牙齒再生—器官再生之實現

陳敏慧
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

牙齒再生的重要性

牙齒對於個人健康與生活品質具有極大的影響力；因牙周疾病、齲齒、外傷或基因缺陷造成的牙齒缺失，會帶來咀嚼、發音等生理狀態或外型困擾。據調查顯示：一般成人口腔內具有某些牙齒修復體存在者約佔85%；小於17歲者，有缺了一顆或更多顆牙的情形者約佔7%；而年齡大於50歲者，平均缺牙數為12顆。目前缺牙患者，一般是接受牙橋或植體治療；儘管牙齒植體的材料與相關技術日新月異，若是能發展出生物性的牙齒以取代缺損的牙齒，由患者自身的組織在適當部位長出一個自然牙，應是最完美的取代方式，亦將是臨床治療的新突破。數十年來，學者一直試圖以組織工程方式製造出生物性的牙齒，包括在體內以不同的位置使牙齒生長，或是在體外以牙胚培育牙齒的生長等研究。雖然這種以組織工程方式製造牙齒在多年來一直像是難以實現的夢，然而，由於針對牙齒的發育已有更深的瞭解，加上幹細胞組織工程技術的發展，使得我們得以實現牙齒再生的夢想。

由牙齒再生模式探討器官再生

牙齒遠比一般所見更為複雜，因為牙齒本身乃是一個完整的器官，牙齒的胚胎發育過程及發育的原則與身體許多其他的器官都類似，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)的交互作用而開始，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)跨越新的一步。因為科學家皆已認知，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(regenerative medicine)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(tooth regeneration)能夠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，則將可躍進而製造更大的器官，而導引醫學治療到再生醫學(regenerative medicine)的新世紀。再者，牙齒的數量多且較易取得，並且不致於立即造成危害生命的情形，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(tooth regeneration)成為科學家極感興趣的研究重點，而牙齒再生(tooth regeneration)的相關研究，進年來也有許多的突破與進展。

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(stem cells)，皆有相當大的潛力，目前在牙齒已陸續發現各種不同的幹細胞(stem cells)，包括：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(stem cells from human exfoliated deciduous teeth (SHED))存在於乳牙牙髓具有相當大的潛力，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，因此，目前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(stem cells)並已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，可被應用於治療齲齒，以及作為覆髓(capping)細胞治療(cell therapy)。

研究發現在牙根發育約2/3之根尖，具有相當特別的牙根尖幹細胞(stem cells from apical papilla)，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(periodontal stem cells)亦可能治療因車禍撞擊的牙根重植之修護。學者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(stem cells from apical papilla)，周圍放置牙周幹細胞(periodontal stem cells)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(periodontal stem cells)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可加以利用。

由牙齒發育探討牙齒再生

在卵子受精後第六週，人類胚胎比一英吋還小且幾乎無法辨識形態，但是在其細胞之間已經開始有了對話，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，我們若愈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(tooth regeneration)，進而讓自然界完成其他部份。

大部份器官(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)是藉二種不同的胚胎細胞，包括上皮細胞(epithelial cells)及間葉細胞(mesenchymal cells)相互作用而形成，當然牙齒也不例外，在胚胎時期，口腔上皮細胞(epithelial cells)(此將形成口腔的上皮) 會首先釋出訊息給間葉細胞(mesenchymal cells)(此細胞會形成顎骨及軟組織)導引他們開始形成牙齒，當間葉細胞(mesenchymal cells)接到指引的訊息，間葉細胞(mesenchymal cells)會傳出訊息回給上皮細胞(epithelial cells)，這樣來回的交互作用在胚胎牙齒發育過程一直持續進行。

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，包括所謂芭狀期(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，它的形狀即會由其所在位置而決定，有些來自上皮細胞(epithelial cells)導引牙齒再生(tooth regeneration)的訊息亦同樣會對顎骨的間葉組織(mesenchymal tissue)的形成基因(gene)有導引的作用，已知的有homebox基因群，這些homebox基因乃在胎胚發育期參與決定各種器官的形態與位置，在發育中的人類顎骨不同的homebox基因會在不同部位被啟動，導引不同的牙胚(tooth bud)分別變成臼齒、小臼齒、犬齒及前牙等，例如其中一個bomeobox基因稱為Barx1會被間葉細胞(mesenchymal cells)啟動或表現在臼齒所會生長的後牙區，在動物實驗中，若在一般會長前牙的部位將間葉細胞(mesenchymal cells)故意表現Barx1則牙齒即長成臼齒的形狀，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這種基因的活性，在實驗室中作初步培養製造牙齒，可當作預測未來牙齒形態的標記。換句話說，我們必須提供正確的訊息，在適當的時候，導引牙齒再生(tooth regeneration)。

