과잉치로부터 줄기세포의 분리 배양

원광대학교 치과대학 소아치과학교실

안소연

줄기세포는 미분화 상태의 세포로 지속적인 자가 분열능과 특정 세포로 분화 할 수 있는 분화능을 지니고 있으며 이러한 특성으로 말미암아 난치병의 새로운 장을 열 것이라는 기대감을 얻고 있다. 즉, 세포이식 후 특정 세포로 분화 유도를 시켜 기존의 치료 방법으로는 치료가 되지 않았던 많은 의학적 난제들을 풀 수 있는 열쇠인 것이다. 치아는 평생에 걸쳐 발거되는 조직으로 치아줄기세포는 얻기가 비교적 쉬워서 다른 성체줄기세포들보다 더 높이 평가되고 있다. 과잉치는 전 세계 다양한 인종에서 발견되는 중요한 임상적 질환이다. 과잉치의 유병율은 관련 연구 보고서마다 다양하나 소아치과 의사들의 경우 임상에서 자주 과잉치를 발거하고 있다. 그러나, 현재까지 진행된 줄기세포 관련 연구들을 살펴보면 과잉치의 줄기세포에 관한 보고는 없으며, 이는 줄기세포로 이용 가능한 중요한 자원을 파기하고 있는 것은 아닌지 의문이 생긴다. 그러므로 본 연구는 과잉치에 포함된 세포가 줄기세포의 특징을 가지고 있는지를 밝혀내기 위해 진행되었다.

주요어: 치아 줄기세포, 과잉치, 유치, 치아 조직공학, 재생의학

(대한치과턱관절기능교합학회지 2009:25(2):191~200)

서 론

생명공학의 시대로 불리고 있는 지금 21세기에 줄기세포를 이용하는 재생의학(degenerative medicine)이 중요한 분야로 부각되고 있으며 지금까지 의학으로는 해결할 수 없었던 수많은 퇴행성 질환이나 장기이식만이 유일한 해결책으로 제시되었던 말기 장기부전 등의 난치병을 앓고 있는 환자들에게 희망을 안겨 줄 것으로 기대되고 있다.[1] 또한 심혈관계, 신경계, 혈액계, 유전병, 간질환, 내분비 질환, 골, 연골, 피부 질환 등 모든 의학 분야에서 획기적인 대안치료로 자리잡을 것으로 생각되고 있어 이에 대한 많은 연구들이 이루어지고 있으며, 많은 연구결과들이 보고되어 있다.[2-10]

이러한 재생의학의 중심에 서 있는 것이 줄기세포로서 줄기세포의 채취과정에서 발생할 수 있는 배아 파괴나 인간 복제의 위험성 등과 같은 많은 윤리적 문제를 내포하고 있어 금지해야 한다는 주장이 있는 반면,[11,12] 줄기세포의 연구에 치열한 경쟁이 이루어지는 것은 줄기세포가 가지는 특징으로 말미암아 세포대체치료 (cell replacement therapy)에 있어서 기대되는 치료효과와 그에 따른 경제적 가치가 무한할 것으로 생각되기 때문이다.[12,13,14]

이러한 줄기세포를 얻는 과정은 크게 두 가지

교신저자 : 안소연
원광대학교 치과대학 소아치과학교실, 경기도 군포시 산본동 1142, 435-040
Fax: +82-31-390-2777, E-mail: sue1111@freechal.com
원고접수일: 2009년 05월 10일, 원고수정일: 2009년 05월 30일, 원고채택일: 2009년 06월 25일

로 대별하여, 발생초기의 배반포(blastocyst)에서 얻어지는 배아 줄기세포와 발생과정이 끝난 성인 또는 태반에서 얻어지는 성체 줄기세포가 있다.[15] 2007년 노벨 생리-의학상은 배아줄기세포를 연구한 영국 카디프대학 마틴 에번스 (Martin J. Evans) 교수, 미국 노스캐롤라이나대학 마리오 카페키(Mario R. Capecchi) 교수, 미국 유타대학 올리버 스미시스 (Oliver Smithies) 교수에게 주어졌다. 마틴 에반스 교수는 1981년부터 쥐, 원숭이 배아줄기세포를 확립하였고,[16] 미국에서 근무하는 두 교수는 배아줄기세포에 특정 유전자를 집어넣거나 차단하는 gene targeting 기술을 고안하고, knock-out 생쥐를 만들었다.[12]1998년 미국 Geron사 지원으로 위스컨신대 제임스 톰슨(James S. Thomson)은 냉동 보관된 수정란으로부터 내세포괴를 분리, 배양하여 시험관 내에서 장기간에 걸쳐 성질을 안정화 한 인간 배아 줄기세포를 만들어 냈다.[17,18]

