http://dx.doi.org/10.5933/JKAPD.2016.43.4.419
J Korean Acad Pediatr Dent 43(4) 2016
ISSN (print) 1226-8496 ISSN (online) 2288-3819

Relationship with Passage Time of Human Dental Pulp Stem Cells from Supernumerary Tooth by Classification

Yeoseob Shin, Jongbin Kim, Jongsoo Kim

[1]*Department of Pediatric Dentistry, School of Dentistry, Dankook University*

Abstract

For this research 20 supernumerary teeth impacted in the maxillary anterior have been extracted and pulp cells have been collected from them. From the collected pulp cells, total of 17 (10 males, 7 females) have been selected as subjects. From this research, the run-time of successive culture of the cell from tooth number pulp tissue was 2.91 ± 0.29 days. From the gathering of cells from the initial pulp tissue until gaining 80% confluency took 4.53 ± 0.94 which was the longest. The following successive cultures took 2.73 ± 0.32 days.

Average runtime for female was 2.81 ± 0.27 days whereas male had average runtime of 2.98 ± 0.29 days. Average run-time for inversion was 2.94 ± 0.30 days and for normal location, 2.80 ± 0.20 days. Average run-time was 2.92 ± 0.31 days and other forms took 2.88 ± 0.22 days.

In the future, follow up research would be needed to evaluate the efficiency of the cells collected from the initial passage and the latter passage as stem-cells and taking into consideration the less than 3 days' time for the subculture, it could be concluded that the research efficiency and fast cultivation would be sufficiently effective.

Key words : Supernumerary tooth, Passages, Classification, Stem cells

Ⅰ. 서 론

일반적으로 과잉치는 필요하지 않은 치아라고 인식되었다. 따라서 과잉치의 존재는 환자와 치과의사 모두에게 조금은 귀찮은 존재로 여겨지곤 하였다. 과잉치는 정상 치열에 부가적인 치아이며, 단독 또는 다수 발생하고 편측성 또는 양측성으로 존재한다. 전신질환이나 증후군과 연관될 수 있으며, 정상적으로 맹출 혹은 매복, 치아 맹출, 치열의 발육과 연관된 경우가 있다[1,2].

과잉치는 그 동안 인접치아의 맹출 장애, 변위 및 낭종의 형성 등 부정적인 요소로 여겨지고 있었으며, 조기에 발치 하는 것으로 여겨졌다[3,4]. 그러나 과잉치도 줄기세포의 또 다른 공급원이 될 수 있다는 연구[5] 이후로 새롭게 관점이 변하고 있다. 일반적으로 치아로부터 얻을 수 있는 줄기세포는 사랑니[6]와 탈락시기의 유치[7]가 주로 이용되었다.

치아로부터 얻을 수 있는 줄기세포의 장점은 골수 유래 줄기세포에 비해 쉽게 접근 가능하고 최소한의 침습으로 얻을 수 있으며 높은 증식율과 다분화 능력을 가지는 점이다[8].

Hayflick[9]은 인간 태아 조직으로부터 유래한 섬유아세포를 이용한 실험에서 세포가 50여회 정도의 분열 한계를 가지고 있음을 밝히고 이를 Hayflick Limit라고 하였다. 그는 태아에서 채취한 섬유아세포는 약 70여회, 성인에서 추출한 경우는 30 - 40회 정도 그리고 70대 노인의 경우는 20회 정도 분열 후 정지된다고 보고하였다. 반면 치아의 치수유래 줄기세포는 최소한 25계대 이상 증식이 가능하고 안전하게 냉동보관이 가능하며 면역억제능을 가지고 있다[10].

지금까지의 연구는 주로 치아로부터 얻은 줄기세포의 특성을 판단하는 연구가 대부분이었다. 보다 늦은 계대에서도 줄기세포의 특성을 유지한다면 많은 연구재료를 얻을 수 있지만, 계대

Corresponding author : Jongsoo Kim
Department of Pediatric Dentistry, School of Dentistry, Dankook University, 119 Dandaero, Dongnamgu, Cheonan, 330-714, Korea
Tel: +82-41-550-0223 / Fax:+82-41-551-1935 / E-mail : jskim@dku.edu
Received July 5, 2016 / Revised August 10, 2016 / Accepted August 3, 2016
Jongbin Kim and Yeoseob Shin contributed equally to this work.

www.kci.go.kr

배양에 소요되는 시간과 환경적인 제약이 있는 것이 현실이다. 본 연구의 목적은 과잉치 치수로부터 얻은 줄기세포의 계대 배양 동안 소요되는 시간을 알아보고 그 효용성을 알아보고자 하였다.

