in vivo*에서 생성하는 것은 이제 현실이 되었다. 하지만, 장막과 같이 치아 원래의 위치가 아닌 곳에서 생성된 치아는 완성된 치근과 치주조직과 같은 필수 요소가 결여되어 있다. 최근 들어 쥐의 악골에서 치아를 생성하는 연구가 진행되었다<sup>12</sup>. 이 연구에서 상피세포와 중간엽세포는 collagen gel

drop에 놓여진 후에 성체 쥐의 악골에 이식되었다. 그 결과 법랑질모세포, 상아질모세포, 치관, 치근, 치수, 혈관, 치주인대 등의 모든 치아 구조의 생성이 확인되었다. 따라서, 치배를 악골에 이식 시에 치아가 정상적으로 발달, 성숙, 맹출 되고, 이는 줄기세포가 치아 상실 시에 이를 대체하기 위한 용도로 쓰일 수 있다는 것을 의미한다.

#### 4. 생체치아 생성에 사용되는 줄기세포 비교

치아 형성은 상피조직과 중간엽조직 간의 상호작용으로 이루어지기 때문에 상피줄기세포와 중간엽줄기세포 두 종류의 줄기세포가 필요하다. 상피줄기세포는 법랑질모세포를 형성하고, 중간엽줄기세포는 상아질모세포, 백악질모세포, 골모세포 그리고 치주인대의 섬유아세포를 형성한다. 따라서, 줄기세포를 이용한 생체치아 생성을 위해서는 적절한 줄기세포를 분리하고 배양한 후 재조합 하여 원하는 치아 형성세포로 분화하고 치아의 형태를 형성할 수 있도록 해야 한다. 지금까지 생체치아 생성에 사용된 상피줄기세포와 중간엽줄기세포를 정리하면 Table 1.과 같이 분류할 수 있다.

표 1. 치아재생에 사용되는 줄기세포의 분류

	치성세포	비치성세포
중간엽 줄기세포 (MSC)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Adult dental pulp stem cells (DPSC)</li> <li>• Stem cell from human exfoliated deciduous teeth (SHED)</li> <li>• Stem cells from the apical part of the papilla (SCAP)</li> <li>• Stem cells from the dental follicle (DFPC)</li> <li>• Periodontal ligament stem cells (PDLSC)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Bone marrow derived mesenchymal stem cells (BMSC)</li> </ul>
상피 줄기세포 (EpSC)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Epithelial stem cells from developing molars</li> <li>• Epithelial stem cells from the labial cervical loop of rodent incisor</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Adult human gingival epithelial cells</li> <li>• Palatal mucosal epithelium from post-natal mice</li> <li>• Oral epithelium of p53-deficient fetal mice E18</li> </ul>

## 중간엽줄기세포(Mesenchymal stem cell, MSC)

중간엽줄기세포는 자기 복제 능력과 중배엽계로 분화할 잠재력이 높기 때문에 골, 연골, 지방, 골격근, 결합조직 등을 형성한다<sup>13</sup>. 지난 십여 년간, 치아 중간엽줄기세포를 이용한 생체 치아 생성과 치아 손상 재생에 관한 연구가 많이 이루어졌다. 골수로부터 다분화능(multipotent) 중간엽줄기세포(BMSC)를 발견하여 그 특성을 파악한 이후로 다른 조직들로부터 MSC 유사(MSC-like) 세포를 찾아냈다<sup>13-17</sup>. 그 중에서 지방 조직과 탯줄의 혈액에서 분리한 MSC 유사 세포는 다분화능 MSC 세포로서의 역할을 기대할 수 있음이 밝혀졌다<sup>18, 19</sup>. 이러한 MSC는 최소한 골형성(osteogenic), 연골형성(chondrogenic), 지방형성(adipogenic)의 3가지 세포 계열로 분화할 수 있다. 근육형성(myogenic), 신경형성(neurogenic), 힘줄형성(tenogenic) 계열 또한 BMSC로부터 유도될 수 있다. 치아 조직으로부터 유래된 여러 MSC 유사 세포들도 분리되어 그 특성이 밝혀졌다.

사람의 치수조직에서 치아 줄기세포가 처음으로 분리되었고 ‘post-natal dental pulp stem cell’ (DPSC)라고 명명되었다<sup>20</sup>. 이어서 3가지 치아 중간엽줄기세포가 분리되어 특성이 밝혀졌다: stem cells from exfoliated deciduous teeth (SHED)<sup>21</sup>, periodontal ligament stem cells (PDLSC)<sup>22</sup>, 그리고 stem cells from apical papilla (SCAP)<sup>23, 24</sup>. 최근의 연구에서 다섯째 치아조직 유래 선조세포를 분리하였고 ‘dental follicle precursor cells’ (DFPC)이라고 명명하였다<sup>25</sup>. 하지만, 이렇게 서로 다른 줄기세포 간의 정확한 관계에 대해서는 아직 명확히 밝혀지지 않았다.

이러한 치아 줄기세포의 특성이 파악되면서 BMSC과 여러 면에서

비교되었다. 치아 줄기세포는 여러 계열로 분화할 수 있는 잠재력을 지니고 있어 최소한 3개의 세포 계열로 분화한다: 골/치아형성, 지방형성, 그리고 신경형성. 치아줄기세포와 BMSC과의 차이점들이 밝혀졌는데, 치아줄기세포는 골형성 발달보다는 치아형성 발달로 더욱 치우쳐 있다. 치아줄기세포의 생물학적 특성에 관한 충분한 이해가 선행되어야 재생 의학에서 치아줄기세포의 효용성에 대한 이해가 이루어질 수 있을 것이다.

### 치수줄기세포 (Adult dental pulp stem cells, DPSC)

치아는 심한 손상을 받으면 새로운 상아질모세포가 형성되어 손상 부위에 새로운 상아질을 침착 시켜 손상 부위를 재생시킨다. 이런 현상에 근거하여 치수가 중간엽줄기세포를 포함하고 있다는 가능성이 제시되었다<sup>26, 27</sup>. 치아 재생이 일생 동안 이루어지는 과정이라는 것은 중간엽 줄기세포가 성인의 치수에 존재할 것이라는 것을 의미한다고 볼 수 있다. 성인의 치수에는 적절한 신호를 받았을 때 상아질모세포로 분화할 수 있는 선조세포 (progenitor cell)를 포함하고 있다<sup>28</sup>. 치아의 치수에 존재하는 상아질모세포 선조체에 대해서는 아직 명확히 밝혀지진 않았지만, 조골세포로 분화할 수 있는 혈관주위세포가 상아질모세포로도 분화 가능하다는 연구 결과가 발표되었다<sup>28</sup>. 사람의 치수세포는 in vitro에서 극성화된 세포체와 석회화 결절이 축적된 특성을 보이는 상아질모세포 유사세포로 분화 될 수 있다<sup>29-31</sup>. 성인의 치수에서 처음으로 분리된 줄기세포가 DPSC이라고 명명되었다<sup>20</sup>. DPSC은 제3대구치에서 분리되었고 높은 분열능과 산발적이지만 조밀하게

석회화된 결절을 높은 빈도로 생산하는 세포 집단(colony) 형성을 보였다. 또한 DPSC이 ex vivo에서 증식된 후 HA/TCP와 섞어 면역 억제된 쥐에 이식되었을 때, 상아질/치수 유사 조직이 형성되었다<sup>20, 32</sup>. DPSC는 혈관이 형성된 치수 유사 조직을 형성하였고 이는 dentin sialophosphoprotein (DSPP)을 발현하는 상아질모세포 유사 세포의 층으로 둘러싸여 있었다. 상아질모세포 유사세포는 자연치아의 상아질에서처럼 상아세관을 포함하고 있는 상아질을 생산하였고 상아질의 두께는 시간이 지날수록 두꺼워졌다<sup>32</sup>. DPSC을 사람의 상아질 표면에 위치시키고 면역 억제된 쥐에 이식하자 수복 상아질 유사 구조가 상아질 표면에 생성되었다<sup>32</sup>.

상아질을 형성하는 능력 이외에 다른 연구들에서는 DPSC가 상아질모세포, 지방세포, 연골세포, 조골세포와 같은 다른 중간엽 파생 세포로 분화할 수 있다는 것이 밝혀졌다<sup>33-36</sup>. DPSC의 일부 세포군은 지방세포 유사 그리고 신경세포 유사 세포 형태와 각각의 유전 표지를 발현하면서 지방 형성, 그리고 신경 형성 분화가 가능하다는 것이 밝혀졌다<sup>37</sup>. 그 이후에 DPSC가 in vitro에서 골 형성, 연골 형성, 그리고 근육 형성 분화를 일으킨다는 것이 밝혀졌다<sup>35, 38, 39</sup>. DPSC은 기능적으로 활성화된 뉴런으로 분화하고 이식된 DPSC는 endogenous axon guidance 역할을 하여 신경 장애가 있을 경우 세포 치료법으로서의 가능성이 제시되었다<sup>40-42</sup>. Carinci<sup>et</sup>의 연구에서는 사람의 치수에서 골을 형성하는 잠재력을 지니고 in vivo에서 골 유사 조직을 생성하는 줄기세포를 발견하였다<sup>43</sup>. 그들은 이 세포를 ‘osteoblasts derived from human pulpar stem cells’ (ODHPSC)라고 이름 짓고,

microarray를 이용해 정상 골모세포와 유전자 프로필을 비교하였다. 그들은 ODHPSC에서 정상 골모세포와 비교할 때 발현이 저하된 유전자 목록을 확인하였고, 이는 ODHPSC에 의해 생성된 골 유사 조직의 조직학적 특징이 정상 골모세포에 의해 생성된 골조직과 다른 점을 설명해준다.