같은 시기에 태아와 성인 조직으로부터 분리한 성체줄기세포를 이용한 연구도 시작 되었다. 성체줄기세포는 배아줄기세포에 비해 윤리적인 논쟁에서 벗어날 수는 있지만 상대적으로 많은 양의 세포를 얻을 수 없는 단점을 지니고 있어 줄기세포로 이용 가능한 세포원을 다양한 조직으로부터 확보하여 미래에 이용 가능한 자원으로 보관하기 위한 많은 노력들이 이루어지고 있다.[19] 치아는 평생에 걸쳐 발거되는 조직으로 치아줄기세포는 얻기가 비교적 쉬워서 다른 성체 줄기세포들보다 더 높이 평가되고 있다. 최근까지 진행된 치아 줄기세포 연구들을 살펴보면 사랑니와 소구치, 유치에서 치수(pulp), 치주인대(periodontal ligament), 치낭(dental follicle), 발육중인 치근단(Apical papilla of developing roots) 등 다양한 줄기세포를 분리, 분화 시키고 세포를 조작하는 실험이 진행되고 있다. [20,21,22] 유치줄기세포 연구는 지난 2002년 Dr. Songtao Shi가 미 국립의료원에서 딸의 빠진 유치치수조직에서 건강하고, 재생력이 좋은 줄기세포를 최초로 발견한 이래로 본격화되었으며,[23]현재 탈락 유치에서 발견되는 줄기세포는 조골세포, 조연골세포 그리고 신경세포로 분화가 가능한 간엽세포들로서 추후 생체 재생 가능성이 매우 높다고 평가된다.[24]

과잉치는 전 세계 다양한 인종에서 발견되는 중요한 임상적 질환으로[25] 소아치과 의사들의 경우 임상에서 자주 과잉치를 발거하고 있다. 그러나, 현재까지 진행된 국내 줄기세포 관련 연구들을 살펴보면 과잉치의 줄기세포에 관한 보고는 없으며, 이는 줄기세포로 이용 가능한 중요한 자원을 파기하고 있는 것은 아닌지 하는 의문이 생긴다. 과잉치는 치낭 세포의 증식과 유전적인 소인이 연관되어 있다는 가설이 있지만 그 발생과정이 명백히 규명되지는 않았으며[26] 다양한 인종에 대한 연구 결과가 있어 그 유병율 또한 0.45%에서 2.2%까지 다양하게 보고되어 있다.[27] 정중과잉치의 경우 남아에서 여아에 비해 약 2:1 이 비율로 더 많이 발견되고 있으며 [28]상악전치부의 치근단 방사선 촬영이나 파노라마 촬영을 통해 매복되어 있는 것이 진단되는 경우가 흔하다.[29] 방추형 치관과 단근, 역위되어 있는 경우가 많고 대다수의 경우에서 치아맹출 장애, 영구치의 치간 이개나 치축의 회전과 경사, 인접치의 흡수나 발육성 치아 낭 등의 합병증을 일으킬 수 있다.[30]

연구재료 및 방법

1. 세포분리

신체 건강한 만 5~7세 남자 어린이 4명으로부터 과잉치 5개를 얻었으며 대조군으로 사용하기 위해 8개의 유치를 얻었다. 실험에 참여한 어린이들의 보호자로부터 동의서를 받았으며 국소마취 하에 발거하였다.(Fig. 1) 표면을 깨끗하게 세척한 후 멸균된 high speed hand piece를 이용하여 0.5~1.0mm 홈을 형성하고 치아를 쪼개서 barbed broach로 치수조직을 분리해낸다. (Fig. 2)