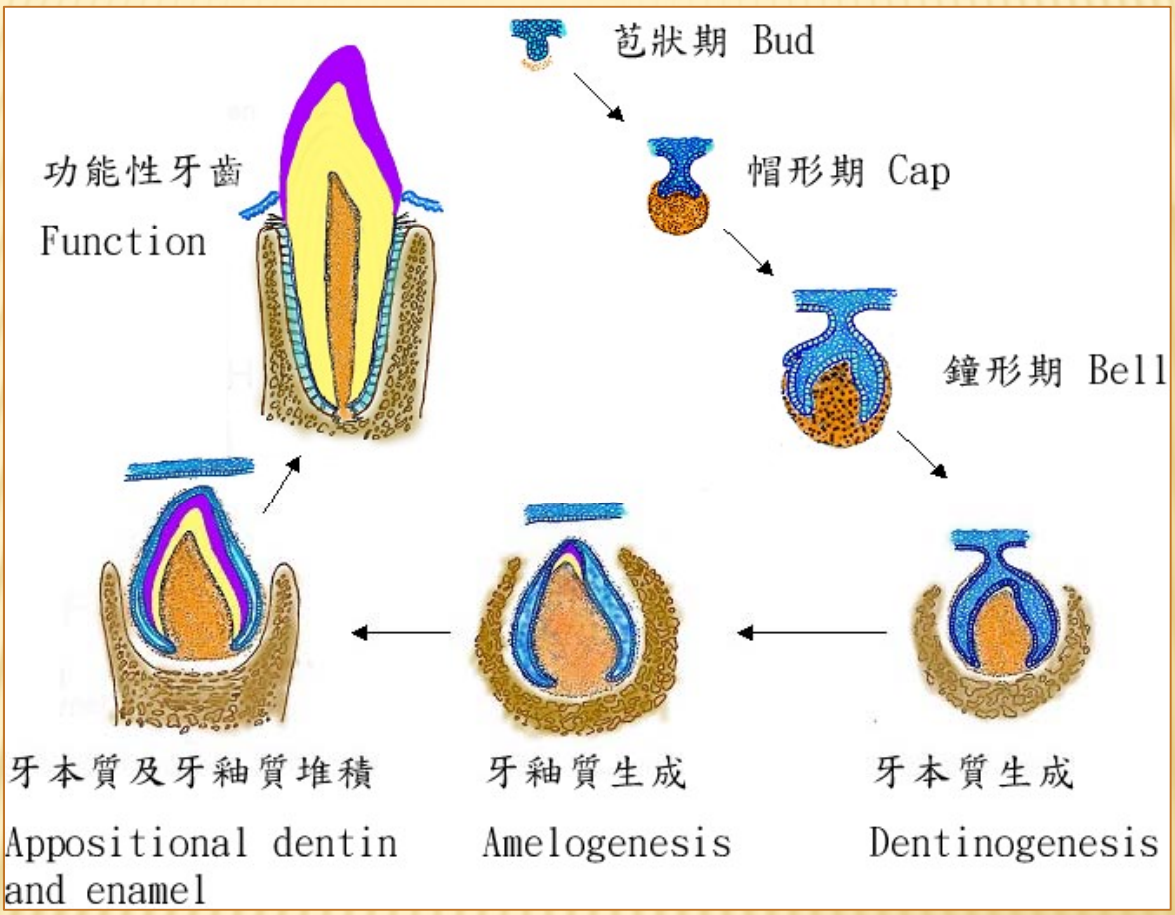
在牙齒發育過程中所需的各種生長因子及訊息傳導因子皆已陸續被發現，而更有意義的是大部分這些訊息傳導因子(signal transduction factors)除了在牙齒發育過程一直扮演重要角色之外，也同時對於其他器官有著極重要的導引作用；瞭解牙齒發育的訊息傳導因子(signal transduction factors)，也可使我們明白天生顎顏面生長缺損造成牙齒發育不全的因素，進而可以預防治療此缺陷。帽形期(cap stage)含有牙釉質器官(enamel organ)上皮細胞(epithelial cells)及牙本質(dentin)間葉細胞(mesenchymal cells)，將此二者分離之後若再放在一起，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(mesenchymal cells)與牙釉質器官(enamel organ)的上皮細胞(epithelial cells)一起作用亦可發現具有形成牙齒成份的傾向，由此更確認在牙齒再生(tooth regeneration)的可行性。有關牙齒生長時形態決定基因陸續被發現，加上幹細胞以分子技術啟動及利用的方式亦增加牙齒再生(tooth regeneration)的可行性。

