

## 줄기세포 및 조직공학을 이용한 치조골 재생 연구에 관한 고찰

전재윤, 박창주, 황경균

한양대학교 의과대학 치과학교실 구강악안면외과

### The alveolar bone regeneration using by stem cell and tissue engineering

Jae-Yun Jeon, Chang-Joo Park, Kyung-Gyun Hwang

Division of Oral and Maxillofacial Surgery, Department of Dentistry, College of Medicine, Hanyang University, Seoul, Korea

Regeneration of the oral and maxillofacial tissue has researched for years by dentist and scientist with difficult and challenge. The defect of oral and maxillofacial tissue caused by trauma, disease, infection, aging. For long time, the new materials and methods have developed and investigate to replace and regenerate the destructive tooth, periodontal tissue, jaw bone structure. During the last years, new stem cell, tissue engineering, bone biology, and molecular biologic knowledge has become useful for approaching to oral and maxillofacial tissue regeneration. And computer science and technology including three-dimensional image processing and printing has rapidly developed. The fusion technology with biology and engineering will provide the advance result for oral tissue regeneration. In this article, the author review and summarized the stem cell and tissue engineering in dental application. (JOURNAL OF DENTAL IMPLANT RESEARCH 2014;33(1):1-6)

**Key Words:** Stem cell, Tissue engineering, Regeneration, Fusion technology

### 서 론

구강 및 악안면 조직은 저작, 발음, 심미라는 역할을 수행하고, 이러한 기능들을 원활히 수행하기 위해서는 치아, 구강점막, 치조골, 악관절 및 악골 등의 여러 조직 및 장기들이 서로 조화를 이루어 활동을 해야 한다. 하지만, 구강 및 악안면 영역의 조직 및 장기는 일상생활 중에 다양한 위험 요소(감염, 종양, 외상, 질병, 노화 등)에 의한 손상 및 결손이 야기될 수 있다. 기존의 구강 및 악안면 영역의 결손에 관련된 기능회복의 방법은 다음과 같이 정리할 수 있다. 치아 우식에 의한 법랑질, 상아질 결손부위는 금속, 세라믹 또는 레진 등을 이용한 인레이 및 크라운의 형태의 보철물을 이용하여 회복되었고, 치수까지 진행된 치아 우식증은 신경치료를 시행하여 그 기능 회복 및 질병 진행을 억제하였다. 치아 우식증이 심하게 진행된 경우나, 진행된 치주질환은 해당치아의 발치를 시행하고, 소실된 치아는 크라운 또는 브릿지 형태의 일반적인 보철물 또는 치과 임플란트(dental implant)를 이용하여 그 기능을 회복하고 있다. 치아 소실과 치조골의

소실이 동시에 진행된 결손부위나 양성 및 악성 종양, 악안면 외상에 의해서 발생한 다양한 형태의 골 결손은 결손부의 크기에 따라서 간단한 골이식이나 혈행성 자가골이식 또는 연조직 이식을 동반하는 장시간에 걸친 수술 및 치료 기간이 필요하게 된다<sup>1)</sup>.

이에 본 연구는 구강악안면 영역의 결손부를 회복하기 위한 방법 중에서 기존의 방식과 현재 연구되고 있는 줄기세포를 이용한 결손 방법에 대해 알아보고자 한다.

### 기존 구강 및 악안면 영역의 결손의 기능적 회복 및 재건에 있어 한계

치아의 부분적 결손 및 치아 상실의 회복은 금속, 세라믹, 레진, 티타늄(임플란트) 등의 생체친화성의 재료로 조직을 대체하여 그 기능을 대신하고 있지만, 이러한 회복 재료들은 치아의 모든 기능을 완벽하게 재현하는 데에는 한계가 있다. 금속, 세라믹, 또는 레진 등을 이용한 일반적인 보철물의 경우, 구강 내에서 열전도율, 교합 용

Received March 11, 2014, Revised March 21, 2014, Accepted March 25, 2014.

©This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

교신저자: 황경균, 133-791, 서울시 성동구 왕십리로 222번지 한양대학교 의과대학 치과학교실 구강악안면외과

Correspondence to: Kyung-Gyun Hwang, Division of Oral and Maxillofacial Surgery, Department of Dentistry, College of Medicine, Hanyang University, 222 Wangsimni-ro, Seongdong-gu, Seoul 133-791, Korea. Tel: +82-2-2290-8676, Fax: +82-2-2290-8673, E-mail: hkg@hanyang.ac.kr

이 논문은 2013년도 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 연구임(NRF-2013R1A1A2009975).