### **유치줄기세포 (Stem cell from human exfoliated deciduous teeth, SHED)**

사람의 탈락된 유치의 치수에서 분리된 줄기세포인 SHED는 상아질과 골을 형성하고 다른 비치성 중간엽 세포로 분화할 수 있는 능력이 있다<sup>21, 44-47</sup>. DPSC과 마찬가지로 SHED는 골을 형성하는 그리고 지방을 형성하는 방향으로 분화될 수 있다<sup>21</sup>. 게다가 배양된 SHED는 다양한 신경 세포 표지를 발현한다. 신경을 형성하는 환경에서 SHED는 평소의 섬유아세포 유사 형태가 아니라 여러 세포질 돌기를 가지게 된다<sup>21</sup>. 다른 연구에 의해 근육을 형성하는 그리고 연골을 형성하는 잠재력도 밝혀졌다<sup>48</sup>.

DPSC에 비해 SHED는 높은 증식 속도를 보이고 골유도능이 높다<sup>21</sup>. SHED를 치아 절편에 넣은 후 면역 억제된 쥐의 피하에 이식하였더니 상아세관이 있는 상아질을 형성하는 상아질모세포와 혈관을 형성하는 혈관내피세포로 분화하였다<sup>45</sup>. SHED를 *ex vivo*에서 증식시켜 면역 억제된 쥐에 이식하였더니 상아질 유사 구조를 형성하였고, 이에 바로 인접하여 상아질모세포 유사 세포를 생성하였다. 생성된 상아질은 상아질 특이 DSPP를 발현하였다. 하지만, DPSC와는 다르게 SHED는 완전한 상아질-치수 유사 복합체를 생성하지는 못하였다<sup>21</sup>.

SHED의 큰 특징 중의 하나는 쥐에 이식되었을 때 쥐의 세포를 골을 형성하는 세포로 분화하도록 유도할 수 있다는 것이다. 이는 DPSC에서는 발견되지 않았던 특징이다. SHED는 직접 골모세포로 분화할 수는 없지만 쥐의 골을 형성하는 세포를 불러모으는 골 유도의 작용을 함으로써 골 형성을 유도하는 것처럼 보인다<sup>21</sup>. 이러한 골 유도성을 지님으로써 SHED는 쥐의 두개골에 작지 않은 크기의 결함이 있을 때 골을 형성함으로써 결함을 수복할 수 있다<sup>49</sup>. 이러한 발견은 유치가 영구치의 맹출을 안내하는 역할을 할 뿐 아니라 영구치의 맹출에 맞춰 골 형성을 유도하는 것에 관련이 있다는 것을 의미한다<sup>50</sup>.

SHED를 비롯한 치아 줄기세포는 두개신경능(cranial neural crest ectomesenchyme)에서 유래하여 발생학적으로 동일하지만 연구 결과 서로 다른 특징을 지니고 유전자 발현 또한 차이가 난다는 것을 알 수 있다<sup>51</sup>. SHED는 DPSC과 골수 줄기세포에 비해 훨씬 증식 속도가 빠르다<sup>52</sup>. DPSC와 SHED의 유전자 발현을 비교해보니 발현량이 두 배 이상 차이 나는 유전자의 수가 4386개였다. SHED에서 더 높은 발현을 보이는 유전자는 세포 증식과 세포외기질의 형성에 관련된 것이었고 FGF, TGF- $\beta$ 와 같은 여러 성장인자를 포함하였다<sup>52</sup>. 특히 TGF- $\beta$ 는 중요한 의미를 가지는 데, 상아질에 손상이 생겼을 때 치수 줄기세포를 상아질모세포로 분화시키는 데 영향을 미치기 때문이다.

이러한 SHED의 특징을 이용하기 위해 아직 유치를 지니고 있을 때 SHED를 보관하여 어른이 되어 필요할 때 자가 줄기세포로 이용하려는 시도가 이루어지고 있다<sup>51</sup>. 일부 연구에서 SHED를 냉동보존 시에 세포의 특성을 2년간 유지한다는 것을 보였다.



하지만, 그보다 장기간 보관했을 때에 SHED가 고유의 특성을 계속 유지하는 지에 관한 연구는 아직 이루어지지 못했다.

### 치주인대줄기세포 (Periodontal ligament stem cells, PDLSC)

치주인대는 치조골 소켓의 내벽과 치아의 백악질 사이에 위치한 섬유성 결합조직으로서 저작 시에 충격을 흡수하는 역할을 한다<sup>51</sup>. 여러 연구에서 PDL은 백악질모세포나 골모세포로 분화할 수 있는 세포를 포함하고 있음이 밝혀졌다<sup>53, 54</sup>. PDL에 존재하는 여러 세포 유형은 PDL이 치주 조직의 항상성 유지와 재생을 위한 선조세포를 지니고 있음을 의미한다. 치주인대는 저작력으로 인해 항상 일정한 압력을 받기 때문에 PDLSC가 일정한 PDL 세포 수를 유지하는데 역할을 하고 있는 것으로 생각된다<sup>51</sup>.

PDLSC는 STRO-1, CDs, 그리고 scleraxis (힘줄 특이적 전사 인자) 등의 MSC 관련 표지를 BMSC이나 DPSC에 비해 더 높은 정도로 발현한다<sup>50</sup>. 다른 치아줄기세포와 마찬가지로 PDLSC은 정해진 배양 조건에서 골 형성, 지방 형성, 그리고 연골 형성 잠재력을 보인다<sup>55-57</sup>. PDLSC을 ex vivo에서 증식시켜 면역 억제된 쥐에 이식했을 때 전형적인 백악질/PDL 유사 구조가 재생된다<sup>50</sup>. 얇은 층의 백악질 유사 조직과 세포가 흩어져 있고 교원 섬유가 밀집된 PDL 유사 구조가 형성된다. In vivo에서 생성된 교원섬유는 새롭게 형성된 백악질 유사 구조에 연결되어 Sharpey' s fibers의 생리적 부착과 유사한 모습을 보였다<sup>50</sup>. 백악질/PDL 유사 구조는 BMSC에 의해 생성된 골/골수 구조와 DPSC에 의해 형성된 상아질/치수 유사 구조와는 전혀 다르다<sup>50</sup>. 이러한 발견으로부터 PDLSC가 백악질모세포/백악질세포로 분화할 수 있는 세포와

교원섬유를 형성할 수 있는 세포를 포함하고 있다고 추측할 수 있다<sup>50</sup>. PDLSC을 면역 억제된 쥐의 치주 결손부에 이식했을 때 PDL 유사 조직이 재생되었고 PDLSC이 재생된 PDL에 인접한 해면골과도 밀접한 연관이 있음이 밝혀졌다. 이는 PDLSC이 치조골 재생에도 관여함을 의미한다<sup>22</sup>.

### 치근유두줄기세포 (Stem cells from the apical part of the papilla, SCAP)

치근 유두는 형성중인 영구치의 치근단에 위치한 연조직을 말한다<sup>23, 24</sup>. 치근 유두 조직은 치아가 구강 내로 맹출하기 이전의 치근 형성 중일 때만 존재한다<sup>58</sup>. DPSC와 SHED와 유사하게, *ex vivo*에서 증식된 SCAP는 치아를 형성하는 방향으로 분화될 수 있다. 치수와 치근 유두의 차이점은 치근 유두는 치근 치수의 선조 조직이라는 것이다. 그런 면에서 SCAP가 치관 부위의 상아질을 형성하는 상아질모세포로 분화하는 치아 유두(dental papilla)에 있는 줄기세포와 유사할 것이라고 짐작할 수 있다<sup>50</sup>. SCAP가 상아질을 형성하는 세포로 분화할 수 있음이 다른 치아줄기세포와 유사한 방법을 통해 밝혀졌다<sup>50</sup>. SCAP가 면역 억제된 쥐에 적합한 운반자 기질을 통해 이식되었을 때 전형적인 상아질-치수 유사 복합체가 형성되었다<sup>50</sup>. 치근 유두가 치수로 바뀔 때 SCAP가 DPSC로 바뀌는지 아니면 DPSC가 다른 줄기세포로부터 유도되는지에 대해서는 아직 명확하지 않다<sup>50</sup>.

SCAP는 DPSC와 유사하면서도 차이점을 보인다. SCAP는 상아질모세포와 지방세포로 분화할 수 있으며 DPSC에 비해 높은 증식 속도를 보인다<sup>23</sup>. SCAP와 PDLSC을 같이 *minipig*의 발치와에

이식하였더니 상아질과 치주인대가 형성되었다. 이는 SCAP가 PDLSC와 같이 임플란트를 대신하여 생물학적으로 치근을 생성할 수 있음을 의미한다<sup>51</sup>. 대부분 발달 초기의 조직은 줄기세포를 분리하기 위해 임상적으로 접근하기가 쉽지 않다. 하지만 치근은 출생 후에 발달하고 치근 유두는 임상적으로 발치된 사랑니에서 쉽게 얻을 수 있다. SCAP는 치근 상아질 형성을 담당하는 상아질모세포의 기원이 되는 반면 DPSC는 재생 상아질을 만드는 상아질모세포의 기원이 되는 것으로 보인다<sup>50</sup>. Minipigs를 이용한 연구에서, 치근 유두를 발달 단계 초기에 외과적으로 제거하자 치근 형성이 중지되었지만 치수 조직은 정상적으로 발달하였다<sup>50</sup>.