牙齒再生的展望

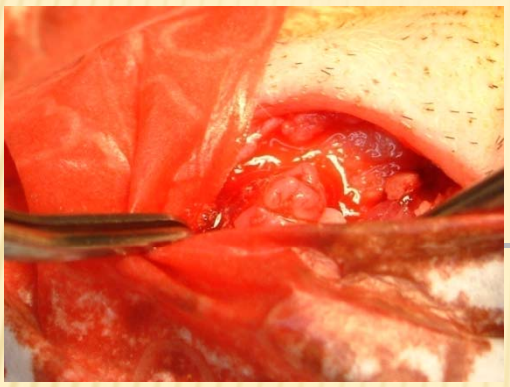
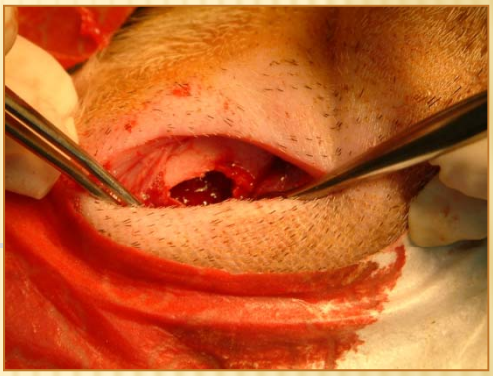
目前臺大研究團隊自迷你豬取得牙胚細胞，經培養後再植入原迷你豬的牙槽骨中，已成功地長出與迷你豬的牙齒一樣大小的牙齒。利用支架亦能再生具有牙本質、牙髓、牙骨質與牙周膜等如同牙根一樣的結構[6]，亦發現牙胚細胞與生醫材料有許多特殊的互動作用[7-9]。此外，臺大研究團隊亦利用多光子顯微影像建立了牙齒結構模式，可作為進行牙齒再生研究之參考[10]。接下來的研究將利用牙齒再生模式作為器官再生研究之基礎，針對牙胚上皮細胞與間葉細胞的互動機制有更多的研究，並且探討牙齒再生過程不同階段中，與周圍組織所發生的各種訊息傳導機制，以進一步發展其它器官再生。

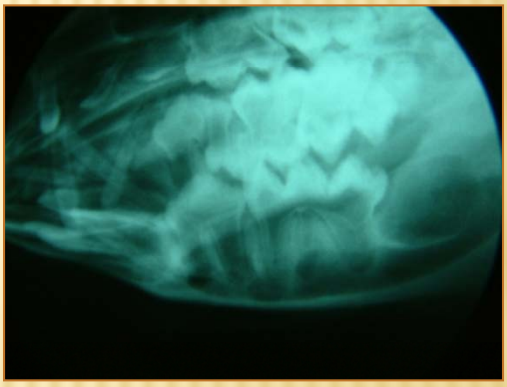
結語

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。

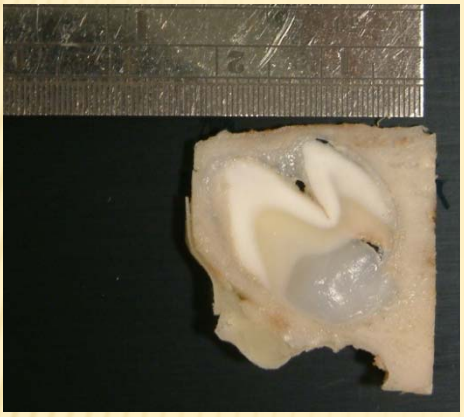


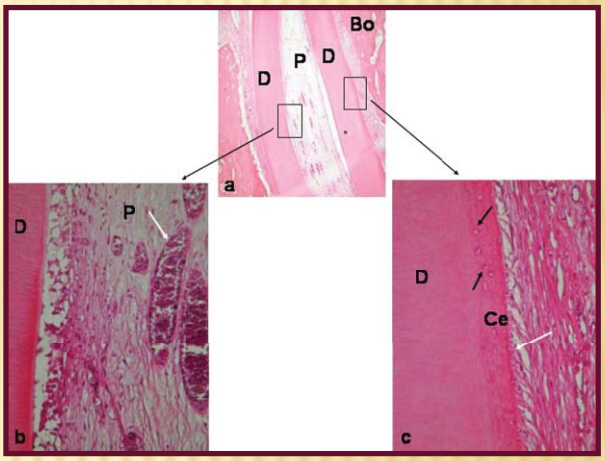
（圖 一 ） 牙齒發育過程中上皮細胞與間葉細胞之互動（ Drawed by Amy Wang ）。