력의 분산, 색상, 주변 치아와 생체적합성 등 여러 가지 측면에서 치아 상아질 및 법랑질과의 차이를 보이고, 보철물의 파절 또는 이차 우식증의 발생 등으로 일정 기간의 기능을 한 이후에는 교체를 해주어야 하고, 브릿지의 경우에는 주변의 정상치아를 삭제하는 등의 치료 및 예후에 있어 한계점이 있다. 이러한 단점을 해결하기 위해서 사용되고 있는 치과 임플란트를 이용한 구강기능회복의 경우에서 상당부분의 단점을 해결하였지만, 치아의 감각 기능을 회복할 수 없는 점과 임플란트 주위염과 같은 염증의 발생 시 인체 내의 면역 및 방어 기전이 부족해서 급속하게 염증이 진행되는 현상을 임상에서 많이 관찰할 수 있다.

치조골 및 악골의 결손은 골이식술(자가골, 인공골)을 시행하여 기능을 회복하고 있으나, 자가골이식은 공여부의 조직손실에 의한 기능상실도 동반하는 경우도 발생하고, 공여부의 양적 한계를 가지고 있다. 자가골을 대체할 수 있는 많은 인공골(동종골, 이종골, 합성골)들이 현재 임상에서 많이 사용되고 있지만, 인공골은 골재생을 직접 일으키기 보다는 골화세포가 기능할 수 있는 생체적 환경의 조성, 즉, 스캐폴드(Scaffold)의 역할이 주된 기능으로, 골재생을 위한 관련 세포와 이들 세포를 직접 간접 유도하는 신호전달물질 및 골재생을 조절하는 단백질(성장인자)의 인자들이 부족하다는 한계를 가지고 있다.

### 구강 및 악안면 조직 재생을 위한 조직공학적 접근

세포배양 기술, 생체재료의 합성기술 및 줄기세포의 분화기술의 발달은 1993년 Langer와 Vacanti가 소개한 조직공학적 재생의학을 점차 현실로 가능하게 하였다<sup>2,3)</sup>. 재생의학의 한 분야인 조직공학을 이용한 조직 재생의 기본 개념은 인체내의 장기 및 조직을 구성하는 기본 단위를 세포, 스캐폴드(Scaffold)<sup>4)</sup>, 성장인자(신호전달물질)를 생물학적인 방법과 공학적인 기술을 융합하여 결손된 조직의 형태학적 및 기능적인 재생을 이루고자 하는 것이다<sup>2,5)</sup>. 현재 재생의학분야는 여러 종류의 장기 및 조직을 인공적으로 제작해서 그 기능을 회복하게 하는 연구결과들이 많이 소개되고 있다<sup>6,7)</sup>. 치의학과 관련된 진보된 구강조직재생에 관한 조직공학적인 접근도 현재 많이 진행되고 있어 사람의 구강 및 치아 조직 재생 분야에 적용 가능성을 높이고 있지만, 여러 공학적, 생물학적 및 임상학적인 분야에서의 진보된 연구들이 아직 많이 필요한 상태이다<sup>8-10)</sup>. 기능적 구강조직의 재생은 부분 및 전체 치아의 재생뿐만 아니라 치조골 및 치주조직의 재생, 악골 및 측두하악관절 재생 등 광범위한 분야의 연구가 필요하다<sup>11)</sup>.

치의학 영역에서 치조골 재생연구는 임플란트에 대한 학문적 발전에 따른 임플란트를 위한 골이식 수술 및 재료에 관심과 연구가 활발해지면서 진행되기 시작했는데<sup>12)</sup>, 치조골재생을 위한 조직공학적 접근은 2000년대 초반부터 연구되기 시작되었다<sup>13-17)</sup>. 치조골 재생을 위한 연구는 골수유래 줄기세포 및 치아 관련 성체줄기세포들

을 조골세포로 분화시켜 진행되어 왔고, 몇몇 연구팀에서는 제한적 임상적용을 시도하기도 하였다<sup>10,18-21)</sup>.

### 줄기세포 및 조직공학을 이용한 인공치아 재생 연구

치의학 분야에서도 구강조직재생이라는 연구들이 활발하게 진행되고 있으며, 구강조직재생연구는 골 재생뿐 만 아니라, 구강점막, 상아질, 치수, 및 치주인대 등 다양한 분야에서 연구가 진행되고 있으며 최근에는 줄기세포를 이용하여 Bio-tooth 개발에 대한 연구는 점차 증가하고 있다<sup>15,22-25)</sup>. 치과 임플란트를 대체할 인공치아에 대한 연구는 줄기세포를 이용하여 치아와 유사한 구조물을 재생하는 분야에서 많이 진행되어 오고 있고, 최근 Ikeda 등은 기능적인 치아 재생실험을 mouse에서 진행하여 줄기세포를 이용한 인공치아의 형성과 구강 내로 맹출에 대한 보고를 하여 향후 Dental Implant를 대체할 수 있는 가능성을 제시하기도 하였다<sup>26,27)</sup>.