Ⅱ. 연구 대상 및 방법

1. 과잉치 치수 세포의 채취

본 연구는 상악 매복 과잉치를 가지고 전신질환 및 의과 병력이 없고 과잉치를 발치하기 위해 내원한 만 5 - 9세 사이의 20명을 특별한 분류 없이 무작위로 내원한 순서대로 선정하였다. 20명으로부터 치수세포의 채취를 위한 과잉치의 발치는 단국대학교 치과대학 기관윤리위원회로부터 승인을 받은 후 환아 및 보호자의 서면 동의 하에 이루어졌다. 발치는 소아치과 진료에 오랜 임상 경험을 지닌 술자의 도움을 얻어 단국대학교 치과병원 소아치과에서 계획된 일정에 맞춰 시행하였다. 얻어진 치아는 세포의 손실을 최소화하기 위해 발치 즉시 100 U/mL of penicillin 과 100 ㎍/mL streptomycin (Gibco BRL), 2mM L-glutamine (Gibco BRL), 10 mM L-ascorbic acid (Sigma, St. Louis, MO, USA)와 fetal bovine serum 20% (FBS; Gibco, Life Technologies Corporation, Carlsbad, Calif., USA) 를 함유한 α-minimum essential medium (α-MEM; Gibco BRL, Grand Island, NY, USA)에 보관하여 치수 세포 채취를 위해 실험실로 옮겼다(Fig. 1).

치수 세포를 채취한 후 1차 배양이 진행되고 계대 배양을 시작 할 때, 세포들의 형태가 불규칙하고, 뭉치면서 자라는 등의 문제를 보인 3개는 제외하고 총 17개를 대상으로 연구를 진행하였다.

2. 세포의 분리 및 배양

치수세포의 추출을 위해 과잉치의 백악법랑경계 하방을 멸균된 생리식염수를 주수하면서 치수가 노출되지 않을 정도까지 고속 절삭기구로 잘랐다. 이 후 치아를 부러뜨려 치수를 노출시키고, 멸균된 치과치료용 파일을 이용하여 치수세포를 채취하였다. 치수세포로부터 세포를 분리하기 위해 Enzymatic digestion 방법을 적용하였다[11,12]. 치주조직을 1 mm^3 이내로 잘게 자른 후 3 mg/mL의 Type I collagenase (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, M.O., USA)와 4 mg/mL의 Dispase (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, M.O., USA)를 넣고 효소와 반응이 잘 일어나도록 37℃, Shaking incubator에 1시간 동안 두었다. 불순물을 제거하고 하나의 세포를 얻기 위해 70 ㎛ Falcon strainer (CORNING Inc., N.Y., USA)로 걸렀다. 모여진 세포를 α-MEM (Gibco BRL, Grand Island, NY, USA) 배지에 20% FBS (Gibco, Life Technologies Corporation, Carlsbad, Calif., USA), 100 U/mL penicillin, 100 ㎍/mL streptomycin (Gibco BRL), 2mM L-glutamine (Gibco BRL)과 10 mML ascorbic acid (Sigma, St. Louis, MO, USA)를 첨가한 배지에 옮겨서 37℃, 5% CO_2의 습윤 항온기에서 4 - 7일간 배양하였다. 48시간 후부터 2 - 3일에 한번씩 배지를 교체하여 주었으며, 부착되지 않는 부유물들은 배지 교체 시 함께 씻어내었다. 바닥에 부착된 세포가 80% confluency를 보일 때 Trypsin-EDTA (CORNING Inc., N.Y., USA)로 세포를 분리시킨 후 1/4씩 나누어 동일한 방법으로 10계대까지 배양하며 연구준비를 하였다.

3. 계대 배양에 소요된 시간 관찰

과잉치 유래 치수세포에서 처음 1차 배양을 마친 세포들을 1계대라고 정의하고, 이후 1계대부터 10계대까지 배양을 하였다. 각 계대의 세포가 100 mm^2 Disc의 80% confluency를 이룰 때 다음 계대로 넘어가는 것을 반복하는 동안 걸린 시간을 실험을 진행하는 동안 동일 실험자에 의해 판단하고 기록하였다(Fig. 2).