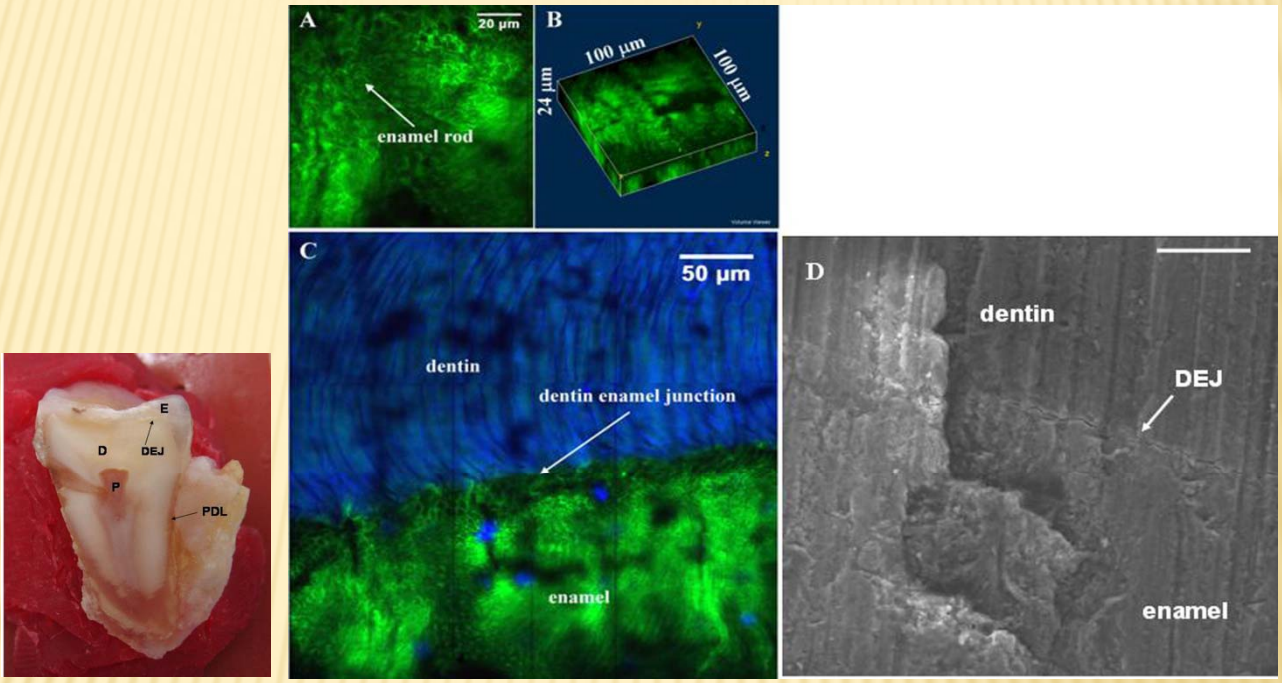


（圖二 ）臺大研究團隊自迷你豬分離牙胚細胞進行牙齒再生研究。





（圖 三 ） 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。



（圖 四 ） 利用多光子影像探討牙齒結構。

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 2003; 100 (10): 5807–5812.

2. Gronthos s., Mankan M., Brahim J., Robey PG, and Shi.S. 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.

4. Seo B-M, Miura M, Gronthos S, Bartold PM, Batouli S, Brahim J, Young M, Robey PG, , Wang CY, Shi S. Investigation of multipotent postnatal stem cells from human periodontal ligament *Lancet* 2004; 364: 149–155

5. Banchs F.and Trope M . Revascularization of Immature Permanent Teeth With Apical Periodontitis: New Treatment Protocol? Endodont 2004;30 (4).196-200.

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 Y J , Chen MH* , Young T H. The behavior of rat tooth germ cells on poly (vinyl alcohol) Acta Biomaterialia 2009; 5:1064-1074.

8. Chen R S , Chen M H *, Young TH.Induction of differentiation and mineralization in rat tooth germ cells on PVA through inhibition of ERK1/2 Biomaterials 2009; 30:541-547.

9. Chen MH*, Chen YJ, Liao CC, Chan YH, Lin CY, Chen RS, Young TH. Formation of salivary acinar cell spheroids in vitro above a PVA-coated surface. Journal of Biomedical Materials Research Part A 2009; 90A(4)1066-1072.

10. Chen MH*, Chen WL, Sun Y, Peter Fwu PT, Dong CY. Multiphoton Autofluorescence and Second-Harmonic Generation (SHG) Imaging of the Tooth. J Biomed Optics 2007;12(6):064018-1~064018-6.