### 조직공학적 조직재생을 위한 줄기세포

인체조직의 재생을 위한 줄기세포는 미분화세포로 스스로 자기와 같은 미분화 세포로 재생할 수 있고, 피부, 신경, 골세포 등의 모든 종류의 세포로 분화할 수 있는 능력을 가진 세포이다. 이러한 줄기세포는 기원조직에 따라 배아줄기세포(embryonic stem cell), 성체 줄기세포(adult stem cell)와 유도 만능줄기세포(induced pluripotent stem cell)로 분류할 수 있다.

(1) 배아줄기 세포는 착상 전 후의 수정란이나 배아에서 분리된 줄기세포로 1981년 Evans 등이 생쥐의 배아에서 처음 분리한 후 많은 연구들이 진행되고 있다<sup>28)</sup>. 인간의 배아줄기세포는 1988년 처음 확립되어 연구되어지고 있고 있다<sup>29)</sup>. 배아줄기세포는 인체 내에 장기 및 조직을 구성하는 모든 세포로 분화가 가능한 능력을 가지고 있어 조직 및 장기의 재생에 있어서 무한한 가능성을 가진 분화능을 가지고 있지만, 현재 배아 줄기 세포의 확립에는 많은 양의 난자를 사용하여야 하고, 생성된 배아에서 줄기세포를 획득하는 과정에서 배아의 파괴 등 윤리적인 문제로 인해서 실제 임상에 사용하기에는 많은 한계점이 존재하는 것이 사실이다<sup>30,31)</sup>.

(2) 유도 만능줄기세포(induced pluripotent stem cell, iPS): 배아줄기세포와 간엽계 줄기세포(MSC) 등의 성체줄기세포가 발견된 이후 새로운 다분화능을 가진 세포를 찾기 위한 연구가 진행되어 왔다. 2006년 코토 대학의 Yamanaka 교수팀에 의해 생쥐의 성체세포인 피부세포에 4종류의 유전자(Oct3/4, KLF4, Sox2, c-Myc)만을 도입하여 만능분화능을 가진 세포를 만들어 내는데 성공하여, 이를 유도만능줄기세포 즉, iPS (induced pluripotent stem cell)이라 명명하였다. 이 후 Takahashi & Yamanaka는 Human dermal fibroblast (c-Myc, Oct4, Sox2, Klf4의 전사

인자를 이용)로부터 만능유도줄기세포 확립하였다<sup>32)</sup>. Okita & Yamanaka는 viral vector를 사용하지 않는 방법으로 mouse에서 효율이 낮기는 하지만, iPS를 확립하였다<sup>33)</sup>. 이 후 구강조직을 이용한 iPS cell 확립에 연구들이 진행되어 새로운 줄기세포의 공급원으로 연구가 진행되고 있다<sup>34-37)</sup>.

(3) 성체줄기세포는 조직 및 장기 주변에 존재하는 줄기세포로 조직의 손상 재생과정에서 작용하는 세포로 배아줄기세포나 유도 만능줄기세포에 비해서 분화능력은 떨어지지만, 인체내의 대부분의 조직 및 장기에서 얻을 수 있고, 확립 방법도 윤리적으로 많은 문제점이 존재하지 않아서 현재 많은 임상연구들이 진행되고 있다. 일반적으로 간엽줄기세포(Mesenchymal Stem Cell: MSC)로 명명되며, 인체 내에서는 혈액, 지방조직, 골수, 제대혈, 치아 주위 조직 등에서 다양하게 얻을 수 있다. 치조골 및 악골의 조직공학적 골재생에 있어서는 골수에서 추출된 성체줄기 세포에 대한 연구들이 진행되었고, 현재 제한적으로 상악동 골이식술 등에서 임상연구들에 대한 보고들이 있다<sup>20,38-40)</sup>.

