

牙齒幹細胞於 再生醫學之應用

文・圖／陳敏慧

再生醫學（regenerative medicine）乃是藉由細胞、智慧型生醫材料、生物活化分子訊息提供適當的訊息以促進生物自癒的能力；隨著基因體資訊的發展，幹細胞（stem cells）的應用與生物材料的研發，為再生醫學帶來極大的發展潛力，而奈米生物技術（nanobiotechnology）的發展亦使再生醫學得以有更大的突破。以目前的發展來看，幹細胞已可應用於多種組織的再生，包括肌肉、軟骨、骨組織、肝臟、心臟、腦神經、肺臟、小腸血液細胞等，牙齒再生更開啟了器官再生的契機。

牙齒幹細胞的發現

牙齒幹細胞有很多種，在牙齒所發現的各種幹細胞均極具潛力，目前已發現的有：乳牙牙髓幹細胞（stem cells from human exfoliated deciduous teeth (SHED)）^[1]，恆牙牙髓幹細胞（pulp stem cells）^[2]，未完全發育牙根尖幹細胞（stem cells from apical papilla(SCAP)）^[3]，牙周幹細胞（periodontal stem cells）^[4]等。乳牙牙髓幹細胞存在於乳牙牙髓，可被引導分化為骨，軟骨，神經等，在相關的骨再生、神經再生皆有可能應用，現在已有乳牙銀行的產生，以保留脫落的乳牙，可分離乳牙牙髓幹細胞（deciduous pulp stem cells）作為將來可能的應用，以補足未留下臍帶血的遺憾。在恆牙的牙髓中亦可找到幹細胞，並且證實具有轉分化為牙本質母細胞（odontoblasts），促進牙本質再生（dentinogenesis）的作用，可

用於治療齲齒和覆髓（capping）細胞治療（cell therapy）。

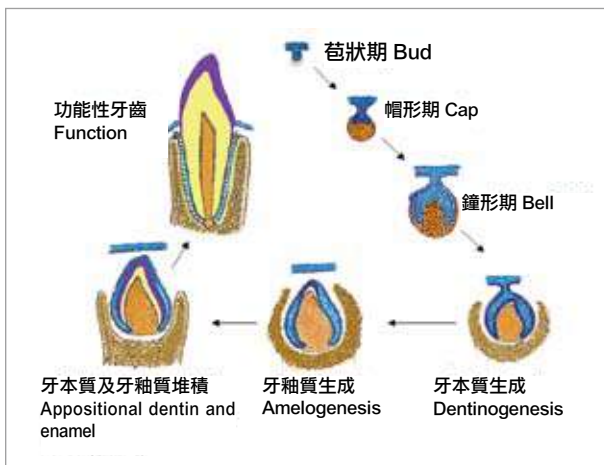
而在牙根發育約2/3之根尖，具有相當特別的牙根尖幹細胞，可促進牙根發育、牙本質及牙周的形成，因此可應用於治療牙斷裂或根尖發育不全^[5]，如合併牙周幹細胞亦可治療因車禍撞擊的牙根重植之修護。研究發現利用氫氧磷灰石（hydroxyapatite）作用牙根中間管狀，放置牙根尖幹細胞，周圍放置牙周幹細胞，植入豬的口內，可形成具牙周膜之牙根，甚至可利用此牙根在其上製造牙冠，不失為缺牙患者的福音。牙周幹細胞可應用於促進牙周之再生，可用於治療牙周病，將來可針對拔下的埋伏智齒的牙周加以利用。

牙齒再生的重要性

牙齒的複雜性不亞於一般器官，因為牙齒本身即是一個完整的器官，其胚胎發育過程及發育原則與其他器官類似，乃是經由外胚層（ectoderm）的胚胎上皮細胞（embryo epithelium）與中胚層（mesoderm）的間葉細胞（mesenchymal cells）交互作用而開啟，因此進行牙齒再生（tooth regeneration）的研究，除了解決缺牙的問題之外，其實有另一層更重要的關鍵意義，那就是：引領器官再生（organ regeneration）跨出新的一步。科學家皆已認知，自然界生命成長的過程有其一致性與共通性，而“遵循自然原則”就是最明智的方法，一切有關再生醫學的研究，其實就是在探討自然界生命成長的過程，加以模擬其生長所需之條件，



才可能成功。因此，一旦牙齒再生成功即表示其他器官的再生有機會成功。如果組織工程（tissue engineering）研究者可以製造新的牙齒，則將可進而製造更大的器官，而導引醫學治療到再生醫學的新世紀。再者，牙齒的數量多且較易取得，並且不致於立即危害生命，因此讓科學家有更多探討與研究的空間，這也是為何牙齒再生成為科學家極感興趣的研究焦點，近年來已有許多突破與進展。