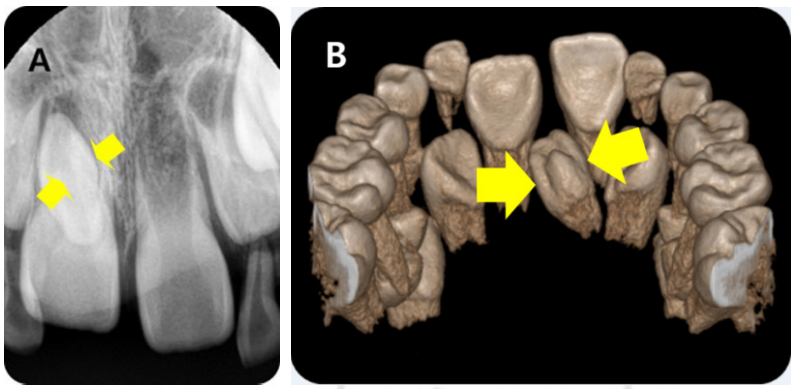

Fig. 1. A: Radiographic view of supernumerary tooth (arrows), B: Supernumerary tooth detected on 3D-CT(arrows).

www.kci.go.kr

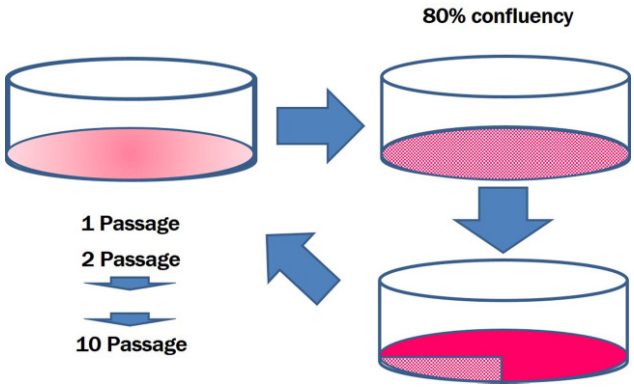

Fig. 2. The diagram of the process of subculture.

4. 통계분석(Statistical Analysis)

sDPSCs의 계대 배양에 소요된 시간을 남, 여 성비에 따를 차이와, 정위와 역위의 맹출 방향에 따른 차이, 그리고 원뿔형과 결절형의 형태에 따른 차이를 알아보고자 SPSS (version 23.0; Chicago, USA) 프로그램을 이용해 Mann-Whitney U test ($p < 0.05$)로 통계 분석하였다.

Ⅲ. 연구 성적

총 17개의 치수조직으로부터 얻은 세포를 2 - 3일에 한 번씩 배지를 교환하며 10계대까지 진행하였다. 각 계대가 배지의 70 - 80% confluency를 이룰 때 광학현미경으로 세포의 형태를 관찰하고 사진을 촬영하였다. 세포는 광학현미경 상에서 방추형이거나 혹은 섬유모세포와 유사한 형태로 방향성을 가지고 증식하는 양상이 관찰되었고 계대가 증가할수록 세포질 부분이 넓어지는 양상을 보였다(Fig. 3).

17개 샘플의 나이, 성별, 방향, 형태 그리고 계대 배양에 소요된 시간을 Table 1에 정리하였다. 1계대를 완성하는데 소요된 시간은 3 - 6일 사이로 평균 4.53 ± 0.94일이었다. 이후 2계대에서 10계대까지는 평균 2.73 ± 0.32일이 소요되었다. 전체 10계대까지 소요된 시간은 약 29일 이었으며, 평균 2.91 ± 0.29일이었다.

각 계대를 넘어가는 데 소요되는 시간의 평균과 표준편차를 구해 막대그래프로 나타내었다(Fig. 4). 1계대를 제외하고 전반적으로 3일 이내의 시간이 소요되었으며, 7계대 이후 약간 증가하는 듯하였으나 비교적 일정하였다.

남자의 평균 배양시간은 2.81 ± 0.27일이었고, 1계대를 제외한 나머지 9계대의 평균은 2.62 ± 0.28일 이었다. 여자의 경우 2.98 ± 0.29일이었으며, 2계대에서 9계대 사이의 평균은 2.81 ± 0.34일이었다. 남자가 다소 빠른 듯 보였으나, 통계