(4) 구강조직과 관련된 성체 줄기세포의 연구: 치아 구조를 형성하고, 지지하는 주변 조직의 경우 염증 및 손상 등이 발생한 후 부분적인 조직의 재생이 되는 것을 관찰할 수 있는 데, 발치 후 공간이 골조직으로 재생되는 것, 이차 상아질의 생성, 치주질환의 치료 후에 관찰되는 것을 볼 때, 치아 및 주위 조직에도 성체줄기세포가 존재할 것으로 판단되고, 이러한 가설을 전제로 치아 및 주변 조직에서 유래되는 성체 줄기세포에 대한 많은 연구들이 진행되었다. 치아관련 성체줄기 세포 중에서 치수조직에서 발견된 줄기세포를 치수줄기세포(Adult dental pulp stem cells; DPSC)로 명명하며, 2000년도에 Gronthos 등에 의해서 연구 보고가 있는 후 많은 후속 연구들이 진행되고 있고, 상아질, 골, 및 신경세포로의 분화에 관한 연구들이 진행되고 있다. 2003년 Miura 등은 DPSC의 일종으로 탈락된 유치 주변 조직에서 여러 분화능을 가진 줄기세포를 확립하고 stem cells from human exfoliated deciduous teeth (SHED)로 명명하였는데 이는 치수줄기세포와 유사하지만, 또 다른 특징의 세포들도 포함하고 있을 것으로 연구들이 진행되고 있다. 2006년 Sonoyama, 2005년 Morzaczeck 등은 SCAP (Stem cells from the apical part of the papilla), DFSC (stem cell from the dental follicle) 치아의 발생과정에 관여하는 조직인 치근단조직의 papilla, dental follicle 등에서 분화능이 있는 줄기세포를 확립하여 보고하였다. 하지만, 이러한 조직은 발생과정에 존재하다가 치아의 발생이 마무리되는 시점에서는 사라지고, 얻을 수 있는 조직에도 양적인 한계가 존재하여 임상적인 사용에는 많은 한계를 가지고 있다. 치주질환의 치료 후 새로운 조직재생을 위해서 많은 연구들이 진행되었는데, GTR (Guided Tissue Regeneration), GBR (Guided Bone Regeneration)의 개념은 치주인대 주변의 조직 또는 치주인대 세포에 줄기세포와 유사한 분화능을 가진 세포가 존재할 가능성에 가설을 두고, 2004년 SEO 등이 PDLSC (Perio-

dontal ligament stem cells)를 확립하고 보고하였다<sup>41)</sup>. 앞에서 설명한 것과 유사하게 골수유래줄기세포는 장골, 비골, 척수 인체의 여러 부위에서 획득할 수 있는데 구강내의 치조골 골수에서 추출한 MSC로의 연구들도 다양하게 연구되고 있다<sup>42,43)</sup>. 치아관련 줄기세포의 경우는 치아 및 치주조직을 인체 내에서 제거할 때에만 확립할 수 있지만, 치조골에서 유래된 MSC는 간단한 치조골 수술에서 얻을 수 있어 그 임상적 유용성이 있다고 하겠다<sup>49)</sup>. 하지만, 이러한 치아 및 치아 주변 조직에서 유래된 성체줄기세포는 사용할 수 있는 줄기세포의 양과 줄기세포를 확립하기 위해서 기존의 치아관련 구조를 제거해야 하는 한계를 가고 있어, 적은 양의 조직으로 다량의 줄기세포를 추출할 수 있는 세포배양 기술들과 제한된 분화능 등은 구강조직재생관련 임상적용을 위해서는 추후 많은 추가적인 연구가 필요할 것으로 보여진다.

### 줄기세포의 치아관련 조직세포로의 분화

외상 및 치아 우식증으로 인해 발생하는 구강악안면 영역의 재생을 위해서는 조직공학적 조직재생을 위해 관련된 조직을 생성하는 각각의 조직 세포로의 분화가 필요하고 이러한 분화과정에 관련된 성장 인자 및 신호 전달 체계에 대한 연구들이 진행되어야 한다<sup>3,5,44)</sup>. 현재 치과 및 정형외과에서는 골재생에 관련된 많은 연구들이 진행되어 왔고, 그 분야에서 상당한 성과가 있었다<sup>45-48)</sup>. 하지만, 상아질 손상의 치료를 위한 많은 연구들이 진행되어 왔지만, 이 분야에 대한 연구들은 향후 활발하게 진행되어야 보다 효율적인 구강조직 재생을 얻을 수 있다고 하겠다. 조상아세포는 치아의 상아질의 형성에 있어 중요한 세포로 Tsukamoto 등이 치수의 섬유아세포에서 경화물질을 생성한다는 연구를 발표한 이후 조상아세포의 분화에 대한 연구가 진행되어 왔는데, 최근에는 치수 및 줄기세포에서 조상아세포로의 분화를 유도할 수 있는 기전에 대한 연구들이 진행되고 있다<sup>49-52)</sup>. 최근 새로운 형태의 상아질 재생을 위해서 MTA (Mineral Trioxide Aggregate)에 대한 연구들이 Torabinejad (J Endod, 1993), Lee (J Endod, 1993) 등에 의해서 발표된 이후 최근 활발하게 연구되고 있고<sup>53,54)</sup>, TGF- $\beta$  (Oka, 2007), HUGO (Carrouel, 2008), BMP-2 (Casagrande, 2010), MAP kinase pathway (Simon, 2010), Retinoic acid and BMP4 (Koussoulake, 2011), Bcl-2 (Zhang, 2012) 등과 조상아세포의 분화에 대한 연관성 및 기전에 대한 연구들이 진행되고 있다<sup>55-60)</sup>. Harada (Nature, 2003), Thesleff 등은 치아 발생과정에서 발견되는 신호전달물질에 대해 연구 결과들을 보고 하였다<sup>61,62)</sup>.