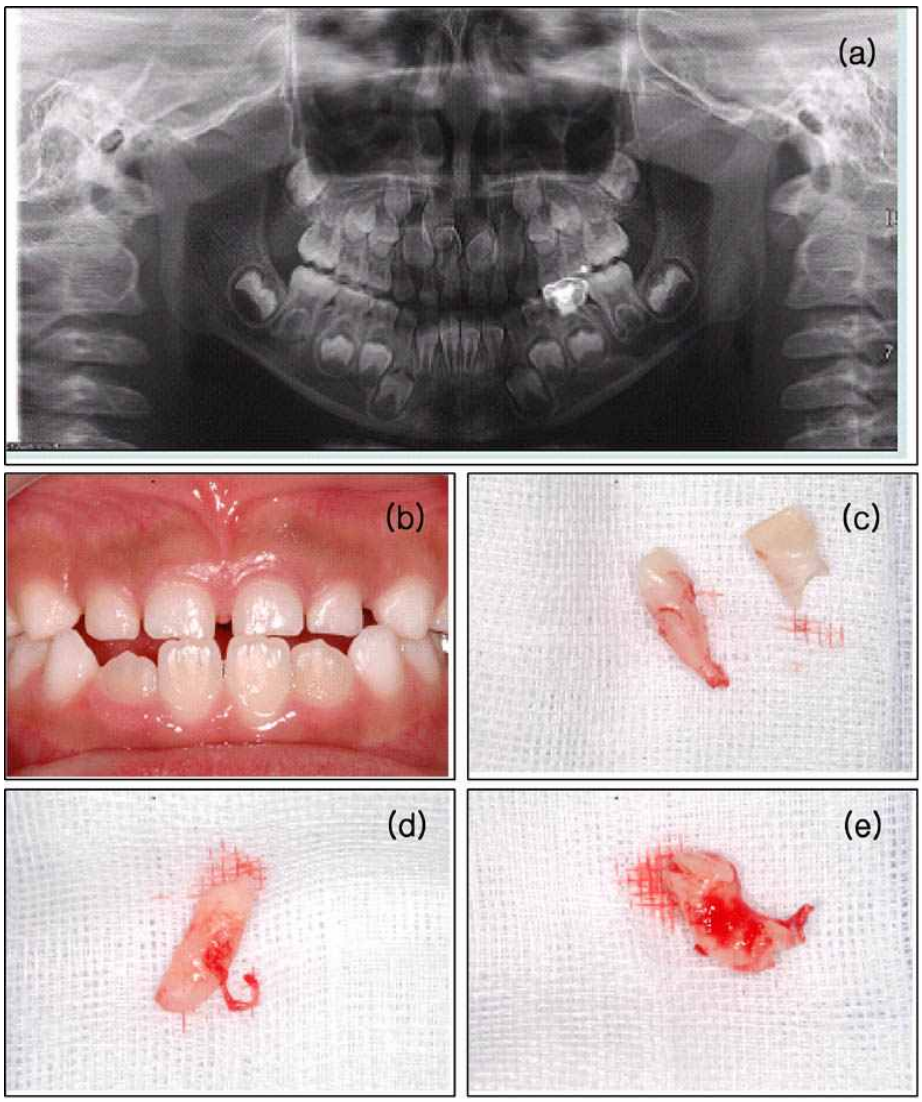


Fig. 1. some volunteer of experiments
a. Panoramic view: existence of two mesiodens between maxillary incisors
b. Mixed dentition
c. Extracted primary tooth (#51,61)
d. Extracted supernumerary tooth(open apex)
e. Extracted supernumerary tooth

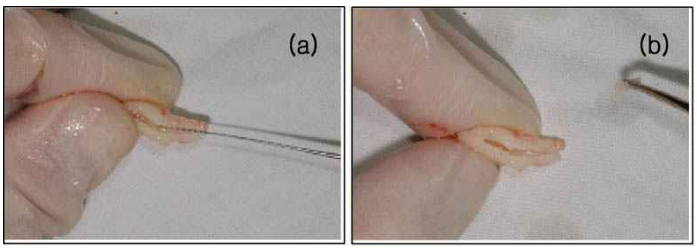


Fig. 2. Isolation of dental pulp tissues
The surfaces of both teeth were a groove of 0.5-1.0 mm deep was cut around the circumference of the teeth using a sterile high-speed hand pieces.
The dental pulps were exposed by splitting the teeth along the groove. The pulp tissues of both teeth were then extracted with barbed broaches.

2. 세포배양

Collagenase type I (3 mg/ml, Invitrogen)과 dispase(4 mg/ml, Invitrogen)을 37도에서 1시간 가량 처리하고, 40-lm cell strainer (Falcon, BD, Franklin Lakes, NJ,USA)로 여과하여 얻어진 단일 세포 부유물을 37도, 5% CO_2 DPSC medium (MCTT co., Korea)에 배양하였다. 2일 마다 신선한 배지로 교환하였고, 세포가 다 자라서 배양 용기에 80% 이상 차지하게 되면 Tripsin/EDTA를 처리하여 세포를 모으고 계대 배양을 실시하였다.

3. 세포 수 계측

1차배양한 세포의 1세대에서 얻어진 총 세포수를 확인하기 위하여 효소(Tripsin/EDTA, Invitrogen) 처리를 하여 세포를 모두 얻은 후 세포수 계측을 실시하였다. 세포수 계측은 Hemacytometer를 이용하였다.

4. 생존율 분석

세포의 생존율을 측정하기 위하여 60mm dish에 일정양의 세포를 접종하여 배양한 후 Trypan blue (Invitrogen) 염색을 실시하여 생존한 세포만을 계수하였다.