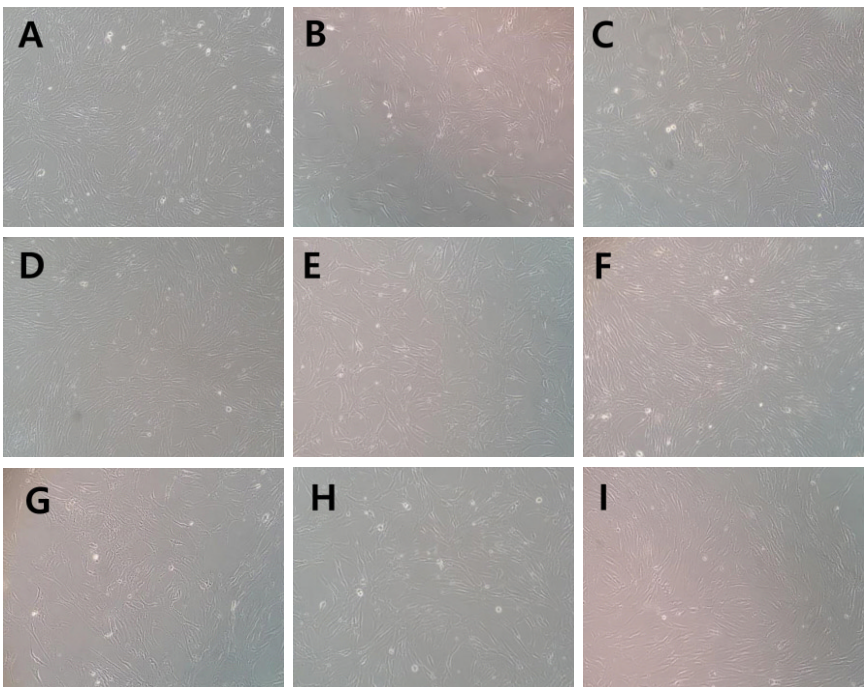

Fig. 3. Morphology of supernumerary dental pulp stem cells (sDPSCs) at 2 - 10 passage. The confluency of cells is about 80%. The shape is similar with fibroblast. The cells are bipolar or multipolar, have elongated shapes and grow attached to a substrate. A: 2 passage, B: 3 passage, C: 4 passage, D: 5 passage, E: 6 passage, F: 7 passage, G: 8 passage, H: 9 passage, I: 10 passage. Original magnification: ×40.

www.kci.go.kr

Table 1. The classification and time for passaging of the supernumerary tooth

Sample	Age	Gender	Direction	Shape	1P	2P	3P	4P	5P	6P	7P	8P	9P	10P	1p - 10p	2p - 10p
SNT01	7	M	Invert	Conical	6	3	3	3	2	2	3	3	3	2	3.00	2.67
SNT02	6	M	Invert	Conical	4	3	2	2	3	2	2	3	2	2	2.50	2.33
SNT03	6	F	Invert	Conical	6	3	2	3	2	2	3	2	3	2	2.80	2.44
SNT04	8	M	Invert	Conical	4	4	3	2	3	2	3	3	4	2	3.00	2.89
SNT05	9	M	Invert	Conical	4	2	3	2	3	2	2	4	3	2	2.70	2.56
SNT06	7	M	Invert	Conical	4	3	2	2	3	3	4	4	3	3	3.10	3.00
SNT07	6	F	Invert	Conical	4	2	3	2	2	2	2	2	2	2	2.30	2.11
SNT08	5	F	Normal	Tubercle	3	2	3	2	3	4	1	4	2	2	2.60	2.56
SNT09	7	M	Invert	Tubercle	5	2	2	3	3	2	3	3	3	5	3.10	2.89
SNT10	7	F	Invert	Conical	5	3	3	2	3	2	4	3	3	2	3.00	2.78
SNT11	6	M	Invert	Conical	4	2	4	2	3	3	4	3	3	2	3.00	2.89
SNT12	7	M	Invert	Conical	4	2	4	2	3	3	4	3	3	2	3.00	2.89
SNT13	7	M	Invert	Conical	4	4	4	6	4	3	3	3	3	2	3.60	3.56
SNT14	9	F	Normal	Supplementary	4	3	4	3	2	2	4	3	3	2	3.00	2.89
SNT15	7	F	Invert	Conical	4	1	3	3	3	4	2	3	4	3	3.00	2.89
SNT16	5	F	Invert	Conical	6	3	3	3	2	2	3	3	3	2	3.00	2.67
SNT17	7	M	Normal	Tubercle	6	3	2	3	2	2	3	2	3	2	2.80	2.44
Average					4.53	2.65	2.94	2.65	2.71	2.47	2.94	3	2.94	2.29	2.91	2.73
Standard Deviation					0.94	0.79	0.75	1.00	0.59	0.72	0.90	0.61	0.56	0.77	0.29	0.32

