

KAJ FRIED, professor, Centrum för Oral Biologi, Novum Karolinska Institutet, Huddinge
MIKAEL WENDEL, odont dr, Centrum för Oral Biologi, Novum Karolinska Institutet, Huddinge

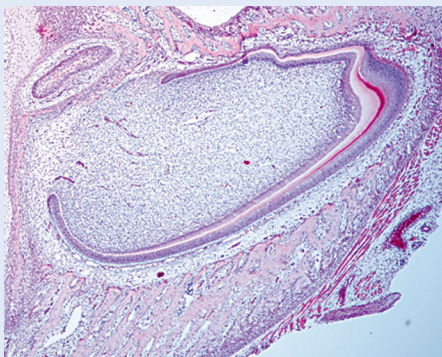
Stamceller

– nya möjligheter för odontologin?

◉ Stamceller finns från det tidigaste fosterstadiet, så kallade embryonala stamceller, till vuxen ålder, så kallade adulta stamceller.

Även om vägen dit kan verka lång så kan embryonala eller adulta stamceller komma att kunna skapa nya möjligheter att reparera odontologiska vävnadsförluster. Tack vare att så mycket nu är känt om odontogenesens olika stadier framstår det som fullt tänkbart att kunna påverka stamceller till att välja en odontologisk livsbana.

I takt med att kunskapen om både odontogenesen och stamcellsteknologin ökar öppnar sig också möjligheter att skapa nya tänder.



Bilden visar ett tandanlag i känen. Från tandpulpan kan man isolera stamceller som kan utdifferentieras till dentinbildande celler, nervvävnad och fettvävnad.

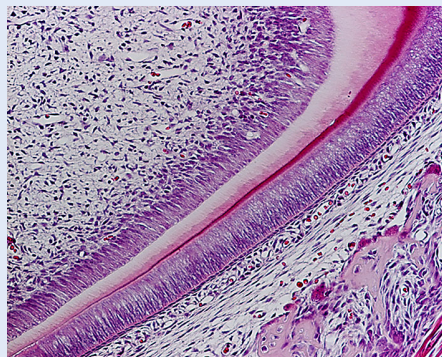


FOTO: MAGNUS KLINGE

Vävnader som kan ersättas av stamceller: benvävnad (längst till höger), emalj (det kraftigt röda området), dentin och pulpa.

ACCEPTERAD FÖR PUBLICERING 5 MARS 2003

Vuxna stamceller finns i många vävnadstyper och spelar en viktig roll för kroppens normala funktion och reparationsförmåga. Nya fynd har visat på möjligheten att dessa celler har en långt större utvecklingspotential än man trott, med förmåga att bilda vävnad också av andra slag än den de ursprungligen kom ifrån. En än mer kraftfull utvecklingskapacitet har embryonala stamceller, som åtminstone teoretiskt, kan bilda vilken vävnadstyp som helst. Dessa upptäckter har under senare tid gett stort hopp åt medicinen, eftersom de kan leda till helt nya behandlingsmetoder av tillstånd som exempelvis Alzheimers sjukdom, Parkinsons sjukdom, diabetes, hjärtsvikt, stroke, ledförslitning och ryggmärgsskador.

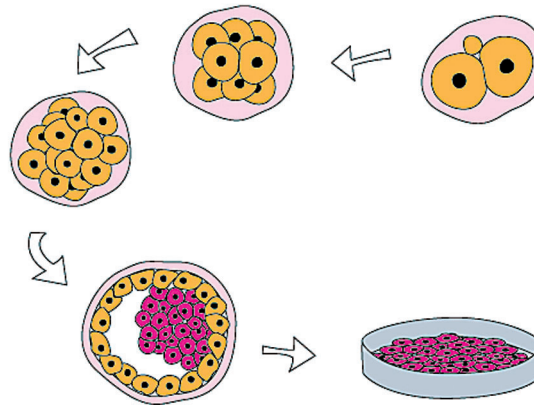
Vad betyder dessa medicinska framsteg för behandlingen av orala skador och sjukdomstillstånd? Nyligen beskrev forskare vid National Institutes of Health (NIH) i Washington att den vuxna människans tandpulpa innehåller stamceller som har förmåga att bilda dentin-producerande odontoblaster. Andra amerikanska forskare säger sig ha lyckats skapa tandkronor med både emalj och dentin kring en pulpa genom att utvinna och bearbeta vad som antas vara stamceller från tandanlag. I England har ett bioteknikföretag bildats som avser att framställa färdiga tänder från embryonala stamceller. Stamcellsterapi och ”tissue engineering”, alltså regenerering av skadad eller förlorad vävnad, skulle kunna revolutionera behandlingen av exempelvis pulpala och parodontala skador.