### 조직 공학적 접근을 위한 스케폴드에 관한 연구

스케폴드는 세포부착과 합성 및 세포의 이동 그리고 결손된 구조

의 강화(reinforcement)를 위한 세포의 이동 및 부착, 골형성을 위한 기질(matrix)로 작용을 하게 되는데<sup>63-65</sup>, 과거에는 collagen, collagen-glycosaminoglycan copolymer, fibrin, hyaluronic acid, chitosan 등이 연구되었으나, 제작 및 재료 획득, 표준화 등의 문제로 PGA, PLA, PLGA, PCL,  $\beta$ -TCP/PCL를 이용한 합성담체(synthetic scaffold)들이 조직공학적 골재생 연구에 많이 연구되고 있다<sup>65-68</sup>. 구강조직의 재생에 사용되는 스케폴드는 최근 다양한 기술의 발달로 인하여 이전의 단순히 특정 조직으로 분화될 수 있는 세포를 위한 운반체(carrier)의 역할에서 더 나아가 3차원적인 재건을 위한 하나의 주형(template)과 혈관재형성 조건의 형성 등 조직재생에 있어서 중요한 역할을 하고 있다<sup>69,70</sup>. 최근 3차원 CT를 이용하여 골재생에 효과적인 형태를 제작하고 세포부착성의 평가를 위해서 여러 가지의 형태의 세포 위한 3차원으로 출력된 형태나 나노 코팅이 된 스케폴드가 연구되고 있고, 3차원 담체에 다양한 형태의 펩타이드나, 나노 코팅을 한 담체가 여러 분야의 조직재생에 연구되어지고 있다<sup>71-74</sup>.

## 고찰

구강 및 치아조직 재생을 위한 조직공학적 연구는 줄기세포에 대한 연구, 효과적인 스케폴드의 제작 및 개발, 유래된 줄기세포를 각각의 조직세포로 분화시키는 방법들이 진행되고 있다. 이러한 연구들이 실제 임상에 적용되기까지는 세포실험, 동물실험에서는 상당한 진전을 보이고 있지만, 인간에서 사용하는 임상시험의 결과를 얻기에는 향후 많은 연구들이 진행되어야 할 것으로 보이고, 특히 실험 연구들에서 윤리적인 문제나, 안정성에 관련해서는 엄격한 관리와 검토가 이루어져야 할 것으로 판단된다<sup>75</sup>. 또한, 최근에는 조직공학적 조직재생에서 신생혈관 재생과 같은 스케폴드 내부로의 혈관 재생관련 연구들이 진행되고 이러한 분야의 연구들은 조직공학적 조직 재생에서 필수적인 요인으로 인식 되어지고 있는 상황이다. 현재 치아 조직 재생을 위한 연구들이 현재 많이 진행되고 있지만, 실제 임상에 적용할 수 있는 수준은 아니다. 현재 임플란트를 대체할 수 있는 인공치아(Bio-tooth)의 개발에 많은 연구들이 진행되고 있지만, 인공치아의 개발을 위해서는 치아 형성에 관련된 기전과 법랑아세포 및 조상아세포 분화와 관련된 연구, 적은 조직에서도 줄기세포를 획득할 수 있는 줄기세포에 대한 연구, 다양한 결손 부위를 효과적으로 구성할 수 있는 스케폴드 제작에 관련된 연구와 같은 많은 분야에 연구들이 진행되어야 하고 이러한 연구들이 융합될 수 있는 시스템의 확립도 필요하고, 임상 시험과 관련된 효율적이고 엄격한 제도의 확립도 중요한 부분으로 판단된다.

## REFERENCES

1. Burchardt H. Biology of bone transplantation. The Orthopedic clinics of North America. 1987;18(2):187-96.

2. Langer R, Vacanti JP. Tissue engineering. Science., 1993; 260(5110):920-6.

3. Vacanti CA. The history of tissue engineering. J Cell Mol Med. 2006;10(3):569-76.

4. Dawson E, Mapili G, Erickson K, Taqvi S, Roy K. Biomaterials for stem cell differentiation. Adv Drug Deliv Rev. 2008;60(2): 215-28.

5. Dee KC, Bizios R. Mini-review: Proactive biomaterials and bone tissue engineering. Biotechnol Bioeng. 1996;50(4):438-42.

6. Bono E, Mathes SH, Francini N, Graf-Hausner U. Tissue engineering—the gateway to regenerative medicine. Chimia (Aarau). 2010;64(11):808-12.