SNT: supernumerary tooth, M: male, F: female, P: passage

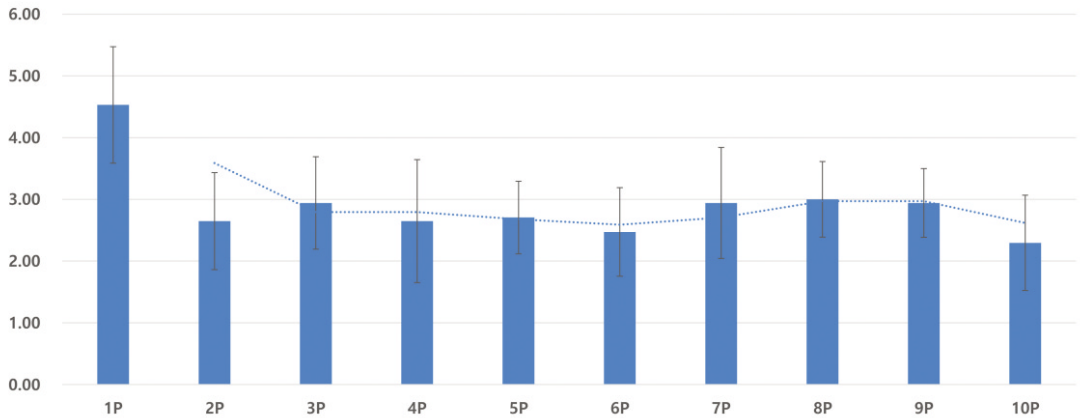

Fig. 4. The graph shows duration time of passage and inner bar means standard deviation. The first passage took over 4 days and the other passages took around 3 days. P: passage.

적 유의차는 없었다($p > 0.05$).

남, 여의 성비는 남자 58.82%, 여자는 41.18% 였다. 위치에 따른 비율은 역위된 치아가 82.35% 이고, 정위된 치아는 17.65%였다. 치아의 형태에 따른 비율은 원뿔형은 76.47% 였고, 결절형은 23.53% 였다(Fig. 5).

계대 배양에 걸린 평균 시간을 막대그래프로 나타내었다. 각 군간에 유의차이는 없었다($p > 0.05$). 정위치로 존재하는 군에서 계대 배양에 소요된 평균 시간은 2.94 ± 0.30일이었으며 1계대를 제외한 2계대에서 10계대 사이의 평균 소요 시간은 2.75 ± 0.34일이었다. 전체 10계대에 소요된 시간은 약 29일이었다. 역위된 군에서의 평균 시간은 2.80 ± 0.20일이었으며, 1계대를 제외한 경우 2.59 ± 0.75일이었다. 이 군에서 전체 소요시간은 28일이었다. 두 군 사이의 통계적이 유의성은 없었다($p > 0.05$).

www.kci.go.kr

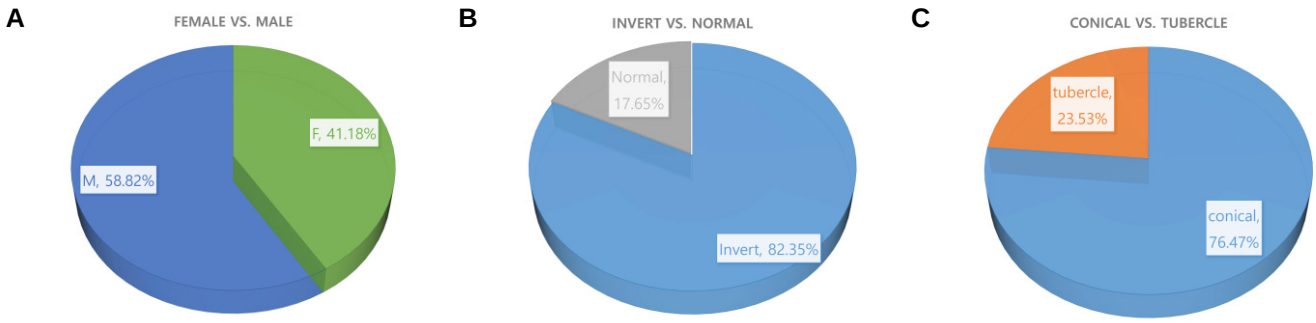

Fig. 5. A: The graph shows ratio of female and male. B: The graph shows ratio of invert and normal. C: The graph shows ratio of conical and tubercle.

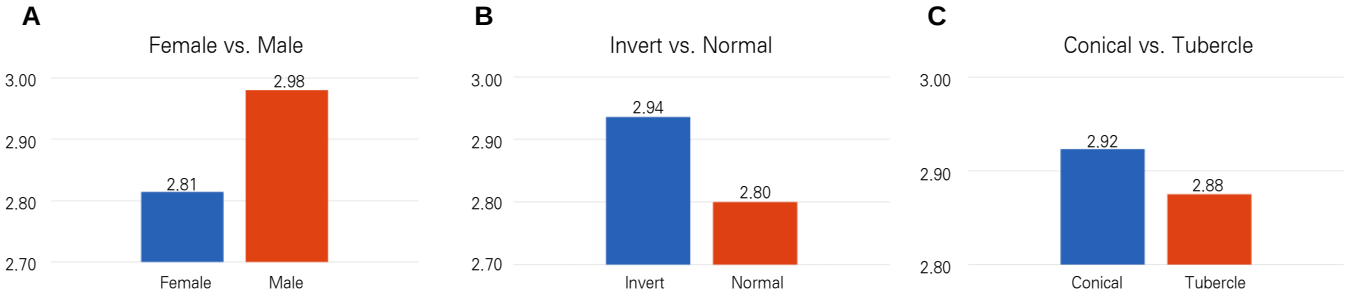

Fig. 6. A: The graph shows average passaging time of female and male. B: The graph shows average passaging time of invert and normal. C: The graph shows average passaging time of conical and tubercle.