牙齒發育過程中上皮細胞與間葉細胞之互動
(Drawed by Amy Wang)。

由牙齒發育探討牙齒再生

在卵子受精後第六週，人類胚胎小於一英吋，幾乎無法辨識形態，但在其細胞之間已開始有了對話，同時導引牙齒的形成，此種訊息傳導（signal transduction）足以說明為何牙齒及其他器官無法在實驗室的培養皿中完整地生長。事實上，科學家可能永遠無法以人為方式建立相同的情況，然而，我們若越瞭解這些初期發育的過程，我們將會有更多的機會提供建立器官的重要因子以促進牙齒再生，進而讓自然界完成其他部分。

大部分器官（例如羽毛器官、毛髮器官、哺乳動物之腺體器官、唾液腺器官、脾臟等）是藉

著兩種不同的胚胎細胞，即上皮細胞（epithelial cells）和間葉細胞（mesenchymal cells）相互作用而形成，牙齒也不例外，在胚胎時期，口腔上皮細胞（epithelial cells, 形成口腔的上皮）會首先釋出訊息給間葉細胞（mesenchymal cells, 形成顎骨及軟組織），導引他們開始形成牙齒，當間葉細胞接到指引的訊息後，就會傳出訊息回給上皮細胞，這樣來回的交互作用在胚胎牙齒發育過程一直持續進行著。最初，未來將形成牙齒的組織只不過是增厚的胚胎上皮細胞而已，接著此上皮組織開始穿到下層的間葉組織而逐漸有不同時期的表現，包括所謂苞狀期（bud stage），帽狀期（cap stage），鐘形期（bell stage）等。其外層即形成牙釉質（enamel），而內層的間葉組織（mesenchymal tissue）則形成牙本質（dentin）及牙髓（pulp），牙骨質（cementum）及牙周組織（periodontal tissue）。

一般嬰兒在出生6~8週會開始長出牙齒，即使在牙齒開始形成之前，它的形狀即會由其在位置而決定，有些來自上皮細胞導引牙齒再生的訊息亦同樣會對顎骨的間葉組織的形成基因（gene）有導引的作用，已知的有homeobox基因群，這些homeobox基因在胎兒發育期參與決定各種器官的形態與位置，不同的homeobox基因會在不同部位被啟動，導引不同的牙胚（tooth bud）分別形成臼齒、小臼齒、犬齒及前牙等，例如其中一個homeobox基因稱為Barx1，會被間葉細胞啟動或表現在臼齒會生長的後牙區，在動物實驗中，若一般在會長前牙的部位將間葉細胞故意表現Barx1，則牙齒會長成臼齒形狀。由於能預測或控制牙齒形態的能力是製造組織再生牙齒的關鍵，科學家即可利用類似Barx1基因的活性，在實驗室中作初步培養，製造牙齒，作為預測未來牙齒形態的標記。換言之，必須提供正確的訊息，在適當的時候導引牙齒再生。



臺大研究團隊自迷你豬分離牙胚細胞進行牙齒再生研究。



在牙齒發育過程中所需的各種生長因子及訊息傳導因子皆已陸續被發現，而更有意義的是大部分訊息傳導因子（signal transduction factors），除了在牙齒發育過程一直扮演重要角色外，也同時對其他器官有著極重要的導引作用；瞭解牙齒發育的訊息傳導因子，也可明白天生顎顏面生長缺損造成牙齒發育不全的因素，進而予以預防治療。帽狀期含有牙釉質器官（enamel organ）上皮細胞及牙本質間葉細胞，將此二者分離之後再放在一起，於體外分開培養即可形成牙齒雛型；利用骨髓幹細胞（bone marrow stem cells）來源作為間葉細胞，與牙釉質器官（enamel organ）的上皮細胞一起作用亦可發現具有形成牙齒成份的傾向，由此更確認牙齒再生的可行性。有關牙齒生長時形態決定基因陸續被發現，以及幹細胞以分子技術啟動及利用的方式，亦增加牙齒再生的可行性。