#### **치아주머니줄기세포 (Stem cells from the dental follicle, DFPC)**

치아가 맹출하기 전 발달 중인 치배의 법랑기관과 치아유두를 감싸고 있는 밀집된 외배엽성 중간엽 조직 부분을 치아주머니(dental follicle)라고 한다. 치아주머니에는 상아질모세포, 백악질모세포, 치주인대의 선조세포가 포함되어 있다고 믿어져 왔다. 매복된 제3대구치의 치아주머니에서 선조세포들이 분리되었다. 치아주머니의 세포는 Nestin과 Notch-1과 같은 줄기세포 표지를 발현하였다. DFPC는 전형적인 섬유아세포의 형태를 보이고 Nestin, Notch-1, 교원질 type I, bone sialoprotein (BSP), osteocalcin (OCN), 그리고 FGFR1-IIIC 등을 발현하였다<sup>60</sup>. DFPC는 in vitro에서 유도 시에 골을 형성하는 방향으로 분화할 수 있음이 밝혀졌다<sup>50</sup>.

다른 치아줄기세포와 마찬가지로 DFPC를 이식하였을 때 섬유성의 혹은 견고한 조직으로 구성된 구조가 형성되었다. 면역

억제된 쥐에 이식되었을 때 BSP와 OCN의 유전자 발현은 100배 이상 증가되었고 교원질 type I은 감소되었다. 치아주머니세포는 PDL 섬유아세포로 분화하여 PDL을 형성하고 SCID 쥐에 이식 시에 백악모세포 유사 세포를 형성하였다<sup>61, 62</sup>. 하지만 면역 억제된 쥐에 DFPC를 이식하였을 때는 상아질이나 백악질, 골의 형성은 잘 나타나지 않았다<sup>63</sup>. 저자는 이런 결과의 이유가 줄기세포 배양에서 세포 수가 적었기 때문이라고 설명하였다.

### 골수줄기세포 (Bone marrow derived mesenchymal stem cells, BMSC)

형태학적으로 BMSC은 이종(heterogeneous) 세포들의 집합이다<sup>64</sup>. 또한 증식된 세포는 각 세포마다 분화의 성숙도가 서로 다른 세포들의 집합이다<sup>65, 66</sup>. 정제된 세포집단은 유전자와 단백질 발현에 있어서 배양된 이종(heterogeneous) MSC와 다르다. 클론 수준에서 각 세포집단(colony) 중 오직 소수의 비율만이 많은 증식을 이룰 수 있고 in vivo에서 완전하게 골수를 재생할 수 있다<sup>50</sup>.

BMSC은 in vitro에서 골형성, 연골형성, 지방형성, 근육형성, 그리고 신경형성 계열 등의 여러 세포 계열로 분화가 가능하다. 여러 연구에서 동물 모델에서 BMSC을 근육 조직, 특히 심근(myocardium)에 이식하였을 때 BMSC의 근육을 형성하는 잠재력이 보고되었다<sup>67-70</sup>. 많은 임상 실험에서 사람의 줄기/선조 세포를 심장에 이식하였을 때 다양한 수준의 성공이 보고되었다<sup>71</sup>. 지금까지 보고된 BMSC을 이용한 임상 시도가 많지는 않지만 허혈성 심근증 (ischemic cardiomyopathy) 치료를 위해 자가 BMSC을

심장 내로 이식하는 시도가 긍정적인 결과를 보여주었다<sup>72</sup>. 하지만, 심장 연구의 대부분에서 나타난 BMSC의 이점은 BMSC가 기능하는 심근세포로 분화하기 때문이라기 보다는 BMSC의 근거리분비(paracrine) 효과 때문인 것으로 보인다<sup>50</sup>. 쥐에서 BMSC은 성상세포로 분화하고 쥐의 뇌에 이식되었을 때는 뉴런으로도 분화하는 것이 밝혀졌다<sup>73</sup>. 쥐와 사람의 BMSC은 in vitro에서 뉴런으로 분화되도록 유도될 수 있으나<sup>74</sup>, 신경형성 잠재력은 신경 조직에서 유래된 줄기세포보다 더 약한 것으로 나타났다<sup>75, 76</sup>.

BMSC은 DPSC과 비슷한 특징을 지니고 있고, 둘 다 치아조직과 골조직을 형성할 수 있다. 하지만, BMSC가 DPSC에 비해 상아질 형성에 더 낮은 잠재력을 보였다<sup>77</sup>. 이는 기원이 다른 MSC은 동일하지 않다는 것을 의미한다. DPSC은 신경능세포에서 기원하였고, BMSC은 중배엽에서 기원하였다. 그리고, 기원이 다른 MSC의 골형성능과 지방형성능을 비교한 결과, 세포가 동일한 유전자 표지를 지니고 있음에도 세포가 동일하지 않고 특정 방향으로 분화가 이미 이루어져 있었다<sup>78</sup>.

처음으로 성인의 비치성 세포를 이용하여 생체 치아 생성에 성공한 연구<sup>79</sup>에서는 배아기 치아 상피세포와 성인의 골수 기질세포를 재조합 하였다. 신경줄기세포가 E14 배아기의 상지(upper limb)에서 아래 목 부위(lower cervical region)까지의 척수에서 분리되고, 6주에서 9주 된 암컷 CD-1 쥐의 tibiae와 femora에서 채취된 골수 세포를 분리하였다. 이전까지는 원기를 성체의 원래 위치에 이식하여 완전한 기관이 발생하는 것을 보여주지 못하고, 신피막(renal capsule)이나 눈의 전방(anterior

chamber)이 이용되었다. 이 두 곳은 면역 무방비 상태이고 이식된 조직에 적절한 혈액 공급이 가능하기 때문에 기관과 조직 발생에 주로 이용되어 왔다. Ohazama<sup>79</sup>는 배아기 치아 원기를 성체 쥐의 악골에 이식하여 완전한 치아가 발생함을 보임으로써 배아기 원기가 성체 환경에서 발생할 수 있음을 보여주었다.

표 2. 치아재생에 사용되는 중간엽줄기세포의 분화능과 특징<sup>50</sup>

MSC	Differentiation potency	특징
DPSC	Osteo/dentinogenic Adiogenic Chondrogenic Myogenic neurogenic	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 상아질/치수 유사 복합체 형성</li> <li>· 재생 상아질 형성</li> </ul>
SHED	dentinogenic Adiogenic Chondrogenic Myogenic Neurogenic Osteo-inductive	<ul style="list-style-type: none"> <li>· DPSC, BMSC에 비해 훨씬 증식 속도 빠름</li> <li>· 완전한 상아질/치수 유사 복합체를 형성 못함</li> <li>· DPSC에 비해 골유도능 높음</li> <li>· 쥐에 이식 시 쥐의 세포를 골 형성 세포로 분화하도록 유도</li> </ul>
SCAP	dentinogenic Adiogenic Chondrogenic Myogenic neurogenic	<ul style="list-style-type: none"> <li>· DPSC에 비해 증식 속도 빠름</li> <li>· 상아질-치수 유사 복합체가 형성</li> <li>· 치근 상아질 형성</li> </ul>
DFPC	Cementogenic Odontogenic Adiogenic Chondrogenic Myogenic neurogenic	<ul style="list-style-type: none"> <li>· In vivo에서 상아질이나 백악질, 골의 형성은 잘 나타나지 않음</li> </ul>
PDLSC	Osteo/cementogenic Adiogenic Chondrogenic Myogenic neurogenic	<ul style="list-style-type: none"> <li>· MSC 관련 표지를 BMSC이나 DPSC에 비해 더 높은 정도로 발현</li> </ul>
BMSC	Odontogenic Osteogenic Adiogenic Chondrogenic Myogenic neurogenic	<ul style="list-style-type: none"> <li>· DPSC에 비해 상아질 형성에 더 낮은 잠재력을 보임</li> </ul>

## 상피줄기세포 (Epithelial Stem Cells, EpSC)

지난 십여 년간 치성 중간엽줄기세포에 대한 수많은 연구에서 다양한 치성 중간엽줄기세포의 특성이 밝혀졌지만, 사람의 치성 상피줄기세포에 대해서는 밝혀진 것이 거의 없다. 이는 법랑질모세포나 법랑질모세포 전구체와 같은 치성 상피세포가 치아가 맹출된 이후에는 남아있지 않기 때문이다. 그리하여 *in vivo*에서 자극을 받았을 때 법랑질을 형성할 수 있는 상피세포가 사람의 성체 치아에는 존재하지 않는다. 따라서, 법랑질을 재생하기 위해서는 줄기세포를 이용한 접근이 유일한 방법이 될 것이다<sup>2</sup>.

그렇기 때문에 기존의 많은 연구는 치성 중간엽줄기세포만을 가지고 상아질, 치수, 백악질, 치주인대, 치조골 등 치아와 치주조직의 일부 구조를 재생하는 것에 국한되었다. 왜냐하면 생체치아 전체를 *de novo*로 생성하기 위해서는 상피줄기세포도 필요하기 때문이다. 생체치아 연구를 위해 두 가지 접근 방법이 사용되었다. 첫째는 배아기 치성 상피줄기세포를 이용하는 것이고 둘째는 성체의 비치성 상피줄기세포를 이용하되 유도성을 지닌 치성 중간엽줄기세포와 재조합하는 것이다.