Vad är egentligen en stamcell?

Det finns faktiskt ingen fullständigt klar definition på vad en stamcell är. Som en formell, om än inte exakt beskrivning, kan man ändå ge tre kriterier för stamcellen:

- 1) den är inte slutligt utmognad (differentierad)
- 2) den kan fortsätta att dela sig i oändlighet (eller åtminstone motsvarande en livslängd), även om delningshastigheten kan vara olika
- 3) när stamcellen delar sig har varje dottercell två möjligheter: den kan antingen förbli en stamcell, eller fortsätta mot att bli specialiserad till en viss typ av vävnadscell [1, 16, 20].

Stamceller finns från det tidigaste fosterstadiet till, som det visat sig, vuxen ålder. Embryots stamceller ger upphov till våra vävnader genom mycket komplicerade och förfinade utvecklingsmekanismer. Hos barn och vuxna finns sedan stamceller överallt i kroppen för att ersätta differentierade celler som inte själva kan dela sig såsom hudstamceller för huden, tarmstamceller för tarmepitelet, hematopoetiska stamceller i benmärgen för blodet med mera. Det finns olikheter mellan embryonala och vuxna stamceller men principiellt har de



FIGUR 1. Det befruktade ägget har delat sig och går från 2-cellsstadium (överst, höger) via 8- och 16-cellsstadiet till en så kallad blastocyst inom loppet av fyra dagar. Embryonala stamceller från den inre cellmassan i blastocysten (rosafärgade celler) kan tas ut, odlas under laboratoriebetingelser och senare fås att utvecklas till exempelvis nervceller, muskelceller, leverceller, benceller eller pulpaceller (modifierad från referens 1).

mycket gemensamt när det gäller frågor bland annat om vilka faktorer som bestämmer om stamcellen ska dela sig eller vila, om den ska ge upphov till en viss sorts specialiserad cell eller en ny stamcell, eller om den ska generera en helt annan typ av specialiserad cell.

Embryonala stamceller kan utvecklas till alla celltyper

Embryonala stamceller (ES) finns i det helt nybildade embryot. Ett befruktat ägg kommer genom celldifferentiering att ge upphov till alla de celltyper som finns i embryot, fostret och den fullt utvecklade individen. Egenskapen att kunna differentiera till alla de celltyper som finns i kroppen kallas totipotens. Totipotensen kvarstår under några dygn hos det tidiga embryot. Efter några snabba celldelningsomgångar delas embryots celler upp i två typer som bildar en yttre och en inre cellmassa i blastocysten. Nu är dessa båda celltyper inte längre totipotenta eftersom de har börjat differentiera. De är dock fortfarande pluripotenta, vilket innebär att de fortfarande kan utmognas till nästan alla existerande celltyper. Cellerna från den inre cellmassan har fått namnet embryonala stamceller (ES). De kan tas från blastocysten och odlas i medium. När de separeras från sin normala omgivning på detta vis avstannar det program som normalt förändrar cellernas karaktär och gör att de mognar. Cellerna fortsätter att dela sig men växer utan att differentieras ytterligare och bevarar således sin pluripotens [1, 20] (fig 1).

ES tycks ha en enorm utvecklingspotential som man hoppas kunna utnyttja terapeutiskt. Cellerna kan tillföras skadade kroppsområden, mogna på plats och återge kroppsdelen en förlorad funktion. De kan också i odling bilda sammanhängande små vävnadsbitar av olika typer som kan utmognas till

regelrätta organtransplantat. Fortfarande återstår dock många problem att lösa innan dessa mål har uppnåtts. Dels finns en mängd tekniskt-vetenskapliga frågor att lösa som rör hur man bearbetar och manipulerar ES för att få dem att anta specifika utvecklingsvägar så att de bildar önskade celltyper. Dels finns den mycket betydelsefulla legal-etiska aspekten på att använda celler som härrör från aborterade foster [16].