과잉치의 형태에 따른 계대 배양 시간은 원뿔형 군에서는 2.92 ± 0.31일이었고, 1계대를 제외하면 2.74 ± 0.36일이었다. 전체 10계대까지 소요된 시간은 약 29일이었다. 결절형 군에서는 2.88 ± 0.22일이었으며, 1계대를 제외한 경우 2.69 ± 0.23일이었다(Fig. 6). 전체 10계대까지의 시간은 약 29일이었다. 두 군 사이의 통계적이 유의성은 없었다($p > 0.05$).

Ⅳ. 총괄 및 고찰

본 연구의 목적은 과잉치 치수로부터 얻은 줄기세포의 계대 배양 동안 소요되는 시간을 알아보고자 하는 것이었다. 과잉치 유병율은 0.15 - 3.4%로 다양하게 보고 되었다[13,14]. 남녀 성비에서는 남자가 여자에 비해 많이 발생한다는 점은 공통적이었다.

과잉치의 발생에 관한 이론으로는 처음에는 3개 절치를 가진 영장류로의 회기라고 생각한 Atavism이 제안되었지만[15], 이후, 치배가 분리되어 나온 것이라는 dichotomy theory 이론이 제안되었고[16], 세 번째로는 dental lamina의 독립적이고 국소적인 과활성으로 인해 발생하였다는 이론이 가장 많은 지지를 받고 있다[15,17-19]. 유전적 요소나 유전자에 의한 영향에 관해서는 아직까지도 잘 알려지고 있지 않다. Sedano and Gorlin은[20] autosomal dominant inheritance with lack of penetrance를 따른다고 하였으나 근거가 불명확하였고, 남녀의 성비에서 남자에게서 2배이상 많이 발생한다는 점이 sex-linked inheritance 이라고 여겨지기도 하였다[21].

Primosch는 과잉치를 크게 두 가지로 분류하였다[22]. Supplemental form은 형태와 크기가 보통의 치아와 유사한 것으로 주로 측절치에 존재하는 경우이며, rudimentary form은 다시 원뿔형(Conical form), 결절형(tuberculated form), 구치형(molariform)으로 나누었고 이 중 결절형이 인접치의 문제를 가장 많이 일으킨다고 하였다. 원뿔형이 가장 흔한 형태이고 주로 한 개, 상악 중절치 사이에 존재하며 이 경우를 정중과잉치(mesiodens)라고 하고 만약 양측성으로 존재할 경우 mesiodentes라고 한다[23,24]. 원뿔형 과잉치는 대개 독립적으로 하나만 존재하지만 결절형 과잉치는 양측성으로 존재하는 경우가 흔하다[17,25].

계대 배양 기간이 증가하면 자가 증식 능력은 증가하고 전분화능은 감소하는 특징이 있다[26-28]. 백 등[29]은 계대 배양 시간이 4일 이상 증가할 경우 자가발생적 분화가 증가한다고 하였다. 따라서 계대 배양에 소요되는 시간이 적게 걸린다면 자가발생적 분화로 인한 전분화능이 감소하는 것을 줄일 수 있다고 사료

www.kci.go.kr

된다.

이번 연구에서 과잉치 치수조직으로부터 유래한 세포의 계대 배양에 소요된 시간은 2.91 ± 0.29 일이었다. Min 등[30]이 사랑니의 계대 연구에서 5 - 7일 정도가 소요된 것과 비교할 때 동일한 치수조직으로부터 얻은 세포라면 훨씬 효율적이라고 사료된다. 계대 배양을 위해서는 2 - 3일에 한 번씩 media를 교환해 주어야 하는데, 배양시간이 2 - 3일 이내라는 것은 배지를 교환하면서 다음 계대로 바로 전환할 수 있으므로 배양액의 교환으로 생길 수 있는 오염가능성과 실험 비용을 줄일 수 있다. 또한 10계대까지 진행하는 데 소요된 전체 시간이 30일 정도이기에 연구에 필요한 충분한 재료를 얻을 수 있기에 부족한 성체 줄기세포의 공급원을 고려할 때 장점이 될 수 있다고 사료된다.