연구 결과

1. 세포분리(Table 1)

Table I. Isolation of tissues and dental pulp cells

Tissue		Isolation cell	First isolation method	Total cell numbers of 'from passage 0 to passage 1' at Stock day
Dental Pulp	Supernumerary tooth 1, deciduous tooth 1	DPSC	Seeding in the 60mm dishes 2EA	
	Supernumerary tooth 2 (Apex 1), deciduous tooth 1	DPSC	Seeding in the 60mm dishes 4EA	Apex - $4.5*10^8$ Deciduous tooth - $3*10^8$ Supernumerary tooth 2 - $1*10^6$

2. 세포배양

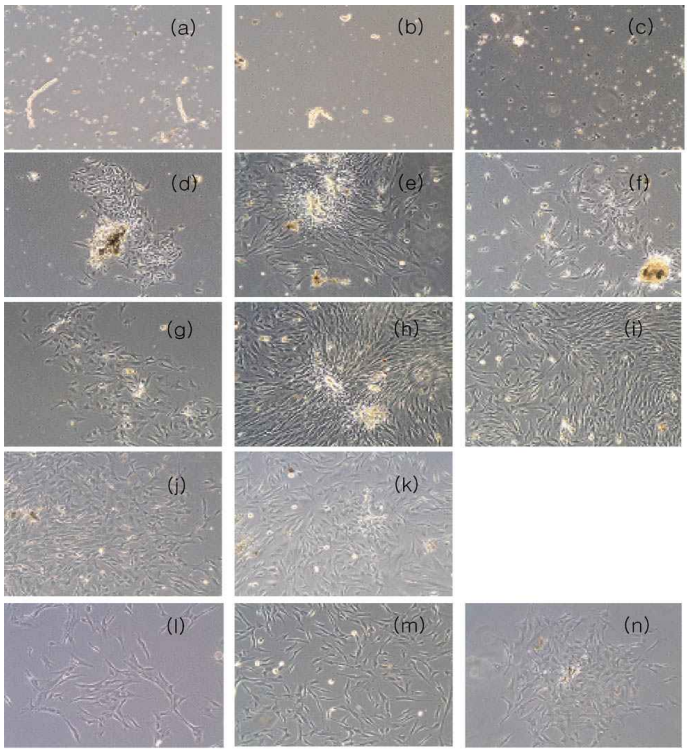


Fig. 3. Cultivation of cells
Dental pulp stem cells from both the mesiodens and deciduous tooth proliferated rapidly with spindle shape morphology. Because of finished the first stage of cell cultivation, no image of 8th days of cultivation of cell from supernumerary tooth's apex area,
a. 1days of cultivation of cell from supernumerary tooth
b. 1days of cultivation of cell from deciduous tooth
c. 1days of cultivation of cell from supernumerary tooth's apex area
d. 4days of cultivation of cell from supernumerary tooth
e. 4days of cultivation of cell from deciduous tooth
f. 4days of cultivation of cell from supernumerary tooth's apex area
g. 6days of cultivation of cell from supernumerary tooth
h. 6days of cultivation of cell from deciduous tooth
i. 6days of cultivation of cell from supernumerary tooth's apex area
j. 8days of cultivation of cell from supernumerary tooth
k. 8days of cultivation of cell from deciduous tooth
l. 2days of suceeding a generation of cell from supernumerary tooth
m. 2days of suceeding a generation of cell from deciduous tooth
n. 2days of suceeding a generation of cell from supernumerary tooth's apex area

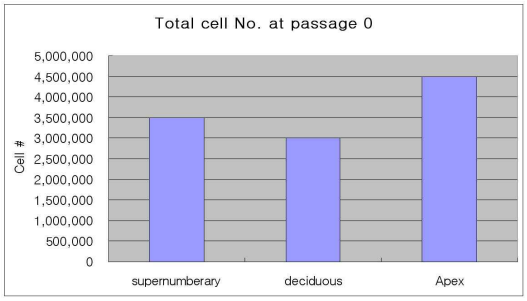


Fig. 4. Total cell number counting at passage 0 after the derivation

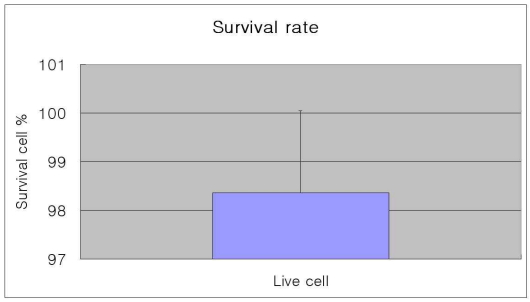


Fig. 5. Analysis of survival rate at passage 1 of supernumerary tooth cell.