## Epithelial stem cells from developing molars

여러 연구에서 태어난 지 얼마 안 된 동물의 제3대구치에서 분리된 상피줄기세포를 이용하였다. 제3대구치에서 상피세포를 분리하고 증식시킨 후 같은 치아에서 분리된 중간엽줄기세포와 *in vitro*에서 재조합 하였다<sup>6, 8, 11</sup>. 이 방법은 생체치아를 생성하고 재생하는데 쓰일 수 있지만 임상적으로 널리 사용되기에는 한계가 있다. 왜냐하면 이 방법은 어린이로부터 제3대구치 치배를 기증



받는 것이 필요하기 때문이다. 자가 줄기세포를 이용하는 것이 바람직하지만 적당한 줄기세포 공급원이 마땅하지 않을 수 있다는 문제가 있다.

### **Epithelial stem cells from the labial cervical loop of rodent incisor**

쥐의 절치는 사람과 달리 일생 동안 치아가 자라기 때문에 치성 상피줄기세포를 연구하기에 좋은 대상이다. 쥐의 절치 상피의 근단쪽 부분에 위치한 상피줄기세포 niche가 끊임없는 법랑질 생산을 책임지고 있다<sup>80-84</sup>. 이 증식성이 높은 부분에서 미분화된 상피세포가 절치의 앞쪽 부분으로 이동하여 법랑질모세포로 분화한다. 하지만 이 치성 상피줄기세포 공급원은 사람의 치아 재생에 쓰일 수는 없다. 왜냐하면 이 방법은 쥐의 세포를 사람의 체내에 가져오는 것이고, 이는 면역 거부 반응을 일으킬 것이기 때문이다.

### **Adult human gingival epithelial cells**

치아 형성 과정을 시작할 때, 상피는 중간엽 조직에 첫 유도 신호를 보낸다. 그러면 중간엽 조직은 상피로 대응하는 신호를 보내게 된다. 배아가 아닌 세포를 이용하여 치아를 형성하기 위해서는 상피 혹은 중간엽 조직 둘 중에 하나는 다른 하나에게 유도 신호를 보낼 수 있어야 한다. 초기 치성 상피는 비치성 중간엽과의 조합에서 중간엽이 줄기세포의 특성을 지니고 있는 경우 치아 형성을 유도할 수 있다. Ohazama<sup>79</sup>는 성인의 골수 간질의 중간엽 줄기세포를 이용한 실험에서 배아기 치성 상피가

성인의 비치성 중간엽 세포를 유도하여 치아를 형성할 수 있음을 보여주었다. 마찬가지로 배아기 중간엽줄기세포는 비치성 상피세포와의 조합에서 상피세포가 분화가 되지 않은 경우 치아 형성을 유도 할 수 있다. Volponi<sup>85</sup>는 성인의 치성 상피세포와 배아기의 치아유도 중간엽세줄기포 간의 상호작용 또한 치아를 형성할 수 있음을 보여주었다.

그들은 성인의 잇몸 조직에서 상피세포를 추출하고 CD-1 쥐 배아의 하악구치에서 중간엽조직을 추출하여 재조합 하였다. 7일간의 배양 후 성체 SCID 쥐의 신장 캡슐에 이식하였다. 총 30개의 치아 원기 중 6개가 치아를 형성하였다. 저자는 이식된 치아 원기 중 오직 20%만이 치아 발생에 성공한 이유에 대해서 치아 원기를 다루고 이동하는 과정에서 상피세포와 중간엽세포가 물리적으로 분리되었기 때문일 것이라고 설명하고 있다. 형성된 치아는 상아질, 법랑질, 혈관화된 치수, 그리고 치근 형성의 초기단계를 보이고 법랑질을 둘러싸고 있는 법랑질모세포-유사 상피세포가 존재하였다. 각 세포의 기원을 알기 위해 사람의 MHC class I 단백질에 대한 면역조직화학검사 결과 법랑질모세포 유사(ameloblast-like) 상피세포와 형성중인 치근을 싸고 있는 rests of Malassez 모두 사람의 상피세포에서 기원함을 알 수 있었다. 즉, 의도한대로 성인의 잇몸 상피세포가 생체치아 생성에 참여하였음을 확인하였다.

### Palatal mucosal epithelium from post-natal mice & Oral epithelium of p53-deficient fetal mice E18

비록 사람이 아닌 쥐의 세포를 이용하긴 했지만 성체의 비치성

상피줄기세포를 이용하여 치아 생성에 성공한 연구는 Volponi<sup>51</sup>가 처음은 아니다. Nakagawa<sup>86</sup>는 출생 후의 쥐의 구개점막상피를 유도성을 지닌 배아기 중간엽줄기세포와 재조합하여 치아와 유사한 구조를 형성함을 보여주었다<sup>86</sup>. 다른 연구에서는 배아기 18일째 (E18)의 p53 결손 쥐의 구강 상피와 E16.5 치성 중간엽세포와 재조합 하였을 때 클론의 세포주가 형성되고 치아와 유사한 석회화된 구조가 생성되었다<sup>87</sup>.

표 3. 바이오 치아 생성에 성공한 연구들 비교

	EpSC	MSC	Human / Mouse	Adult / Embryonic	Dental / Non-dental
Ohazama A. 2004	Embryonic tooth epithelium	Adult bone marrow stromal cells	ESC: Mouse  MSC: Mouse	ESC: Embryonic  MSC: Adult	ESC: Dental  MSC: Non-dental
Nakagawa 2009	Palatal mucosal epithelium from post- natal mice	Mouse inducing mesenchyme	ESC: Mouse  MSC: Mouse	ESC: Adult  MSC: Embryonic	ESC: Non-dental  MSC: Dental
Takahashi 2010	Oral epithelium of p53- deficient fetal mice E18	E16.5 dental mesenchyme	ESC: Mouse  MSC: Mouse	ESC: Embryonic  MSC: Embryonic	ESC: Non-dental  MSC: Dental
Volponi 2013	Adult human gingival epithelial cell	Mouse embryonic molar mesenchyme	ESC: Human  MSC: Mouse	ESC: Adult  MSC: Embryonic	ESC: Non-dental  MSC: Dental

## 5. 치아 재생

줄기세포를 이용한 치아 연구는 크게 두 가지로 나눌 수 있다. 첫째는 치아를 상피줄기세포와 중간엽줄기세포를 재조합하여 치아 원기에서부터 완전한 치아로 발달시켜 생체치아를 생성하는 것이고, 둘째는 치아를 구성하는 상아질, 치수, 백악질, 치주인대, 치조골 등의 여러 구조 중 일부가 손상되었을 때 손상된 부위를 재생을 통해 회복하는 것이다. 위에서 많은 생체 치아줄기세포를 비교하였지만 이들 생체 치아줄기세포를 이용한 많은 연구가 치성 중간엽줄기세포만을 가지고 치아와 치주조직의 일부 구조를 재생하는 것에 국한되었다. 왜냐하면 생체치아 전체를 de novo로 생성하기 위해서는 상피줄기세포도 필요한데 치성 상피줄기세포가 치아가 맹출된 이후에는 남아있지 않기 때문이다

조직이 손상되었을 때 이를 재생하기 위해 치아 줄기세포를 이용하는 연구가 많이 이루어졌다. 이는 상아질, 치주인대, 치수 조직뿐 아니라<sup>88, 89</sup> 법랑질 조직을 재생하는 연구도 이루어졌다<sup>90</sup>. 심지어는 치아 줄기세포를 이용하여 뼈와 신경과 같은 치아가 아닌 조직의 손상을 재생하는 시도 또한 이루어졌다<sup>91</sup>.

생체치아를 생성하기 위해 사용되는 세포는 모든 필요한 세포 유형이 존재하는 치아 싹(tooth buds)으로부터 얻어져야 한다. PDL, 상아질, 치수와 같은 치아 조직의 일부분이 손상된 경우 이를 재생하기 위해서는 한 두 개의 특정한 유형의 치아줄기세포면 충분하다.

## 치주 재생 (Periodontal regeneration)

치주조직은 치아를 둘러싸고 있는 여러 조직의 집합체로서 치아를 지지하여 치아가 악골에 유지될 수 있도록 해준다. 치주염이 생기면 결합조직 부착과 치조골에 손상이 생기게 되고 이는 비가역적인 과정이다. 치아 줄기세포를 이용한 치주조직의 재생은 새로운 치주인대와 치조골을 형성하고 치아와 새롭게 형성된 치주인대, 치조골이 정상적으로 연결되는 것이다. 하지만 이들 조직이 치아 형성 과정에서 시간적으로 그리고 공간적으로 다르게 형성되는 조직이라서 성공적인 재생이 쉬운 일은 아니다<sup>51</sup>. 현재 이루어지고 있는 연구 중의 하나는 여러 종류의 치아 줄기세포를 이용하여 치주조직 발달의 중요한 단계를 시공간적으로 모방하여 손상된 조직의 재생이 연속적으로 이루어지게 하는 것이다<sup>63</sup>.

치주조직 재생을 위해 가장 쉽게 생각할 수 있는 방법은 PDLSC를 이식하는 것이다<sup>88</sup>. 사람의 제3대구치에서 PDLSC를 분리하고 배양하여 흉선이 없는 쥐의 치주조직과 백악질이 제거된 제1대구치에 이식하였다. 정상적인 치주인대 섬유와 유사한 섬유 연결과 무세포성 백악질 유사 층(acellular cementum-like layer)이 관찰되었다. 이 방법은 치주조직 재생에 활용가능 하지만 골조직의 재생이 동반되지 않는다는 한계가 있다.