최초 치수조직으로부터 세포를 얻고서 80% confluency를 얻는데 소요되는 시간이 4.53 ± 0.94일로 가장 많이 걸렸고 이후 계대부터는 2.73 ± 0.32일이 소요되었다. 전체 평균은 2.91 ± 0.29일이었다. 1계대를 제외한 2계대부터 10계대까지 소요된 시간은 2.73 ± 0.32일로 3일을 넘지 않았다. 남녀간의 계대 배양 시간의 차이도 2.81 ± 0.27일과 2.98 ± 0.29일로 유의차가 없었다. 역위된 경우와 정위된 경우의 비교에서도 2.94 ± 0.30일과 2.90 ± 0.20일로 차이를 보이지 않았다.

Di Biase[17]의 연구에서 원뿔형 과잉치는 독립적으로 하나만 존재하지만 결절형 과잉치의 경우 양측성으로 존재하는 빈도가 높다고 하여 형태에 따른 특성이 있을 수 있다고 사료되지만, 계대 배양시간의 연구에서는 원뿔형과 그 외의 형태를 비교할 때 각각 2.92 ± 0.31일과 2.98 ± 0.22일로 유의차를 보이지 않았다.

단순히 계대 배양 시간으로만 성별, 맹출 방향 그리고 형태에 따른 차이를 비교해 보는 것은 한계가 있지만 과잉치를 sDPSCs의 공급원으로 이용한 연구를 진행하면서 각각의 특성이 계대 배양시간에는 차이를 주지 않음을 이해하였고, 향후 유전자 연구를 통해 추가 연구가 이뤄진다면 sDPSCs의 장점이 부각될 수 있으리라 사료된다.

Ⅴ. 결 론

과잉치 치수로부터 얻은 세포를 10계대까지 배양하는 동안 소요된 시간을 비교한 결과 평균 2.91 ± 0.29일이 소요되었다. 과잉치의 분류에 따른 배양시간에 차이는 없었다. 남녀의 차이에 따른 배양시간의 차이도 없었다. 역위된 과잉치과 정위된 과잉치의 배양시간 차이도 없었다.

3일 이내의 계대 배양 시간이 소요된 점을 고려할 때, 연구의 효율성과 빠른 배양시간 등은 과잉치 유래세포가 치아유래 줄기세포의 연구에 활용가능성이 충분하리라 판단된다.

향후 초기 계대와 후기 계대에서 얻어진 세포의 줄기세포로써의 능력을 평가하는 후속 연구들이 필요하며, 이를 통해 후기 계대세포의 활용이 세포의 공급원 확대에 기여할 수 있으리라 사료된다.

References

1. Gardiner J : Supernumerary teeth. *Dent Pract*, 12: 63-73, 1961.
2. Luten Jr JR : The prevalence of supernumerary teeth in primary and mixed dentitions. *J Dent Child*, 34:346-353, 1967.
3. Zilberman Y, Malron M, Shteyer A : Assessment of 100 children in Jerusalem with supernumerary teeth in the premaxillary region. *ASDC J Dent Child*, 59: 44-47, 1991.
4. Hyun HK, Lee SJ, Lee SH, *et al.* : Clinical characteristics and complications associated with mesiodentes. *J Oral Maxillofac Surg*, 67:2639-2643, 2009.
5. Huang AH, Chen YK, Lin LM, *et al.* : Isolation and characterization of dental pulp stem cells from a supernumerary tooth. *J Oral Pathol Med*, 37:571-574, 2008.
6. Gronthos S, Mankani M, Brahim J, *et al.* : Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) in vitro and in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 97: 13625-13630, 2000.
7. Miura M, Gronthos S, Zhao M, *et al.* : SHED: stem cells from human exfoliated deciduous teeth. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 100:5807-5812, 2003.
8. Aly LAA : Stem cells: Sources, and regenerative therapies in dental research and practice. *World J Stem Cells*, 7:1047, 2015.
9. Hayflick L : The limited in vitro lifetime of human diploid cell strains. *Exp Cell Res*, 37:614-636, 1965.
10. Lindroos B, Maenpaa K, Ylikomi T, *et al.* : Characterisation of human dental stem cells and buccal mucosa fibroblasts. *Biochem Biophys Res Commun*, 368:329-335, 2008.
11. Mitalipova MM, Rao RR, Hoyer DM, *et al.* : Preserving the genetic integrity of human embryonic stem cells. *Nat Biotechnol*, 23:19-20, 2005.
12. Oh SK, Kim HS, Park YB, *et al.* : Methods for expansion of human embryonic stem cells. *Stem Cells*, 23:605-609, 2005.
13. Brook AH : Dental anomalies of number, form and size: their prevalence in British school children. *J Int Assoc Dent Child*, 5:37-53, 1974.
14. Kim JB, Kim JS, Park JE : The incidence of mesiodens. *J Korean Acad Pediatr Dent*, 34:646-650, 2007.
15. Levine N : The clinical management of supernumer-