牙齒再生的展望

目前臺大研究團隊自迷你豬取得牙胚細胞，經培養後再植入原迷你豬的牙槽骨中，已成功地長出與迷你豬的牙齒一樣大小的牙齒。利用支架



分離培養之牙胚細胞置於生醫材料後，植入迷你豬，成功再生形成具有牙根之牙齒。

亦能再生具有牙本質、牙、牙骨質與牙周膜等如同牙根一樣的結構^[6]，亦發現牙胚細胞與生醫材料有許多特殊的互動作用^[7-9]。接下來的研究將利用牙齒再生模式作為器官再生研究之基礎，針對牙胚上皮細胞與間葉細胞的互動機制有更多的研究，並且探討牙齒再生過程的不同階段中，與周圍組織所發生的各種訊息傳導機制，以進一步發展其他器官再生。

結語

牙齒幹細胞來源很多又容易取得，牙齒再生已開啟了器官再生的契機，牙齒幹細胞可廣泛應



用於再生醫學，利用牙齒再生可作為器官再生研究之模式，其發展有相當大的潛力與應用價值。相信未來牙齒幹細胞於再生醫學的應用所帶來治

療方式的革新及效果，將是令人興奮而可預期的，其應用可造福更多人群。圖（本專題策畫／婦產部黃思誠教授&牙科部林俊彬主任）

參考文獻：

- [1] Miura M, Gronthos S, Zhao M, Lu B, Fisher LW, Pamela Robey PG, and Shi S. SHED: Stem cells from human exfoliated deciduous teeth. PNAS May 13, 2003; 100 (10): 5807 - 5812.
- [2] Gronthos, M. Mankani, J. Brahimi, P. Gehron Robey, and S. Shi. Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) in vitro and in vivo. PNAS, 2000; 97(25): 13625-13630.
- [3] Sonoyama W, Liu Y., Fang D, Yamaza T, Seo B-M, Zhang C, Liu H, Gronthos S, Wang C-Y, Wang S, Shi S. Mesenchymal Stem Cell-Mediated Functional Tooth Regeneration in Swine PLoS ONE 2006;1(1): e79. doi:10.1371.
- [4] Seo B-M, Miura M, Gronthos S, Bartold PM, Batouli S, Brahimi J, Young M, Robey PG, Wang CY, Shi S. Investigation of multipotent postnatal stem cells from human periodontal ligament Lancet 2004; 364: 149 - 55
- [5] Banchs F. and Trope M. Revascularization of Immature Permanent Teeth With Apical Periodontitis: New Treatment Protocol? Endodont 30 (4), 2004
- [6] Kuo TF, Huang AT, Chang HH, Lin FH, Chen ST, Chen RS, Chou CH, Lin HC, Chiang H, and **Chen MH**. Regeneration of dentin-pulp complex with cementum and periodontal ligament formation using dental bud cells in gelatin-chondroitin-hyaluronan tri-copolymer scaffold in swine. Journal of Biomedical Materials Research Part A 2008; 86A:1062-1068.
- [7] Chen RS, Chen YJ, **Chen MH***, Young TH. (2009) The behavior of rat tooth germ cells on poly (vinyl alcohol) Acta Biomaterialia 5:1064-1074 (SCI)
- [8] Chen RS, **Chen MH***, Young TH (2009). Induction of differentiation and mineralization in rat tooth germ cells on PVA through inhibition of ERK1/2 Biomaterials 30:541-547. (SCI)
- [9] **Chen MH***, Chen YJ, Liao CC, Chan YH, Lin CY, Chen RS, Young TH. (2009) Formation of salivary acinar cell spheroids in vitro above a PVA-coated surface. Journal of Biomedical Materials Research Part A 90A(4):1066-1072 (SCI)



與家人一同參加女兒的大學畢業典禮。

陳敏慧小檔案

1982年於臺大牙醫學系畢業（第22屆校友），1996-2000年間赴紐西蘭奧克蘭大學攻讀生物醫學材料工程學博士，2000年學成返國。致力於跨領域之生醫材料研發與幹細胞組織工程之研究，其所研發之牙科奈米環氧複合樹脂已獲臺灣及美國專利。並另有四項專利在申請中。此外，對於幹細胞亦有深入研究，首度在軟骨發現微小幹細胞，利用幹細胞進行唾液腺再生，並利用迷你豬的牙胚細胞成功長出具有完整牙根之牙齒，此研究乃世界之冠。獲2000年國際骨科研究學會研究優良論文獎，2002年國科會乙種研究獎勵，2005年杜聰明博士研究論文獎，並在2007年及2009年先後獲臺大醫院及臺灣大學教學優良獎，2008年當選國際牙醫學院院士。現任臺大牙醫專業學院臨床牙醫研究所教授、臺大醫院牙科部牙體復形美容牙科主任、中華民國牙體復形學會理事長。