한 임상 증례 보고서에서는 자가 BMSC를 이용하여 치주 손상을 재생하였다<sup>92</sup>. 치주 손상을 재생하기 위해서는 뼈를 재생하는 것만큼 PDL을 재생하는 것이 중요하다는 것이 인식되었다. 오직 뼈의 재생에만 초점을 맞추어 rhBMP-2(human bone morphogenetic protein-2)을 이용하면 임상적으로 유의한 치조골과 백악질의 재생은 얻을 수 있지만 기능적으로 형성된

PDL은 얻지 못하여 결국 치아와 새로 형성된 뼈가 유착되게 된다<sup>93</sup>. Minipig 모델을 이용한 최근의 연구에서는 PDLSC을 이용하여 치주조직의 손상이 회복되었다<sup>94</sup>. PDLSC을 이용한 치료를 통해 PDL의 재생뿐 아니라 치조골의 높이도 회복되었다.

이러한 시도들의 쟁점은 재생된 치주조직이 오랜 시간 동안 형태를 유지하고 저작과 같은 정상적인 기능을 발휘할 수 있는가 하는 것이다.

### 치수 재생 (Pulp regeneration)

치수에 비가역적이 염증이 생기면 우리는 근관치료를 통해 치수강과 치근관 내의 모든 치수조직을 제거하고 인공적인 치관충전재로 치근관의 공간을 채운다. 이러한 근관치료를 받은 치아는 비생활치가 되기 때문에 치아줄기세포를 이용한 치수조직의 재생은 다른 치아조직의 재생보다 훨씬 큰 중요성을 지니고 임상적 활용도가 높다고 할 수 있다.

치수조직 재생에 줄기세포를 이용하는 것은 DPSC, SHED, SCAP 등의 줄기세포를 분리하고 특성을 파악하면서 시작되었다. 합성 scaffolds을 이용하여 SHED를 치수강에 이식하자 상아질 표면을 따라 조상아세포 유사세포(odontoblast-like cell)가 형성되었다<sup>46</sup>. 하지만, 치수 공간에서 치수 유사 조직의 재생은 관찰되지 않았다. 이는 줄기세포와 scaffolds를 치근단을 통해서만 혈액 공급을 받는 치근관에 이식하면 이식된 세포가 살 수 있는 충분한 혈액 공급이 이루어지기 힘들기 때문인 것으로 생각된다<sup>50</sup>. 혈액 공급에 관한 문제 때문에 원하는 치수 조직의 재생에 성공하기 위해서는 가공된 치수를 단계적으로 삽입하는 방법이 임상적으로 도입되어야 한다는

주장이 제기되었다<sup>58</sup>. BMSC과 DPSC이 면역 억제된 쥐의 피하 공간에 이식되었을 때 두 줄기세포는 골수 유사 복합체(BM-like complex)와 상아질-치수 유사 복합체(dentin-pulp-like complex)를 형성하였다<sup>20</sup>.

최근의 한 연구에서는 DPSC과 SCAP을 이용하여 빈 치근관 공간에서 치수조직의 재생에 성공하였다<sup>89</sup>. 사람의 제3대구치에서 분리된 DPSC와 SCAP을 치근 조각의 치근관 공간에 넣은 후 SCID 주의 피하에 이식하였다. 3~4개월 후 치근관 공간이 치수 유사 조직으로 가득 채워져 있고 혈관화도 잘 이루어져 있는 것이 관찰되었다. 또한 상아질과 유사한 석회화된 조직층이 치근관의 기존 상아질벽에 침착되어 형성되었다.

쥐에서 유전자 표식된 세포를 이용한 최근의 연구에서는 세포의 대부분이 혈관을 통해 공급되므로 줄기세포를 공급하는 것이 빈 치수 공간에서 치수 조직의 재생에 별 차이를 주지 않는다는 주장을 제기하였다<sup>95</sup>. 이에 따르면 치수조직의 재생은 외부에서 줄기세포를 공급하는 것이 문제가 아니라 충분한 혈액 공급이 유지될 수 있도록 외과적인 처치를 해주는 것이 더 중요한 것이다.

### 치근 재생 (Root regeneration)

Sonoyama<sup>23</sup>은 SCAP와 PDLSC을 이용하여 치주인대 조직이 있는 생체치근을 재생하였다. Minipigs 모델을 사용하였고 자가 조직의 SCAP와 PDLSC을 HA/TCP와 gelfoam scaffolds에 넣은 후 하악의 발치와에 이식하였다. 세 달 후, 생체 치근이 형성되었다. 생체치근은 주로 SCAP에 의해 생성된 상아질로 구성되어 있고 치주인대 조직으로 둘러싸여 있으며 주변 뼈와 정상적인 관계를



갖고 있었다.

## 6. 줄기세포를 이용한 생체치아 생성의 한계와 발전 방향

지난 십여년간 줄기세포를 이용하여 생체치아를 만드는 것에 대한 많은 연구가 이루어졌다. 하지만, 대부분의 연구가 배아기 줄기세포를 이용한 것이라 임상적으로 사용되기에는 많은 한계를 가지고 있었다. 배아기 줄기세포를 이용하기 위해서는 수정이 되지 않은 난자의 기증(unfertilized donor eggs)이 필요하고 버려지는 배아(discarded embryos)가 발생되기 때문이다. 이론적으로 제3대구치에서 사람의 배아기 치아 세포를 얻을 수는 있지만 일반적인 생체치아 생성에 쓰이는 데에는 한계가 있다. 성체 중간엽줄기세포를 이용하여 치아 재생이 아닌 생체치아 생성에 성공한 것은 오직 골수줄기세포를 이용한 연구<sup>79</sup>뿐이며, 이 연구도 상피줄기세포는 배아기 줄기세포를 이용하였기 때문에 임상적으로 큰 의미를 지니기에는 한계가 있다.

최근 성인의 잇몸 상피세포를 이용하여 생체치아 생성에 성공한 연구가 발표되었다<sup>85</sup>. 줄기세포를 이용한 생체치아 연구에 큰 진보가 이루어졌다고 볼 수 있지만 아직 해결해야 할 과제가 많이 남아 있다. 첫째로, 상피줄기세포는 사람의 세포를 이용했지만 중간엽줄기세포는 쥐의 세포를 이용하였다. 기본적으로 자기 자신의 세포가 아닌 세포가 체내로 들어오게 되면 우리 몸은 면역 거부반응을 일으키게 된다. 많은 in vivo 연구에서 중간엽줄기세포의 면역억제효과를 확인하였지만 <sup>72</sup>, 동종

중간엽줄기세포는 수용체에서 잘 받아들여지는 반면 이중 중간엽줄기세포는 이식 후에 수용체에서 거부반응을 일으킨다<sup>96</sup>. 따라서 사람이 아닌 동물의 세포를 이용하는 것은 면역 거부반응 때문에 임상적으로 의미가 없다. 둘째로, 상피줄기세포는 성인의 잇몸세포를 이용했지만 중간엽줄기세포는 쥐의 배아기 치아 중간엽세포를 이용하였다. 배아기 줄기세포를 이용하는 것은 임상적으로 의미가 없기 때문에 중간엽줄기세포는 성체의 골수세포를 이용했지만 상피줄기세포는 배아기 치아 상피를 이용한 Ohzama<sup>79</sup>의 연구에서와 같이 반쪽 짜리 성공이라 할 수 있다. 따라서 임상적으로 더 큰 의미를 지니기 위해서는 우선 사람의 배아기 치아 중간엽세포를 이용하여 치아 발생에 성공하고, 결국엔 사람의 DPSC과 같은 성체 중간엽줄기세포를 이용하여 치아 발생에 성공해야 할 것이다.

Volponi<sup>51</sup>에 따르면 상피세포와 중간엽세포 둘 중 하나만 유도성(inductive)을 지녀도 다른 하나가 반응성(responsive)을 지닌다면 치아 발생이 이루어진다<sup>85</sup>. 오래된 연구에 의하면 치아 상피가 첫 유도 신호를 하방의 신경능 기원의 중간엽조직에 제공한다<sup>97, 98</sup>. 또한 상피로부터 첫 유도신호를 받은 치아 중간엽세포와 비치성 상피와의 조합은 치아를 형성한다. 중요한 것은 이러한 실험들을 통해 반응하는(responding) 중간엽세포는 줄기세포유사(stem-cell-like) 특성을 지녀야 하는 반면 반응하는 상피세포는 줄기세포유사 특성을 지니지 않아도 된다는 것이다. 이는 상피세포와 중간엽세포가 치아 구조에 기여하는 정도를 생각하면 이해할 수 있다. 즉, 중간엽세포는 다수의 분화된 세포 유형을 형성해야 하기 때문이다<sup>99</sup>. 이러한 결과를 토대로 치아를

생성하기 위해서는 유도하는 세포가 반응하는 세포와 결합되어야 하고 중간엽세포는 유도하든지 반응하든지 줄기세포유사 특성을 지녀야 한다. 상피세포와 중간엽세포의 재조합에 관한 최근의 연구에 따르면 세포 기반의(cell-based) 재조합은 실제 하나의 치아 원기에 존재하는 수보다 훨씬 많은 수의 세포를 필요로 한다<sup>100, 101</sup>. 그러므로 임상적으로 의미 있는 줄기세포 소스는 치아 유도성 혹은 반응성이 있고 배양을 통해 충분한 세포 수를 제공할 수 있어야 한다.