3. 세포 수 계측

1차 배양 초기(Passage 0)에 얻어진 총세포수는 과잉치 3.5 * 10^6, 유치 3.0 * 10^6, 과잉치의 치근단 4.5 * 10^6으로 생존한 세포의 평균 크기는 13.7 ㎛였다. 조직으로부터 얻어진 초기 배양 세포는 과잉치 중 치근단이 형성 중인 치아에서 얻었던 치근단 세포는 다른 과잉치나 유치에서 얻었던 세포들에 비해 성장속도가 빨랐다 (Fig. 4).

4. 생존율 분석

60mm dish에 일정양의 세포수를 접종한 뒤 5일 후 Trypan blue 염색을 하여 살아있는 세포수만을 계수한 결과, 조직으로부터 분리된 과잉치와 유치 모두 세포사멸율이 매우 낮아서 생존율은 평균적으로 98~99 % 이었고, 성장속도(growth ratio)는 비슷한 양상을 나타내었다 (Table 2 and Fig. 5).

Table 2. Measurement of survival rate at derivated supernumerary tooth cell.

at passage 1	1st.	2nd.
Total cells #	$6.68*10^5$	$7.1*10^5$
Death Cells #	$2.63*10^2$	$2.0*10^4$
Live cell #	$6.65*10^5$	$6.9*10^5$

총괄 및 고찰

우리 몸은 몇 몇 특수 기관 및 세포를 제외하고 모두 같은 염색체로 이루어져 있다. 즉, 우리는 우리 아버지와 어머니로부터 받은 한 쌍의 염색체로 이루어져 있다. 이는 수정(fertilization)이란 작업을 통해 이루어지며, 수정을 통해 한 쌍이 된 염색체는 이 후 매우 복잡한 과정을 통해 배아를 거쳐 태어나게 된다. 수정 후 처음 발생 단계에서는 하나의 세포가 하나의 개체가 될 수 있는 능력을 갖고 있다. 일란성 쌍둥이가 생기는 원리가 그러하다. 2 세포기에서 나누어져서 각각 착상이 이루어지면 두 쌍둥이, 4 세포기에서 나누어지면 네 쌍둥이 이런 식이다. 하지만, 이후에 수정란이 발생과 분화를 거듭하면 각 세포는 자기의 운명이 결정되게 된다. 즉, 혈구가 될 세포는 혈구만 될 수 있으며, 신경세포가 될 운명의 세포는 신경 세포로만 분화될 수 있다. 이러한 과정을 분화결정이라고 하며 최종적으로 분화 결정된 세포는 유전자 재 프로그래밍 기법을 제외하고는 다른 세포 계열로 분화할 수가 없다. 이처럼 특정 세포로 분화할 수 있는 능력을 분화능(differentiation capacity)이라고 한다.[12,19,31]

앞서 서론에서도 언급하였듯이 줄기세포를 얻는 과정은 크게 두 가지로 대별하여, 발생초기의 배반포(blastocyst)에서 얻어지는 배아 줄기세포

와 발생과정이 끝난 성인 또는 태반에서 얻어지는 성체 줄기세포가 있다.[15] 하나의 줄기세포에서는 여러 종류의 관련된 각기 다른 세포가 분화되어 나오고 분화능에 따라 만능, 전능, 다능 세포 및 일반 세포로 나눌 수 있다. 만능 세포(totipotent cell)란 모든 계열로의 분화가 가능한 세포로 수정란 및 상실기까지의 배가 이에 해당한다. 전능 세포(pluripotent cell)란 포배 단계 정도의 세포를 말하며 거의 모든 세포로 분화 가능하다. 배아 줄기세포에는 만능 세포가 갖고 있는 한 가지 능력이 없는데, 그것은 바로 태반을 형성할 수 없기 때문에 그 자체가 배, 즉 태아를 이룰 수는 없다. 다능 세포(multipotent cell)는 일정한 계열의 세포로 분화 가능한 세포로 조혈모세포와 같은 것을 말한다. 만능과 전능의 경우는 오직 배 발생단계에서만 나타나는 데 반해, 다능 세포는 골수 같은 성체의 조직에도 존재하며, 이러한 세포를 성체 줄기세포라 부른다.[32] 1974년 Friedenstein에 의해 최초 보고된 중간엽 줄기세포(mesenchymal stem cell)는 섬유아 세포형태로 배양 접시에 붙어 자라고 군집 형성 능력을 지니며 계대 배양이 용이한 특징을 가진다. 주로 지방, 태반, 제대혈, 골수 등에 존재한다. [33,34]