www.kci.go.kr

ary teeth. *J Can Dent Assoc,* 28:297-303, 1961.
16. Thoma KH : Oral surgery, 5th ed. Mosby, 43:42-45, 1969.
17. Di Biase D : Midline supernumeraries and eruption of the maxillary central incisor. *Dent Pract Dent Rec*, 20:35, 1969.
18. Sykaras SN : Mesiodens in primary and permanent dentitions: report of a case. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, 39:870-874, 1975.
19. Weber F : Supernumerary teeth. *Dent Clin North Am*, 509-510, 1964.
20. Sedano HO, Gorlin RJ : Familial occurrence of mesiodens. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, 27: 360-362, 1969.
21. Bruning LJ, Dunlop L, Mergele M : A report of supernumerary teeth in Houston, Texas school children. *J Dent Child*, 24:98-105, 1957.
22. Primosch RE : Anterior supernumerary teeth-assessment and surgical intervention in children. *Pediatr Dent,* 3:204-215, 1981.
23. Foster TD, Taylor GS : Characteristics of supernumerery teeth in the upper central incisor region. *Dent Pract Dent Rec,* 20:8-12, 1969.
24. Javinen S : Supernumerary and congenitally missing permanent upper anterior teeth in seven year old Finnish children. *Proc Finn Dent Soc,* 72:99-102, 1976.
25. Moss JP : An orthodontic approach to surgical problems. *Am J Orthod*, 68:363-390, 1975.
26. Rosler ES, Fisk GJ, Ares X, *et al.* : Long term culture of human embryonic stem cells in feeder free conditions. *Dev Dyn*, 229:259-274, 2004.
27. Ko JY, Park CH, Koh HC, *et al.* : Human embryonic stem cell derived neural precursors as a continuous, stable, and on demand source for human dopamine neurons. *J Neurochem*, 103:1417-1429, 2007.
28. Park YB, Kim YY, Oh SK, *et al.* : Alterations of proliferative and differentiation potentials of human embryonic stem cells during long-term culture. *Exp Mol Med*, 40:98-108, 2008.
29. Baek JA, Kim HS, Seol HW, *et al.* : Efficient culture method for early passage hESCs after Thawing. *Korean J Reprod Med*, 36:311-319, 2009.
30. Min JH, Ko SY, Cho YB, *et al.* : Dentinogenic potential of human adult dental pulp cells during the extended primary culture. *Hum Cell,* 24:43-50, 2011.

www.kci.go.kr

국문초록

과잉치 분류에 따른 치수유래줄기세포 계대 배양 시간의 연관성

신요섭 · 김종빈 · 김종수

단국대학교 치과대학 소아치과학교실

본 연구는 상악 매복 과잉치를 가지고 전신질환 및 의과 병력이 없는 만 5 – 9세 사이의 남녀 20명으로부터 서면동의를 얻고 상악 전치부에 매복된 과잉치를 발치하고 치수세포를 채취하였다. 채취 후 세포의 1차 배양 동안 오염된 3명(남자 2명, 여자 1명)을 제외하고 총 17명(남자 10명, 여자 7명)을 대상으로 하였다. 이번 연구에서 과잉치 치수조직으로부터 유래한 세포의 계대 배양에 소요된 평균 시간은 2.91 ± 0.29일이었다. 최초 치수조직으로부터 세포를 얻은 후 80% confluency를 얻는데 소요되는 시간이 4.53 ± 0.94일로 가장 많이 걸렸고, 이후 계대부터는 2.73 ± 0.32일이 소요되었다.

남자의 비율은 58.82%, 여자의 비율은 41.18%이었다. 여자의 평균 소요시간은 2.81 ± 0.27일 이었으며, 남자는 2.98 ± 0.29이었다.

과잉치가 역위된 비율은 82.35%, 정위 비율은 17.65%였다. 평균 계대 소요 배양 시간은 역위가 2.94 ± 0.30일, 정위는 2.80 ± 0.20일이었다. 원뿔형(Conical type)은 76.47%였고, 그 외 형태는 23.53%였다. 원뿔형의 평균 소요시간은 2.92 ± 0.31이었고, 그 외 형태의 소요 시간은 2.88 ± 0.22이었다. 매복 방향과 형태에 따른 계대 배향 시간은 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았다.

향후 초기 계대와 후기 계대에서 얻어진 세포의 줄기세포로써의 능력을 평가하는 후속 연구들이 필요하며, 3일 이내의 계대 배양 시간이 소요된 점을 고려할 때, 연구의 효율성과 빠른 배양시간 등은 과잉치 유래세포가 치아유래 줄기세포의 연구에 활용가능성이 충분하리라 판단되었다.

주요어: 과잉치, 줄기세포, 분류, 계대 배양

www.kci.go.kr