생체치아 생성에 성공한 연구들을 보면 치아 원기(primordium)를 쥐의 성체 악골에 이식하여 발생시킨 연구와 신피막(renal capsule)에 이식하여 발생시킨 연구로 나눌 수 있다. 신피막은 눈의 전방(anterior chamber)과 함께 면역 무방비 상태이고 이식된 조직에 적절한 혈액 공급이 가능하기 때문에 기관과 조직 발생에 주로 이용되어 왔다. 하지만 발생된 치아가 정상적으로 기능하기 위해서는 법랑질, 상아질, 백악질, 치수 등의 치아 자체뿐 아니라 치주인대를 포함한 치주조직이 갖추어져야 한다. 따라서, 임상적으로 더 큰 의미를 지니려면 악골에 이식된 치아 원기가 정상적인 치아와 치주조직을 갖추면서 발생하는 것을 보여주어야 할 것이다.

지금까지의 내용을 종합해보면 생체치아 생성을 위해 줄기세포가 임상적으로 활용되기 위해서는 상피줄기세포와 중간엽줄기세포 모두 사람의 성체줄기세포를 이용해야 한다. 그러면서 상피줄기세포와 중간엽줄기세포 둘 중 하나는 유도 능력을 지녀야 한다. 하지만 불행하게도 성체줄기세포는 치아발생을 일으키는데 필요한 유도능력을 지니고 있지 못하는 것으로 보인다. 이는

생체치아 생성에 성공한 연구들에서 상피줄기세포와 중간엽줄기세포 둘 중 하나는 꼭 배아기 줄기세포를 이용했다는 사실에 근거하여 알 수 있다. 이러한 요구조건을 만족시키기 위한 해결책으로서 세포 재프로그래밍(Cell reprogramming)이 사용될 수 있다. 즉, 성체줄기세포에 몇 가지 요소를 첨가함으로써 치아발생을 일으키는데 필요한 유도능력을 갖추도록 재프로그래밍하는 것이다. 최근의 연구에서 체세포에 3-4가지 요소를 첨가하여 배아기 줄기세포 유사한 세포로 변환에 성공하였고<sup>102, 103</sup> 이는 세포를 조작하여 다능성의(pluripotent) 줄기세포로 변환하는 것에 가능성을 열어주었다. 이것이 가능해진다면 Volponi<sup>51</sup>의 연구에서 반응성인 상피줄기세포는 성인의 잇몸 상피세포를 이용하고, 유도성인 중간엽줄기세포는 성인의 DPSC이나 BMSC를 세포 재프로그래밍을 거쳐 얻은 다음 이 둘을 재조합하여 생체치아를 발생시킬 수 있을 것이다.

앞에서 언급하였듯이 법랑질모세포나 법랑질모세포 전구체와 같은 치성 상피세포가 치아가 맹출한 이후에는 남아있지 않기 때문에 상피줄기세포는 비치성 상피줄기세포를 이용할 수 밖에 없다. 이상적인 상피줄기세포의 조건으로는 쉽게 접근이 가능하고, 성인의 몸에서 채득이 가능해야 하며, 분리된 세포가 법랑질을 생산할 수 있어야 한다. 그렇다면 세포 재프로그래밍을 통해 상피줄기세포와 중간엽줄기세포 둘 중 하나에 유도성을 부여할 때, 비치성 상피줄기세포 보다는 치성 중간엽줄기세포에 유도성을 부여하는 것이 생체치아를 성공적으로 생성하는데 더 가능성이 높은 접근 방법이라고 생각된다.

## 7. 결론

지난 십여년간 줄기세포를 이용하여 생체치아 생성에 관한 많은 연구가 이루어졌지만, 대부분의 연구가 배아기 줄기세포를 이용한 것이라 임상적으로 사용되기에는 많은 한계를 가지고 있었다. 최근 들어 성체 줄기세포를 이용하여 생체치아 생성에 성공한 연구들이 발표되고 있다. 하지만, 이러한 연구들도 상피줄기세포와 중간엽줄기세포 둘 중에 하나는 성체 줄기세포를 이용했지만 다른 하나는 배아기 줄기세포를 이용하였다. 이는 생체치아 발생을 위해서는 상피줄기세포와 중간엽줄기세포 둘 중에 하나는 유도성을 지녀야 하는데 성체줄기세포는 치아발생을 일으키는데 필요한 유도능력을 지니고 있지 못하기 때문이다. 이를 해결하기 위한 방법으로 세포 재프로그래밍을 통해 성체줄기세포에 몇 가지 요소를 첨가함으로써 치아발생을 일으키는데 필요한 유도능력을 갖추도록 하는 시도가 이루어져야 할 것이다. 이에 성공한다면 상피줄기세포와 중간엽줄기세포 둘 다 성체 줄기세포를 이용하고 둘 중에 하나에 세포 재프로그래밍을 통해 치아 발생에 필요한 유도성을 지니도록 하여 생체치아를 발생시킬 수 있을 것이다.

하지만, 이러한 문제가 해결된다고 하더라도 몇 가지 중요한 문제가 남아 있다. 우선, 생성된 생체치아가 주어진 치아상실 부위의 크기에 적합한 크기를 지니도록 발생시킬 수 있는지, 그리고 기능적인 교합평면에 도달할 때까지 생체치아가 완전히 맹출될 수 있는지 등에 대한 문제 또한 해결되어야 할 것이다.

결국 줄기세포를 이용하여 치아를 생성하는 것은 아직 해결해야 할 부분이 많이 남아 있어 임상적으로 이용되기에는 아직

많은 시간과 노력이 필요할 것으로 보인다. 그 전까지는 치아와 치주조직을 이루고 있는 여러 구조 중 일부가 여러 가지 원인으로 인해 손상되었을 때 손상된 부위를 재생시키기 위한 치료법으로써 줄기세포를 이용한 방법이 사용될 수 있을 것이다.

## 참고 문헌

1. 대한구강해부학회 역, 구강조직학 6판, 2005, pp.101-105.
2. Bluteau G, Luder H-U, De Bari C, Mitsiadis T. A. (2008). Stem Cells for Tooth Engineering. *European Cells and Materials* 16:1-9.
3. Amar S, Luo W, Snead ML, Ruch JV (1989) Amelogenin gene expression in mouse incisor heterotopic recombinations. *Differentiation* 41:56-61.
4. Yoshiba K, Yoshiba N, Aberdam D, Meneguzzi G, Perrin-Schmitt F, Stoetzel C, Ruch JV, Lesot H (1998) Expression and localization of laminin-5 subunits during mouse tooth development. *Dev Dyn* 211: 164-176.
5. Duailibi MT, Duailibi SE, Young CS, Bartlett JD, Vacanti JP, Yelick PC (2004) Bioengineered teeth from cultured rat tooth bud cells. *J Dent Res* 83:523-528.
6. Honda MJ, Shimodaira T, Ogaeri T, Shinohara Y, Hata K, Ueda M (2006) A novel culture system for porcine odontogenic epithelial cells using a feeder layer. *Arch Oral Biol* 51: 282-290.
7. Honda MJ, Shinohara Y, Hata KI, Ueda M (2007a) Subcultured odontogenic epithelial cells in combination with dental mesenchymal cells produce enamel-dentin-like complex structures. *Cell Transplant* 16: 833-847.

8. Honda MJ, Tsuchiya S, Sumita Y, Sagara H, Ueda M (2007b) The sequential seeding of epithelial and mesenchymal cells for tissue-engineered tooth regeneration. *Biomaterials* 28: 80–689.
9. Hu B, Nadiri A, Kuchler-Bopp S, Perrin-Schmitt F, Peters H, Lesot H (2006) Tissue engineering of tooth crown, root, and periodontium. *Tissue Eng* 12: 2069–2075.
10. Robey PG (2005) Post-natal stem cells for dental and craniofacial repair. *Oral Biosci Med* 2: 83–90.
11. Young CS, Terada S, Vacanti JP, Honda M, Bartlett JD, Yelick PC (2002) Tissue engineering of complex tooth structures on biodegradable polymer scaffolds. *J Dent Res* 81: 695–700.
12. Nakao K, Morita R, Saji Y, Ishida K, Tomita Y, Ogawa M, Saitoh M, Tomooka Y, Tsuji T (2007) The development of a bioengineered organ germ method. *Nat Methods* 4: 227–230.
13. Prockop DJ (1997) Marrow stromal cells as stem cells for nonhematopoietic tissues. *Science* 276: 71–74.
14. Friedenstein AJ, Gorskaja JF, Kulagina NN (1976). Fibroblast precursors in normal and irradiated mouse hematopoietic organs. *Exp Hematol* 4:267–274.
15. Caplan AI (1991). Mesenchymal stem cells. *J Orthop Res* 9:641–650.
16. Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, Jaiswal RK, Douglas R, Mosca JD, *et al.* (1999). Multilineage potential of adult



- human mesenchymal stem cells. *Science* 284:143–147.
17. Gronthos S, Zannettino AC, Hay SJ, Shi S, Graves SE, Kortesidis A, *et al.* (2003). Molecular and cellular characterisation of highly purified stromal stem cells derived from human bone marrow. *J Cell Sci* 116: 1827–1835.
  18. Mareschi K, Biasin E, Piacibello W, Aglietta M, Madon E, Fagioli F (2001). Isolation of human mesenchymal stem cells: bone marrow versus umbilical cord blood. *Haematologica* 86:1099–1100.
  19. Zuk PA, Zhu M, Mizuno H, Huang J, Futrell JW, Katz AJ, *et al.* (2001). Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cellbased therapies. *Tissue Eng* 7:211–228.
  20. Gronthos S, Mankani M, Brahimi J, Robey PG, Shi S (2000). Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) in vitro and in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA* 97:13625–13630.
  21. Miura, M. *et al.* (2003) SHED: stem cells from human exfoliated deciduous teeth. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 100, 5807–5812
  22. Seo, B.M. *et al.* (2004) Investigation of multipotent postnatal stem cells from human periodontal ligament. *Lancet* 364, 149–155
  23. Sonoyama W, Liu Y, Fang D, Yamaza T, Seo BM, Zhang C, *et al.* (2006). Mesenchymal stem cell-mediated functional tooth regeneration in Swine. *PLoS* 1:e79.