7. Porter JR, Ruckh TT, Popat KC. Bone tissue engineering: a review in bone biomimetics and drug delivery strategies. Biotechnol Prog. 2009;25(6):1539-60.

8. Yen AH, Sharpe PT. Stem cells and tooth tissue engineering. Cell Tissue Res. 2008;331(1):359-72.

9. Yelick PC, Vacanti JP. Bioengineered teeth from tooth bud cells. Dent Clin North Am. 2006;50(2):191-203.

10. Bluteau G, Luder HU, De Bari C, Mitsiadis TA. Stem cells for tooth engineering. Eur Cell Mater. 2008;16:1-9.

11. Nakashima M, Reddi AH. The application of bone morphogenetic proteins to dental tissue engineering. Nat Biotechnol. 2003;21(9):1025-32.

12. Ueda M, Tohno I, Nakai H. Tissue engineering research in oral implant surgery. Artif Organs. 2001;25(3):164-71.

13. Xiao Y, Qian H, Young WG, Bartold PM. Tissue engineering for bone regeneration using differentiated alveolar bone cells in collagen scaffolds. Tissue Eng. 2003;9(6):1167-77.

14. Earthman JC, Sheets CG, Paquette JM, Kaminishi RM, Nordland WP, Keim RG, et al. Tissue engineering in dentistry. Clin Plast Surg. 2003;30(4):621-39.

15. Young CS, Abukawa H, Asrican R, Ravens M, Troulis MJ, Kaban LB, et al. Tissue-engineered hybrid tooth and bone. Tissue Eng. 2005;11(9-10):1599-610.

16. Buckley MJ, Agarwal S, Gassner R. Tissue engineering and dentistry. Clin Plast Surg. 1999;26(4):657-62.

17. Dard M, Sewing A, Meyer J, Verrier S, Roessler S, Scharnweber D. Tools for tissue engineering of mineralized oral structures. Clin Oral Investig. 2000;4(2):126-9.

18. Yamada Y, Nakamura S, Ito K, Sugito T, Yoshimi R, Nagasaka T, et al. A feasibility of useful cell-based therapy by bone regeneration with deciduous tooth stem cells, dental pulp stem cells, or bone-marrow-derived mesenchymal stem cells for clinical study using tissue engineering technology. Tissue Eng Part A. 2010;16(6):1891-900.

19. Ma T. Mesenchymal stem cells: From bench to bedside. World J Stem Cells. 2010;2(2):13-7.

20. Schmelzeisen R, Schimming R, Sittlinger M. Making bone: implant insertion into tissue-engineered bone for maxillary sinus floor augmentation—a preliminary report. J Craniomaxillofac Surg. 2003;31(1):34-9.

21. Yamada Y, Ueda M, Naiki T, Nagasaka T. Tissue-engineered injectable bone regeneration for osseointegrated dental implants. Clin Oral Implants Res. 2004;15(5):589-97.