Vuxna stamceller har en stor utvecklingspotential

Man har länge känt till att stamceller förekommer i många organ hos vuxna människor. Dessa celler kallas adulta eller vuxna stamceller. Som exempel kan nämnas hematopoetiska celler från den vuxna benmärgen som kan utvecklas till i stort sett alla typer av blodceller som finns [12, 21]. Vuxna stamceller delar sig utan begränsning men när de styrs mot differentiering är de i viss mån programmerade att utvecklas till den celltyp som finns i det organ från vilka de isoleras. Dessa celler har redan specialiserat sig så pass mycket att de bara kan bli till några få celltyper och kallas nu multipotenta. Under de allra senaste åren har dock vissa forskningsresultat pekat mot att vuxna stamceller har långt större utvecklingspotential än man tidigare trott och att de i själva verket kan fås att bilda många olika typer av celler [20]. Nya rön visar att det i benmärgen finns stamceller som kan bilda inte bara blodceller utan också ben, skelettmuskulatur, blodkärl och hjärtmuskulatur [2]. Stamceller i huden kan fås att gå mot en neuronal celltyp men kan också bli fettbildande celler eller glatta muskelceller [18]. Denna multipotenta egenskap gör att den vuxna stamcellen kan bli ett viktigt alternativ till ES för terapeutiska ändamål. Man behöver inte använda embryonalt material och undviker därmed de etiska problem som uppstår när fostervävnad ska tas ut. En fördel med adulta stamceller är också att avstöttningsrisken minskar om cellerna kommer från patienten själv (kroppsegna celler). Nackdelar finns dock. Dessa celler är "åldrade" i jämförelse med ES och mutationer (genförändringar) kan ha ansamlats i genomet vilket trol-



FIGUR 2. Vuxna stamceller, så kallade bone marrow stem cells, kan utvinnas från benmärg (överst). Under rätta betingelser i odlingskålar kan de drivas till att bli benbildande celler. Genom att så ut dessa i speciella matriser som sedan transplanteras till bedefekter hoppas man kunna regenerera ben och läka skador (modifierad från referens 1).

gen leder till en minskad livskraft. Sammantaget kan det förmodligen tänkas att alla typer av stamceller i framtiden kan komma att användas för olika typer av behandlingar. I en del fall kommer ES att vara mest ändamålsenliga och i andra fall kommer adulta stamceller att vara mest lämpade.

Hur kan stamceller användas i odontologisk terapi?

Även om vägen dit ännu så länge kan verka lång, kan embryonala eller vuxna stamceller komma att ge helt nya möjligheter att reparera odontologiska vävnadsförluster. Detta är ju ofta en central fråga vid behandling av defekter i käkben, alveolärt ben och tänder.

Stamcellstransplantat kan läka orala bedefekter

Kranio-faciala bedefekter uppstår vid en rad tillstånd som efter trauma, omfattande cancerkirurgi, infektioner och destruktiva benskador. I dag används olika transplantationsmetoder med autologt ben eller benersättningsmaterial för behandling men skadorna är ofta svåra att korrigera. Metoderna har ofta stora begränsningar och tekniska problem. Med hjälp av embryonala eller vuxna stamceller kan effektiva benbildande transplantat tas fram som ger en ännu bättre behandling¹¹. Om inte alltför svårtillgängliga vuxna stamceller finns för detta ändamål är det naturligtvis en fördel att kunna använda sådana. Man kan då ta dem från patienten själv och behöver inte få problem med immunologiska komplikationer. I annat fall kan ES vara en fullt framkomlig väg.

Redan nu finns en intressant vuxen stamcellskandidat för benbildning. Man har vetat att det i benmärgsstromat förutom de stamceller som ger upphov till blodceller finns en heterogen typ av cell vars uppgift det förmodligen är att reparera både frakturer och mindre defekter i benet. Cellerna kallas Bone Marrow Stromal Cells (BMSCs; andra namn är skelettstamceller eller mesenkymala stamceller) och kan utvecklas till både ben- och broskceller [10]. Dessa kan utvinnas och odlas i laboratoriemiljö (fig 2). Det är emellertid ingen trivial uppgift att verkligen få dessa celler att bilda ben. Om cellerna tillförs en vävnad, uppslammade i en cellmediesuspension eller som en klump, bildar de inte hårdvävnad. De behöver en organiserad omgivning för att kunna återskapa benets inre arkitektur. Med hjälp av en 3-dimensionell matris kan dock cellerna utveckla ben med tillhörande märkegrum. Olika material för sådana matriser har provats ut; bland annat syntetiska hydroxylapatit/trikalciumfosfater och polyglykol- och polyactid-syra. Man har också tillsatt benväxtstimulerande tillväxtfaktorer, som bone morphogenetic protein