24. Sonoyama W, Liu Y, Yamaza T, Tuan RS, Wang S, Shi S, *et al.* (2008). Characterization of the apical papilla and its residing stem cells from human immature permanent teeth: a pilot study. *J Endod* 34:166–171.
25. Morsczeck C, Gotz W, Schierholz J, Zeilhofer F, Kuhn U, Mohl C, *et al.* (2005). Isolation of precursor cells (PCs) from human dental follicle of wisdom teeth. *Matrix Biol* 24:155–165.
26. Smith, A.J. *et al.* (1995) Reactionary dentinogenesis. *Int. J. Dev. Biol.* 39, 273–280
27. Smith, A.J. and Lesot, H. (2001) Induction and regulation of crown dentinogenesis: embryonic events as a template for dental tissue repair? *Crit. Rev. Oral Biol. Med.* 12, 425–437
28. Alliot-Licht B, Bluteau G, Magne D, Lopez-Cazaux S, Lieubeau B, Daculsi G, Guicheux J (2005) Dexamethasone stimulates differentiation of odontoblast-like cells in human dental pulp cultures. *Cell Tissue Res* 321:391–400.
29. Tsukamoto Y, Fukutani S, Shin-Ike T, Kubota T, Sato S, Suzuki Y, *et al.* (1992). Mineralized nodule formation by cultures of human dental pulp-derived fibroblasts. *Arch Oral Biol* 37:1045–1055.
30. About I, Bottero MJ, de Denato P, Camps J, Franquin JC, Mitsiadis TA (2000). Human dentin production in vitro. *Exp Cell Res* 258:33–41.

31. Couble ML, Farges JC, Bleicher F, Perrat-Mabillon B, Boudeulle M, Magloire H (2000). Odontoblast differentiation of human dental pulp cells in explant cultures. *Calcif Tissue Int* 66:129–138.
32. Batouli S, Miura M, Brahim J, Tsutsui TW, Fisher LW, Gronthos S, *et al.* (2003). Comparison of stem-cell-mediated osteogenesis and dentinogenesis. *J Dent Res* 82:976–981
33. Koyama, N. *et al.* (2009) Evaluation of pluripotency in human dental pulp cells. *J. Oral Maxillofac. Surg.* 67, 501–506
34. Yu, J. *et al.* (2010) Differentiation potential of STRO-1+ dental pulp stem cells changes during cell passaging. *BMC Cell Biol.* 8, 32
35. D' Aquino, R. *et al.* (2007) Human postnatal dental pulp cells codifferentiate into osteoblasts and endotheliocytes: a pivotal synergy leading to adult bone tissue formation. *Cell Death Differ.* 14, 1162– 1171
36. Graziano, A. *et al.* (2008) Dental pulp stem cells: a promising tool for bone regeneration. *Stem Cell Rev.* 4, 21–26
37. Gronthos, S. *et al.* (2002) Stem cell properties of human dental pulp stem cells. *J. Dent. Res.* 81, 531–535
38. Laino G, d' Aquino R, Graziano A, Lanza V, Carinci F, Naro F, *et al.* (2005). A new population of human adult dental pulp

- stem cells: a useful source of living autologous fibrous bone tissue (LAB). *J Bone Miner Res* 20:1394–1402.
39. Zhang W, Walboomers XF, Shi S, Fan M, Jansen JA (2006). Multilineage differentiation potential of stem cells derived from human dental pulp after cryopreservation. *Tissue Eng* 12:2813–2823.
40. Arthur, A. et al. (2008) Adult human dental pulp stem cells differentiate toward functionally active neurons under appropriate environmental cues. *Stem Cells* 26, 1787–1795.
41. Arthur, A. et al. (2009) Implanted adult human dental pulp stem cells induce endogenous axon guidance. *Stem Cells* S27, 2229–2237.
42. Yalvac, M.E. et al. (2009) Potential role of dental stem cells in the cellular therapy of cerebral ischemia. *Curr. Pharm. Des.* 15, 3908– 3916.
43. Carinci F, Papaccio G, Laino G, Palmieri A, Brunelli G, D' Aquino R, *et al.* (2008). Comparison between genetic portraits of osteoblasts derived from primary cultures and osteoblasts obtained from human pulpar stem cells. *J Craniofac Surg* 19:616–625.
44. Shi, S. et al. (2005) The efficacy of mesenchymal stem cells to regenerate and repair dental structures. *Orthod. Craniofac. Res.* 8, 191–199
45. Sakai, V.T. et al. (2010) SHED differentiate into functional

- odontoblasts and endothelium. *J. Dent. Res.* 89, 791–796
46. Cordeiro MM, Dong Z, Kaneko T, Zhang Z, Miyazawa M, Shi S, *et al.* (2008). Dental pulp tissue engineering with stem cells from exfoliated deciduous teeth. *J Endod* 34:962–969.
47. Wang, J. *et al.* (2010) Stem cells from human exfoliated deciduous teeth can differentiate into dopaminergic neuron-like cells. *Stem Cells Dev.* 19, 1375–1383
48. Kerkis I, Kerkis A, Dozortsev D, Stukart–Parsons GC, Gomes Massironi SM, Pereira LV, *et al.* (2006). 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: 105–116.
49. Seo, B.M. *et al.* (2008) SHED repair critical–size calvarial defects in mice. *Oral Dis.* 14, 428–434.
50. Huang GT, Gronthos S, Shi S (2009). Mesenchymal stem cells derived from dental tissues vs. those from other sources\_ their biology and role in regenerative medicine. *J DENT RES* 2009 88: 792.
51. Volponi AA, Pang Y, Sharpe PT (2010) Stem cell–based biological tooth repair and regeneration. *Trends Cell Biol* 20: 715–722.
52. Nakamura, S. *et al.* (2009) Stem cell proliferation pathways comparison between human exfoliated deciduous teeth and dental pulp stem cells by gene expression profile from promising dental pulp. *J. Endod.* 35, 1536–1542.

53. McCulloch CA, Bordin S (1991). Role of fibroblast subpopulations in periodontal physiology and pathology. *J Periodontol* 26(3 Pt 1):144–154.
54. Isaka J, Ohazama A, Kobayashi M, Nagashima C, Takiguchi T, Kawasaki H, *et al.* (2001). Participation of periodontal ligament cells with regeneration of alveolar bone. *J Periodontol* 72:314–323.
55. Gay I, Chen S, MacDougall M (2007). Isolation and characterization of multipotent human periodontal ligament stem cells. *Orthod Craniofac Res* 10:149–160.
56. Lindroos B, Maenpaa K, Ylikomi T, Oja H, Suuronen R, Miettinen S (2008). Characterisation of human dental stem cells and buccal mucosa fibroblasts. *Biochem Biophys Res Commun* 368:329–335.
57. Xu J, Wang W, Kapila Y, Lotz J, Kapila S (2009). Multiple differentiation capacity of STRO-1+/CD146+ PDL mesenchymal progenitor cells. *Stem Cells Dev* 18:487–496.
58. Huang GT, Sonoyama W, Liu Y, Liu H, Wang S, Shi S (2008). The hidden treasure in apical papilla: the potential role in pulp/dentin regeneration and bioroot engineering. *J Endod* 34:645–651.
59. Abe S, Yamaguchi S, Amagasa T (2007). Multilineage cells from apical pulp of human tooth with immature apex. *Oral Sci Int* 4:45–58.
60. Morsczeck C, Gotz W, Schierholz J, Zeilhofer F, Kuhn U,

- Mohl C, *et al.* (2005). Isolation of precursor cells (PCs) from human dental follicle of wisdom teeth. *Matrix Biol* 24:155–165.
61. Handa, K. *et al.* (2002) Progenitor cells from dental follicle are able to form cementum matrix *in vivo*. *Connect. Tissue Res.* 43, 406–408.
62. Handa, K. *et al.* (2002) Cementum matrix formation *in vivo* by cultured dental follicle cells. *Bone* 31, 606–611.
63. Lin, N.H. *et al.* (2008) Stem cells and periodontal regeneration. *Aust. Dent. J.* 53, 108–121.
64. Colter DC, Class R, DiGirolamo CM, Prockop DJ (2000). Rapid expansion of recycling stem cells in cultures of plastic–adherent cells from human bone marrow. *Proc Natl Acad Sci USA* 97:3213–3218.
65. Gronthos S, Zannettino AC, Graves SE, Ohta S, Hay SJ, Simmons PJ (1999). Differential cell surface expression of the STRO–1 and alkaline phosphatase antigens on discrete developmental stages in primary cultures of human bone cells. *J Bone Miner Res* 14:47–56.
66. Stewart K, Walsh S, Screen J, Jefferiss CM, Chainey J, Jordan GR, *et al.* (1999). Further characterization of cells expressing STRO–1 in cultures of adult human bone marrow stromal cells. *J Bone Miner Res* 14:1345–1356.
67. Ferrari G, Cusella–De Angelis G, Coletta M, Paolucci E, Stornaiuolo A, Cossu G, *et al.* (1998). Muscle regeneration