22. Duailibi MT, Duailibi SE, Duailibi Neto EF, Negreiros RM, Jorge

- WA, Ferreira LM, et al. Tooth tissue engineering: optimal dental stem cell harvest based on tooth development. *Artif Organs*. 2011;35(7):E129-35.
23. Sakai VT, Cordeiro MM, Dong Z, Zhang Z, Zeitlin BD, Nor JE. Tooth slice/scaffold model of dental pulp tissue engineering. *Adv Dent Res*. 2011;23(3):325-32.
  24. Reichert da Silva Assuncao L, Colenci R, Ferreira do-Amaral CC, Sonoda CK, Mogami Bomfim SR, Okamoto R, et al. Periodontal tissue engineering after tooth replantation. *J Periodontol*. 2011;82(5):758-66.
  25. Inanc B, Elcin YM. Stem cells in tooth tissue regeneration—challenges and limitations. *Stem Cell Rev*. 2011;7(3):683-92.
  26. Ikeda E, Morita R, Nakao K, Ishida K, Nakamura T, Takano-Yamamoto T, et al. Fully functional bioengineered tooth replacement as an organ replacement therapy. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2009;106(32):13475-80.
  27. Oshima M, Mizuno M, Imamura A, Ogawa M, Yasukawa M, Yamazaki H, et al. Functional tooth regeneration using a bioengineered tooth unit as a mature organ replacement regenerative therapy. *PLoS One*. 2011;6(7):e21531.
  28. Evans MJ, Kaufman MH. Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos. *Nature*. 1981;292(5819):154-6.
  29. Polak JM, Bishop AE. Stem cells and tissue engineering: past, present, and future. *Ann N Y Acad Sci*. 2006;1068:352-66.
  30. Zaidi N, Nixon AJ. Stem cell therapy in bone repair and regeneration. *Ann N Y Acad Sci*. 2007;1117:62-72.
  31. Placzek MR, Chung IM, Macedo HM, Ismail S, Mortera Blanco T, Lim M, et al. Stem cell bioprocessing: fundamentals and principles. *J R Soc Interface*. 2009;6(32):209-32.
  32. Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell*. 2006;126(4):663-76.
  33. Okita K, Ichisaka T, Yamanaka S. Generation of germ-line-competent induced pluripotent stem cells. *Nature*. 2007;448(7151):313-7.
  34. Yan X, Qin H, Qu C, Tuan RS, Shi S, Huang GT. iPS cells reprogrammed from human mesenchymal-like stem/progenitor cells of dental tissue origin. *Stem Cells Dev*. 2010;19(4):469-80.
  35. Miyoshi K, Tsuji D, Kudoh K, Satomura K, Muto T, Itoh K, et al. Generation of human induced pluripotent stem cells from oral mucosa. *J Biosci Bioeng*. 2010.
  36. Egusa H, Okita K, Kayashima H, Yu G, Fukuyasu S, Saeki M, et al. Gingival fibroblasts as a promising source of induced pluripotent stem cells. *PLoS One*. 2010;5(9):e12743.
  37. Tamaoki N, Takahashi K, Tanaka T, Ichisaka T, Aoki H, Takeda-Kawaguchi T, et al. Dental Pulp Cells for Induced Pluripotent Stem Cell Banking. *J Dent Res*. 2010.
  38. Voss P, Sauerbier S, Wiedmann-Al-Ahmad M, Zizelmann C, Stricker A, Schmelzeisen R, et al. Bone regeneration in sinus lifts: comparing tissue-engineered bone and iliac bone. *Br J Oral Maxillofac Surg*. 2010;48(2):121-6.
  39. Mangano C, Piattelli A, Tettamanti L, Mangano F, Mangano A, Borges F, et al. Engineered bone by autologous osteoblasts on polymeric scaffolds in maxillary sinus augmentation: histologic report. *J Oral Implantol*. 2010;36(6):491-6.
  40. Yamada Y, Nakamura S, Ito K, Kohgo T, Hibi H, Nagasaka T, et al. Injectable tissue-engineered bone using autogenous bone marrow-derived stromal cells for maxillary sinus augmentation: clinical application report from a 2-6-year follow-up. *Tissue Eng Part A*. 2008;14(10):1699-707.
  41. Seo BM, Miura M, Gronthos S, Bartold PM, Batouli S, Brahim J, et al. Investigation of multipotent postnatal stem cells from human periodontal ligament. *Lancet*. 2004;364(9429):149-55.
  42. Matsubara T, Suardita K, Ishii M, Sugiyama M, Igarashi A, Oda R, et al. Alveolar bone marrow as a cell source for regenerative medicine: differences between alveolar and iliac bone marrow stromal cells. *J Bone Miner Res*. 2005;20(3):399-409.
  43. De Kok IJ, Peter SJ, Archambault M, van den Bos C, Kadiyala S, Aukhil I, et al. Investigation of allogeneic mesenchymal stem cell-based alveolar bone formation: preliminary findings. *Clin Oral Implants Res*. 2003;14(4):481-9.
  44. Parazzi V, Lazzari L, Rebulli P. Platelet gel from cord blood: a novel tool for tissue engineering. *Platelets*. 2010;21(7):549-54.
  45. Spagnoli DB, Marx RE. Dental implants and the use of rhBMP-2. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am*. 2011;23(2):347-61.
  46. Nie X, Luukko K, Kettunen P. BMP signalling in craniofacial development. *Int J Dev Biol*. 2006;50(6):511-21.
  47. Urist MR, Strates BS. The classic: Bone morphogenetic protein. *Clin Orthop Relat Res*. 2009;467(12):3051-62.
  48. Young MF. Bone matrix proteins: their function, regulation, and relationship to osteoporosis. *Osteoporos Int*. 2003;14 Suppl 3:S35-42.
  49. Tsukamoto Y, Fukutani S, Shin-Ike T, Kubota T, Sato S, Suzuki Y, et al. Mineralized nodule formation by cultures of human dental pulp-derived fibroblasts. *Arch Oral Biol*. 1992;37(12):1045-55.
  50. About I, Bottero MJ, de Denato P, Camps J, Franquin JC, Mitsiadis TA. Human dentin production in vitro. *Exp Cell Res*. 2000;258(1):33-41.
  51. Okumura R, Shima K, Muramatsu T, Nakagawa K, Shimono M, Suzuki T, et al. The odontoblast as a sensory receptor cell? The expression of TRPV1 (VR-1) channels. *Arch Histol Cytol*. 2005;68(4):251-7.
  52. Magloire H, Couble ML, Thivichon-Prince B, Maurin JC, Bleicher F. Odontoblast: a mechano-sensory cell. *J Exp Zool B Mol Dev Evol*. 2009;312B(5):416-24.
  53. Torabinejad M, Watson TF, Pitt Ford TR. Sealing ability of a mineral trioxide aggregate when used as a root end filling material. *J Endod*. 1993;19(12):591-5.
  54. Lee SJ, Monsef M, Torabinejad M. Sealing ability of a mineral trioxide aggregate for repair of lateral root perforations. *J Endod*. 1993;19(11):541-4.
  55. Oka S, Oka K, Xu X, Sasaki T, Bringas P, Jr., Chai Y. Cell autonomous requirement for TGF-beta signaling during odontoblast differentiation and dentin matrix formation. *Mech Dev*. 2007;124(6):409-15.
  56. Carrouel F, Couble ML, Vanbelle C, Staquet MJ, Magloire H, Bleicher F. HUGO (FNDC3A): a new gene overexpressed in human odontoblasts. *J Dent Res*. 2008;87(2):131-6.