(BMPs). Initiala resultat är lovande. Man har i prekliniska experiment odlat fram BMSCs, sått ut dem i matriser och transplanterat till skadat ben. I andra försök har matriser med en i förväg bestämd form som ska passa en viss defekt först transplanterats till mjukvävnad där de fått utvecklas och vaskulariseras. Därefter har de flyttats till det skadade benet. Med hjälp av stamcellsbaseerade transplantat har man på dessa sätt lyckats reparera ben-defekter som inte kunnat läka av sig själva och inte heller med hjälp av olika metoder som avses stimulera till lokal benbildning. Preliminära studier har också gjorts på människa, och kliniska prövningar ska inom kort påbörjas vid flera centra [2]. Det måste dock framhållas att mycket kunskap ännu saknas om vad som händer med dessa stamceller/transplantat på längre sikt.

Odontogenesen

– från stamceller till färdigt organ

Det framstår alltmer som möjligt att med hjälp av stamcellsterapi kunna reparera hårdvävnadsdefekter också i tänder, efter exempelvis pulpalesioner eller rotcementskador. Det blir kanske till och med möjligt att ersätta förlorade incisiver, premolarer eller molarer helt och hållet med ”artificiellt” nybildade tänder. En förutsättning för denna utveckling har varit de senaste 10–15 årens stora framsteg inom den odontologiska utvecklingsbiologin. Man har fått en relativt god bild av vilka genetiska signaler som styr initieringen av tandbildningen och den efterföljande morfogenesen.

Tänder bildas ur två principiellt olika celltyper på ytan av fostrets fronto-nasala utskott och på de maxillära och mandibulära utskotten: epitelceller och mesenkymala celler. De senare har migrerat till de blivande käkarna från neurallisten i det primitiva nervsystemet [3], som ju bildas av ett av fostrets primitiva cellager, ektodermet. De kallas därför ofta ektomesenkymala celler. De epiteliala celler som deltar i odontogenesen blir ameloblaster, som bildar emalj. De återstående delarna av tanden, alltså dentin, pulpa och periodontium, bildas från ektomesenkymet. Tandens genereras genom att epitelet på ytan av det som ska bli munhålan interagerar med de ektomesenkymala cellerna i bindväven i underliggande vävnadslager. Detta sker med hjälp av en rad olika signalsubstanser som utsöndras i strikt styrda sekvenser enligt ett genetiskt program [4, 17, 19]. Över 200 olika gener som deltar i odontogenesen har kartlagts. Som exempel kan nämnas hur lokalt begränsade uttryck av så kallade homeoboxgener, exempelvis sådana som tillhör grupperna *Dlx*, *Lhx* och *Gsc*, ansvarar för mönsterläggning för de blivande käkarna. Signalmolekyler som hör till Fibroblast Growth Factor (FGF)-, Bone Morphogenetic Pro-

tein (BMP)- Hedgehog och Wnt-gengrupperna inducerar regionalt uttryck i ektomesenkymet av andra gener som är viktiga för att tänder ska genereras och fortsätter att styra de processer som gör att tanden hamnar på rätt plats, blir av rätt typ och får rätt form. Många av tandbildningens gener kan studeras i en grafisk databas som gjorts tillgänglig på <http://bite-it.helsinki.fi>. Utan denna kunskap hade det varit omöjligt att ens spekulera i möjligheten att kunna skapa nya tandrelaterade vävnader ur multipotenta stamceller. Men i och med att så mycket nu är känt om odontogenesens olika stadier, framstår det som fullt tänkbart att kunna påverka stamceller till att välja en odontogen livsbana.