줄기세포는 미분화 상태의 세포로 지속적인 자가 분열능(self-renewal)과 특정 세포로 분화 할 수 있는 분화능(differentiation capacity)을 지니고 있으며 이러한 특성으로 말미암아 난치병의 새로운 장을 열 것이라는 기대감을 얻고 있다. 즉, 세포이식 후 특정 세포로 분화 유도를 시켜 기존의 치료방법으로는 치료가 되지 않았던 많은 의학적 난제들을 풀 수 있는 열쇠라고 생각되어진다.[31,32,35,36]

최근 삼성경제 연구소는 줄기세포가 병의 근원을 치료하고 개인별 맞춤치료를 가능케 하므로 미래 의료산업의 패러다임을 대대적으로 전환시킬 것이라며 줄기세포 시장은 한 마디로 '의료산업의 금광'이라고 평가하였다.[11] 현재 배아 줄기세포의 연구 및 상업화 관련 규제 정책은 미국, 영국, 한국 등이 모두 비슷한 내용이며 국가별로 줄기세포 분야에 상당한 연구비를 지원하고 있는 실정이다. 다만 기술역량과 규제정책의 차이에 따라 미국과 한국은 성체 줄기세포, 영국은 배아 줄기세포, 일본은 역분화 줄기세포의 연구에 주력하는 상황이다. [37]

국내의 경우 1990년대 중 반 이후부터 제대혈과 관련된 제대혈 은행(banking)이 많이 설립되어 운영되고 있고 그와 관련한 치료 및 연구가 활발하게 진행되어 왔다. 제대혈에는 성인의 골수에 비해 혈액세포를 만들어 내는 조혈모세포가 더 많이 들어있기 때문에 제대혈은 골수 이식을 대신할 수 있는 조혈모세포의 공급원으로 중요한 역할을 하고 있다. 국내 제대혈 이식은 1998년 3월 이영호 한양대 병원 교수가 재발된 급성백혈병 환자에게 제대혈을 이식해 수술에 처음으로 성공하였고 2003년 1월 1일부터 보험인정을 받으면서 활성화됐다.[38,39] 2000년대에 들어 제대혈 이외의 성체 줄기세포의 연구에 많은 진척이 있었고 최근 세포은행에 많은 관심이 집중되고 있는 시점이다.[40]

치과영역에서 이루어진 기존 줄기세포 연구들은 주로 제 3 대구치나 소구치, 유치에서 얻어지는 세포들을 대상으로 진행되어 왔다. [41,42]소아치과 영역에서 빈번히 이루어지고 있는 소수술의 하나로 과잉치는 발거 후 감염성 폐기물로 분류되어 폐기되어진다. 과잉치가 유치나 영구치처럼 줄기세포를 얻을 수 있는 source로 활용될 수 있는지의 가능성 여부를 알아보고자 본 연구를 계획하였고, 연구결과 섬유아 세포형태로 배양 접시에 붙어 자라고 군집 형성 능력을 지니며 계대 배양이 용이한 줄기세포로써의 특징을 나타냈다. 연구기간이 짧아서 다양한 줄기세포 표지인자(cell marker)를 이용한 확인과 동물실험을 통한 세포 이식 후 조직학적인 관찰 등이 진행되지 못해 결과가 좀 부족한 부분이 있으나 과잉치와 유치로부터 줄기세포주를 확립하여 향후 여러 가지 실험을 진행할 수 있는 전초를 마련한 것에 큰 의미를 두고 연관된 후속 연구들이 진행된다면 치아 및 치조골 생성과 관련된 조직공학적인 영역에서 활용될 수 있을 것이라 생각된다.

결 론

본 연구는 과잉치에 포함된 세포가 줄기세포의 특징을 가지고 있는지를 밝혀내기 위해 진행되었고 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 과잉치와 유치에서 분리된 세포 모두가 섬유아 세포형태로 배양 접시에 붙어 자랐다.
2. 1세대에서 얻어진 총세포수는 과잉치 3.5 * 10^6, 유치 3.0 * 10^6, 과잉치의 치근단 4.5 * 10^6 이었다.
3. 생존한 세포의 평균 크기는 13.7㎛였다.
4. 과잉치와 유치 모두 생존율은 98~99%이었고, 성장속도(growth ratio)가 비슷하였다.
5. 과잉치 중 치근단이 형성 중인 치아에서 얻었던 치근단 세포는 다른 과잉치나 유치에서 얻었던 세포들에 비해 성장속도가 빨랐다.

이상의 결론으로부터 과잉치는 유치나 영구치처럼 줄기세포를 얻을 수 있는 source로 충분히 활용가능하며, 향후 연관된 후속 연구들로 진행된다면 치아 및 골 생성능과 관련된 조직공학적인 영역에서 활용될 수 있을 것이라 생각된다.