57. Casagrande L, Demarco FF, Zhang Z, Araujo FB, Shi S, Nor JE. Dentin-derived BMP-2 and odontoblast differentiation. *J Dent Res.* 2010;89(6):603-8.
58. Simon S, Smith AJ, Berdal A, Lumley PJ, Cooper PR. The MAP kinase pathway is involved in odontoblast stimulation via p38 phosphorylation. *J Endod.* 2010;36(2):256-9.
59. Koussoulakou DS, Margaritis LH, Koussoulakos SL. Antagonists of retinoic acid and BMP4 affect fetal mouse osteogenesis and odontoblast differentiation. *Pathophysiology.* 2011;18(2):103-9.
60. Zhang W, Ju J. Odontoblast-targeted Bcl-2 overexpression promotes dentine damage repair. *Arch Oral Biol.* 2012;57(3):285-92.
61. Thesleff I. Developmental biology and building a tooth. *Quintessence Int.* 2003;34(8):613-20.
62. Thesleff I. The genetic basis of tooth development and dental defects. *Am J Med Genet A.* 2006;140(23):2530-5.
63. Shin H, Jo S, Mikos AG. Biomimetic materials for tissue engineering. *Biomaterials.* 2003;24(24):4353-64.
64. Langer R, Tirrell DA. Designing materials for biology and medicine. *Nature.* 2004;428(6982):487-92.
65. Vats A, Tolley NS, Polak JM, Gough JE. Scaffolds and biomaterials for tissue engineering: a review of clinical applications. *Clin Otolaryngol Allied Sci.* 2003;28(3):165-72.
66. Glowacki J, Mizuno S. Collagen scaffolds for tissue engineering. *Biopolymers.* 2008;89(5):338-44.
67. Gwak SJ, Kim BS. Poly(lactic-co-glycolic acid) nanosphere as a vehicle for gene delivery to human cord blood-derived mesenchymal stem cells: comparison with polyethylenimine. *Biotechnol Lett.* 2008;30(7):1177-82.
68. Huebsch N, Mooney DJ. Inspiration and application in the evolution of biomaterials. *Nature.* 2009;462(7272):426-32.
69. El-Ayoubi R, DeGrandpre C, DiRaddo R, Yousefi AM, Lavigne P. Design and dynamic culture of 3D-scaffolds for cartilage tissue engineering. *J Biomater Appl.* 2011;25(5):429-44.
70. He Q, Zhao Y, Chen B, Xiao Z, Zhang J, Chen L, et al. Improved cellularization and angiogenesis using collagen scaffolds chemically conjugated with vascular endothelial growth factor. *Acta Biomater.* 2011;7(3):1084-93.
71. Lee M, Wu BM. Recent advances in 3D printing of tissue engineering scaffolds. *Methods Mol Biol.* 2012;868:257-67.
72. Ovsianikov A, Gruene M, Pflaum M, Koch L, Maiorana F, Wilhelmi M, et al. Laser printing of cells into 3D scaffolds. *Biofabrication.* 2010;2(1):014104.
73. Koch L, Kuhn S, Sorg H, Gruene M, Schlie S, Gaebel R, et al. Laser printing of skin cells and human stem cells. *Tissue Eng Part C Methods.* 2010;16(5):847-54.
74. Boland T, Xu T, Damon B, Cui X. Application of inkjet printing to tissue engineering. *Biotechnol J.* 2006;1(9):910-7.
75. de Vries RB, Oerlemans A, Trommelmans L, Dierickx K, Gordijn B. Ethical aspects of tissue engineering: a review. *Tissue Eng Part B Rev.* 2008;14(4):367-75.