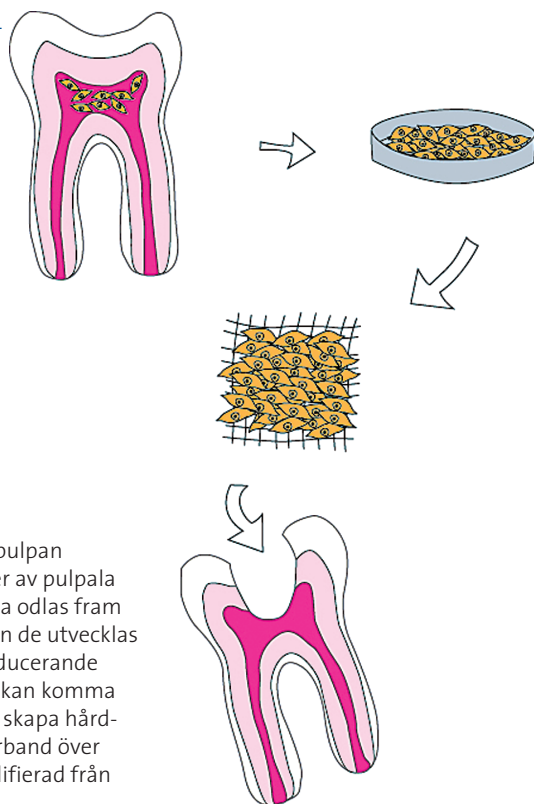
Stamceller kan regenerera dentin

Efter att tanden under den normala utvecklingen är färdigmineraliserad kvarstår en viss kapacitet till förnyad hårdvävnadsproduktion även hos en vuxen människa. Tandens pulpa har ju en reparativ förmåga. Sekundärdentinbildning kan läka en begränsad dentinskada. Dessutom fortgår en långsam deposition av dentin som reducerar pulpans storlek och ibland oblitererar den. Man har länge försökt förklara detta genom att anta att vissa, eller kanske alla pulpala bindvävsceller har möjlighet att utvecklas och omvandlas till dentinproducerande nya odontoblaster. En sådan omvandling skulle ske genom att specifika molekyllära signaler utgår från vävnaden när den skadas, som vid exempelvis en pulpalesion. Signalerna träffar bindvävscellerna och får dem att röra sig mot skadan och differentiera till att bli celler som mineraliserar. Inte förrän helt nyligen har man kunnat bekräfta denna teori, men nu med besked. Ur humana molarpulpor har man utvunnit en population med snabbt växande celler som möter de kriterier man kan ställa på stamceller. Cellerna har fått namnet DPSCs, vilket står för Dental Pulp Stem Cells [8, 9, 11].

När DPSCs odlas under laboratorieförhållanden kan de bilda starkt förkalkade öar i vävnadsskålar. Om de transplanteras tillsammans med hydroxylapatit/trikalciumfosfat under huden på möss, som behandlats för att inte avstöta dessa humana celler producerar de en dentin-pulpa-lik struktur. Dentinet i denna vävnad som bildas av stamceller som differentierat till odontoblast-lik celler innehåller en mineraliserad matrix. Hårdvävnaden uppvisar ett globulärt förkalkningsmönster som liknar det man ser hos primärdentin. Pulpan innehåller bindväv och bland cellerna i denna bindväv finns av allt att döma celler som behåller sin stamcellspotential. De kan transplanteras ytterligare en gång, differentiera och göra nya dentin-pulpa-komplex. En pulpal stamcell är dock inte alltid en

FOTNOT:

Många av tandbildningens gener kan studeras i en grafisk databas som gjorts tillgänglig på <http://bite-it.helsinki.fi>



FIGUR 3. Den vuxna pulpan innehåller olika typer av pulpala stamceller. Om dessa odlas fram i laboriemiljö kan de utvecklas till att bli dentinproducerande celler. Sådana celler kan komma att användas för att skapa hårdvävnadsbildande förband över en pulpaskada (modifierad från referens 1).