연구비 지원 및 사의

본 연구는 2007년도 원광대학교 교비 지원으로 이루어졌음

참 고 문 헌

1. Choi O H, Jang S K. Current status and concepts of stem cell therapy. *Korean J of Obs & Gyn* 2007; 50:569-573
2. Brazelton TR, Rossi FM, Keshet GI, Blau HM. From marrow to brain: expression of neuronal phenotypes in adult mice. *Science*, 2000;290:1775-1779
3. Clarke DL, Johansson CB, Wilbertz J, Veress B, Nilsson E, Karlstrom H, Lendahl U, Frisen J. Generalized potential of adult neural stem cells. *Science*, 2000 Jun 2;288(5471):1660-3.
4. Benya PD, Shaffer JD. Dedifferentiated chondrocytes reexpress the differentiated collagen phenotype when cultured in agarose gels. *Cell* , 1982;30: 215-224
5. Yaeger PC, Masi TL, de Ortiz JL, Binette F, Tubo R, McPherson JM. Synergistic action of transforming growth factor-beta and insulin-like growth factor-I induces expression of type II collagen and aggrecan genes in adult human articular chondrocytes. *Exp Cell Res.*, 1997;237: 318-325.
6. Hofstetter CP, Schwarz EJ, Hess D, Widenfalk J, El Manira A, Prockop DJ, Olson L. Marrow stromal cells form guiding strands in the injured spinal cord and promote recovery. *Proc Natl Acad Sci* USA, 2002;99: 2199-2204.
7. Kocher AA, Schuster MD, Szabolcs MJ, Takuma S, Burkhoff D, WangJ, Homma S, Edwards NM, Itescu S. Neovascularization of ischemic myocardium by human bone-marrow-derived angioblasts prevents cardiomyocyte apoptosis, reduces remodeling and improves cardiac function.*Nat Med*, 2001;7: 430-436.
8. Yannas IV, Burke JF.Design of an artificial skin. I. Basic design principles. *J Biomed Mater Res.*, 1980 Jan;14(1): 65-81.
9. Yannas IV, Burke JF, Gordon PL, Huang C, Rubenstein RH. Design of an artificial skin. II. Control of chemical composition. *J Biomed Mater Res.*, 1980 Mar;14(2): 107-132.
10. Zegzula HD, Buck DC, Brekke J, Wozney JM, Hollinger JO. Bone formation with use of rhBMP-2 (recombinant human bone morphogenetic protein-2). *J Bone Joint Surg Am.* 1997;79: 1778-1790.
11. 생명공학정책연구센터, 줄기세포, 2005
12. 생명공학정책연구센터, 2008년 주요국의 생명공학 정책동향, 2008.3
13. UK Stem Cell Initiative, Report and Recommendations of the UK Stem Cell Initiative, 2005.12
14. Ballini A, De Frenza G, Cantore S, Papa F, Grano M, Mastrangelo F, Tetè S, Grassi FR.,In vitro stem cell cultures from human dental pulp and periodontal ligament: new prospects in dentistry. Int J Immunopathol Pharmacol. 2007 Jan-Mar;20(1):9-16
15. 문신용 외 :(21세기 의학혁명) 줄기세포란 무엇인가?. 세포응용연구사업단, 2003
16. Evans, M. and Kaufman, M. Establishment in culture