- by bone marrow-derived myogenic progenitors. *Science* 279:1528–1530; *erratum* in *Science* 281:923, 1998.
- 68.Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, Bodine DM, Leri A, Anversa P (2001). Transplanted adult bone marrow cells repair myocardial infarcts in mice. *Ann NY Acad Sci* 938:221–229.
- 69.Barbash IM, Chouraqui P, Baron J, Feinberg MS, Etzion S, Tessone A, *et al.* (2003). Systemic delivery of bone marrow-derived mesenchymal stem cells to the infarcted myocardium: feasibility, cell migration, and body distribution. *Circulation* 108:863–868.
- 70.Gojo S, Gojo N, Takeda Y, Mori T, Abe H, Kyo S, *et al.* (2003). In vivo cardiovascularogenesis by direct injection of isolated adult mesenchymal stem cells. *Exp Cell Res* 288:51–59.
- 71.Segers VF, Lee RT (2008). Stem-cell therapy for cardiac disease. *Nature* 451:937–942.
- 72.Chen X, Armstrong MA, Li G (2006). Mesenchymal stem cells in immunoregulation. *Immunol Cell Biol* 84:413–421.
- 73.Kopen GC, Prockop DJ, Phinney DG (1999). Marrow stromal cells migrate throughout forebrain and cerebellum, and they differentiate into astrocytes after injection into neonatal mouse brains. *Proc Natl Acad Sci USA* 96:10711–10716.
- 74.Woodbury D, Schwarz EJ, Prockop DJ, Black IB (2000). Adult rat and human bone marrow stromal cells differentiate into neurons. *J Neurosci Res* 61:364–370.



75. Raedt R, Pinxteren J, Van Dycke A, Waeytens A, Craeye D, Timmermans F, *et al.* (2007). Differentiation assays of bone marrow-derived Multipotent Adult Progenitor Cell (MAPC)-like cells towards neural cells cannot depend on morphology and a limited set of neural markers. *Exp Neurol* 203:542–554.
76. Song S, Song S, Zhang H, Cuevas J, Sanchez-Ramos J (2007). Comparison of neuron-like cells derived from bone marrow stem cells to those differentiated from adult brain neural stem cells. *Stem Cells Dev* 16:747–756.
77. Yu J, Wang Y, Deng Z, Tang L, Li Y, Shi J, Jin Y (2007) Odontogenic capability: bone marrow stromal stem cells versus dental pulp stem cells. *Biol Cell* 99: 465–474.
78. Musina RA, Bekchanova ES, Sukhikh GT (2005) Comparison of mesenchymal stem cells obtained from different human tissues. *Bull Exp Biol Med* 139: 504–509.
79. Ohazama A, Modino SA, Miletich I, Sharpe PT (2004). Stem-cell-based tissue engineering of murine teeth. *J Dent Res* 83:518–522
80. Harada H, Kettunen P, Jung HS, Mustonen T, Wang YA, Thesleff I (1999) Localization of putative stem cells in dental epithelium and their association with Notch and FGF signaling. *J Cell Biol* **147**: 105–120.
81. Kawano S, Saito M, Handa K, Morotomi T, Toyono T, Seta Y, Nakamura N, Uchida T, Toyoshima K, Ohishi M, Harada H

- (2004) Characterization of dental epithelial progenitor cells derived from cervical-loop epithelium in a rat lower incisor. *J Dent Res* **83**: 129–133.
82. Mitsiadis TA, Hirsinger E, Lendahl U, Goridis C (1998) Delta-notch signaling in odontogenesis: correlation with cytodifferentiation and evidence for feedback regulation. *Dev Biol* **204**: 420–431.
83. Mitsiadis TA, Barrandon O, Rochat A, Barrandon Y, De Bari C (2007) Stem cell niches in mammals. *Exp Cell Res* **313**: 3377–3385.
84. Smith CE, Warshawsky H (1975) Cellular renewal in the enamel organ and the odontoblast layer of the rat incisor as followed by radioautography using <sup>3</sup>H-thymidine. *Anat Rec* **183**: 523–561.
85. Volponi A, Angelova, Kawasaki M, and Sharpe P.T. (2013). Adult Human Gingival Epithelial Cells as a Source for Whole-tooth Bioengineering. *J DENT RES* **92**(4):329–34.
86. Nakagawa E, Itoh T, Yoshie H, Satokata I (2009). Odontogenic potential of post-natal oral mucosal epithelium. *J Dent Res* **88**:219–223.
87. Takahashi C, Yoshida H, Komine A, Nakao K, Tsuji T, Tomooka Y (2010). Newly established cell lines from mouse oral epithelium regenerate teeth when combined with dental mesenchyme. *In Vitro Cell Dev Biol Anim* **46**:457–468.
88. Hasegawa, M. et al. (2005) Human periodontal ligament cell

sheets can regenerate periodontal ligament tissue in an athymic rat model. *Tissue Eng.* 11, 469–478.

89. Huang, G.T. et al. (2010) Stem/Progenitor cell-mediated de novo regeneration of dental pulp with newly deposited continuous layer of dentin in an in vivo model. *Tissue Eng. Part A* 16, 605–615.
90. Honda, M.J. et al. (2009) Enamel tissue engineering using subcultured enamel organ epithelial cells in combination with dental pulp cells. *Cells Tissues Organs* 189, 261–267.
91. D' Aquino, R. et al. (2009) Human mandible bone defect repair by the grafting of dental pulp stem/progenitor cells and collagen sponge biocomplexes. *Eur. Cell Mater.* 18, 75–83.
92. Yamada Y, Ueda M, Hibi H, Baba S (2006). A novel approach to periodontal tissue regeneration with mesenchymal stem cells and platelet-rich plasma using tissue engineering technology: a clinical case report. *Int J Periodontics Restorative Dent* 26:363–369.
93. Selvig KA, Sorensen RG, Wozney JM, Wikesjo UM (2002). Bone repair following recombinant human bone morphogenetic protein-2 stimulated periodontal regeneration. *J Periodontol* 73:1020–1029.
94. Liu Y, Zheng Y, Ding G, Fang D, Zhang C, Bartold PM, et al. (2008). Periodontal ligament stem cell-mediated treatment for periodontitis in miniature swine. *Stem Cells* 26:1065–

1073.

95. Sharpe P.T, unpublished data
96. Grinnemo KH, Mansson A, Dellgren G, Klingberg D, Wardell E, Drvota V, *et al.* (2004). Xenoreactivity and engraftment of human mesenchymal stem cells transplanted into infarcted rat myocardium. *J Thorac Cardiovasc Surg* 127:1293–1300.
97. Mina M, Kollar EJ (1987). The induction of odontogenesis in non-dental mesenchyme combined with early murine mandibular arch epithelium. *Arch Oral Biol* 32:123–127.
98. Lumsden AG (1988). Spatial organization of the epithelium and the role of neural crest cells in the initiation of the mammalian tooth germ. *Development* 103(Suppl):155–169.
99. Tucker A, Sharpe P (2004). The cutting-edge of mammalian development: how the embryo makes teeth. *Nat Rev* 5:499–508.
100. Hu B, Nadiri A, Bopp-Kuchler S, Perrin-Schmitt F, Wang S, Lesot H (2005). Dental epithelial histomorphogenesis in the mouse: positional information versus cell history. *Arch Oral Biol* 50:131–136.
101. Ikeda E, Morita R, Nakao K, Ishida K, Nakamura T, Takano-Yamamoto T, *et al.* (2009). Fully functional bioengineered tooth replacement as an organ replacement therapy. *Proc Natl Acad Sci USA* 106:13475–13480.
102. Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, Narita M, Ichisaka T,

Tomoda K, *et al.* (2007). Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell* 131:861–872.

103. Nakagawa M, Koyanagi M, Tanabe K, Takahashi K, Ichisaka T, Aoi T, *et al.* (2008). Generation of induced pluripotent stem cells without Myc from mouse and human fibroblasts. *Nat Biotechnol* 26:101–106.

## Abstract

# A review of stem cell mediated tooth regeneration

Kim Cheoljung

Department of Dentistry

The Graduate School

Seoul National University

Tooth develops as a result of interaction between oral epithelium and neural-crest-derived mesenchyme. Over the last decade, many studies about biotooth development using stem cell have been conducted. However, their clinical value is limited because most of them used embryonic stem cell. Recently some studies published their success in biotooth development using adult stem cell. But they also used embryonic stem cell as a source of epithelial stem cell or mesenchymal stem cell. Moreover they used cell from mice as a source of at least one of epithelial stem cell or mesenchymal stem cell. It has limited clinical value because biotooth made from mice cell cannot be implanted in human body.

To make biotooth development using stem cell became reality, both epithelial stem cell and mesenchymal stem cell should be obtained from adult human. And one of epithelial stem cell and mesenchymal stem cell should have inductive capability.

As a possible approach, cell reprogramming can be used. By introducing several factors to adult cell, they can have the ability to induce tooth development.

**Keywords:** stem cell, bio-tooth, tooth regeneration, cell reprogramming

**Student Number:** 2010-22445