of pluripotent cells from mouse embryos. *Nature* 1981;292: 154-156
17. Thomson, J.A., Itskovitz-Eldor, J., Shapiro, S.S., Walnitz, M.A., Swiergiel, J.J., Marshall, V.S., and Jones, J.M. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science* 1998;282: 1145-1147
18. Yu J, Thomson JA. Pluripotent stem cell lines.*Genes Dev.* 2008 Aug 1;22(15):1987-97
19. Langer R, Vacanti JP. *Tissue engineering. Science.*, 1998;260: 920-926
20. Gronthos S, Brahim J, Li W, Fisher LW, Cherman N, Boyde A, DenBesten P, Robey PG, Shi S. Stem cell properties of human dental pulp stem cells. *J Dent Res.* 2002 Aug;81(8):531-5
21. Seo BM, Miura M, Gronthos S, et al. Investigation of multipotent postnatal stem cell from human periodontal ligament. *Lancet* 2004; 364: 149-155
22. Yu J, Shi J, Jin Y. Current approaches and challenges in making a bio-tooth. *Tissue Eng* 2008; 14:307-319
23. Miura M, Gronthos S, Zhao M, et al . SHED: stem cells from human exfoliated deciduous teeth. *Proc Natl Acad Sci* USA 2003; 100: 5807–5812
24. Cordeiro MM, Dong Z, Kaneko T, et al. Dental pulp tissue engineering with stem cells from exfoliated deciduous teeth. *J Endod* 2008; 34: 962-969
25. Saddon R.P., Jhonston S.C., Smith P.B., Mesiodentes in twins: a case report and a review of the literature. *Int J Paediatr Dent.* 1997;7:177-184
26. Kim SG, Lee SH., Mesiodens: a clinical and radiogrphic study. *J of Dent Child.*, 2003;70:58-60
27. Leco Berrocal MI, Martín Morales JF, Martínez González JM. An observational study of the frequency of supernumerary teeth in a population of 2000 patients. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2007; 12: E134–8
28. Gallas MM, Garcia A., Retention of permanent incisors by mesiodens: a family affair. *Br Dent J.*, 2000;188:63-64
29. Von Arx T. Anterior maxillary supernumerary teeth: a clinical and radiogrphic study. *Aust Dent J.* 1992;37:189-195
30. Tyrologou S, Koch G, Kurol J., Location, complications and treatment a retrospective study of Mesiodentes in children. *Swed Dent J.* 2005;29:1-9
31. Reyes M, Varfaillie CM: Characterization of multipotent adult progenitor cells, a subpopulation of mesenchymal stem cells. Ann N Y Acad *Science* 2001;938:231-233
32. Hwang, W.S., Ryu, Y.J., Park, J.H., Evidence of a pluripotent human embryonic stem cell line derived from a cloned blastocysts *Science* 2004;303:1669-74
33. Väänänen HK.Mesenchymal stem cells. *Ann Med.* 2005;37(7):469-79
34. Castro-Malaspina H, Gay RE, Resnick G, Kapoor N, Meyers P, Chiarieri D. Characterisation of human bone marrow fibroblast colony-forming cells (CFU-F) and their progeny. *Blood* 1980; 56: 289–301.
35. Hwang, W.S., Roh, S.I., Lee, B.C., Schatten, G.,et al. Patient-specific embryonic stem cells derived from human SCNT blastocysts. *Science* 2005.;308:1777-1783
36. Hwang J H. Current concepts of stem cell therapy. *Korean J of Obs & Gyn* 2005; 48:7,14-23
37. 정교민: 줄기세포 연구의 주요국 정책 동향.보건산업기술동향,2008
38. Lazarus HM, Haynesworth SE, Gerson SL, Rosenthal NS, Caplan AI. Ex vivo expansion and subsequent infusion of human bone marrow-derived stromal progenitor cells (mesenchymal progenitor cells): Implications for therapeutic use. *Bone Marrow Transplant* 1995;16: 557-564
39. Wulf GG, Chapuy B, Trümper L.Mesenchymal stem cells from bone marrow. Phenotype, aspects of biology, and clinical perspectives. Med Klin (Munich). 2006 May 15;101(5):408-13
40. Perry BC, Zhou D, Wu X, et al. Collection, cryopreservation, and characterization of human dental pulp derived mesenchymal stem cells for banking and clinical use. *Tissue Eng* 2008; 14: 149-156
41. Gay I, Chen S, Macdougall M, Isolation and chracterization of multipotent human periodontal ligament stem cells. Orthod Craniofac Res 2007; 10: 149-160
42. Gronthos S, Mnakani M, Brahim J, Robey PG, Shi S. Postnatal human dental pulp stem cells(DPSCs) *in vitro* and *in vivo*. *Proc Natl Acad Sci*USA 2000;97:13625-13630

Isolation and Culture of Dental Pulp Stem Cells from a Supernumerary Tooth

So-youn An, DDS., MS.

Department of dentistry, Won-kwang University

Dental Pulp Stem Cells are superior to other types of adult stem cell. Because of teeth are easy to access and are extracted throughout life. A supernumerary tooth is an important clinical problem found in various populations of the world. The incidence of supernumerary teeth varies depending on the literature source. Pediatric dentists are routinely extracted them. However, no studies have been reported regarding Dental Pulp stem cells in a supernumerary tooth, and we failed to note that a valuable source of human stem cell. Herein, we tried to show that a supernumerary tooth contains cells that display the characteristic features of stem cells.

Key words: Degenerative medicine, Dental Pulp Stem Cell, Primary tooth, Supernumerary tooth, Tissue engineering

Correspondence to : So-youn An
Department of Pediatric dentistry, College of Dentistry, Won-kwang University
1142 San-bon Dong, Gun-po City, Kyung-gi Do 435-040, Korea
Fax: +82-31-390-2777
E-mail: sue1111@freechal.com
Received: May 10, 2009, Last Revision: May 30, 2009, Accepted: June 25, 2009