pulpal stamcell. Kartläggningar av olika primärt isolerade stammar av DPSCs visar att inte alla har exakt samma förmåga till proliferation och hårdvävnadsbildning, långt därifrån. Det tycks som om det finns en hierarki av sådana stamceller. En del är mycket primitiva och med närmast obegränsad potential, medan andra kanske redan har en påbörjad programmering för en viss typ av odontogen verksamhet. Mycket arbete återstår alltså innan pulpans stamcellsbiologi är kartlagd så att den kan utnyttjas i terapiesammanhang. I första hand kan DPSCs kanske användas för att bilda ny hårdvävnad över en dentinskada med blottad pulpa (fig 3). I långt högre grad än vad som i dag är möjligt med olika medikament som ska stimulera pulpan att mineralisera kan det ge nybildning av dentin och troligen också en mera normal bestående pulpa-dentinbarriär. Problem som återstår att lösa är först och främst frågan om vilka molekylära tekniker som ska användas för att få dessa celler att utvecklas mot en odontoblastliknande celltyp. Dessutom måste ett lämpligt sätt att deponera cellerna utprovas.

Cement har egna stamceller

Speciella celler som möter de kriterier som kan ställas på stamceller har också utvunnits från cement. Cellerna har fått namnet HCDCs (Human Cementum-Derived Cells). Likt BMSCs kan de fås att bilda mineraliserad vävnad, som uppvisar klara strukturella och biokemiska likheter med cement [6, 7]. Potentiellt kan HCDCs komma till användning i kliniska sammanhang exempelvis för att

läka rotskador eller för att behandla känsliga tandhalsar.

Levande implantat – realistisk vision eller utopi?

I takt med att kunskapen om både odontogenesen och stamcellsteknologin ökar, öppnar sig också möjligheten att skapa nya tänder. Det kan ske med hjälp av ES, eller med användning av DPSCs. Även här återstår mycket arbete både när det gäller cellmodifiering och lämpliga miljöer för att tänder ska utvecklas in vitro. Redan nu har man dock lyckats få ES att i kombination med odontogent epitel bilda tänder i prekliniska experiment. Ett bioteknikföretag har nyligen startats för att exploatera dessa fynd, och man arbetar där i syfte att få fram nya levande tandimplantat för att kliniskt ersätta förlorade tänder (se vidare <http://www.odontis.co.uk/>). Det är troligt att nyskapande av tänder med stamceller likt nybildning av ben kan behöva någon sorts matris. De celler som fått uppgiften att nybilda vävnaden behöver sannolikt hjälp med att rekonstruera vävnadens 3-dimensionella struktur. En sådan strategi har nyligen beskrivits experimentellt. Tandanlag från djurförsök sönderdelades till cellsuspensioner som man antar har ett rikt stamcellsinnehåll. Cellerna såddes ut i biologiskt nedbrytbara tandformade polymermatriser. Dessa transplanterades och fick växa i bukhinnan. Efter ungefär ett halvår hade de enligt uppgift bildat tandliknande strukturer med urskiljbart dentin, pulpa med odontoblast, rotanlag och också emalj [22]. Tanderna var dock mycket små, de följde inte riktigt matrisformen och representerar ännu så länge bara ett litet experimentellt steg mot vad som så småningom kan bli fullt fungerande tandtransplantat.

Kan pulpala stamceller användas för andra ändamål?

DPSCs har förutom sin förmåga att övergå till dentinbildande celler också möjlighet att differentiera till fettbildande celler, adipocyter och även till celler som har nervcellskaraktäristika. Det illustrerar deras multipotenta egenskaper och väcker frågan om pulpala stamceller kan användas för att rekonstruera inte bara tandrelaterad vävnad, utan också andra typer av vävnader/organ. Som beskrivits ovan bildas tandens pulpa av stamceller som vandrar till fostrets maxillar- och mandibularutskott från en del av det embryonala nervsystemet, nämligen neurallisten i hjärnstammen [3]. Det finns alltså en embryonal länk mellan pulpans celler och nervsystemets celler. De kommer från exakt samma vävnad. Bland DPSCs finns också många gener uttryckta som man normalt huvudsakligen förknippar med nervceller/gliaceller. I experimentella under-

FOTNOT 2: Ett bioteknikföretag där man arbetar i syfte att få fram nya levande tandimplantat för att kliniskt ersätta förlorade tänder har nyligen startats. Se vidare på <http://www.odontis.co.uk/>

sökningar har det noterats att pulpala celler har en mycket växtstimulerande inverkan på nervvävnad [5, 13–15]. Det är kanske inte omöjligt att DPSCs kan förmås att anta en neuronal inriktning och att de kan differentiera till nervliknande eller glialliknande celler. DPSCs kan kanske i så fall till och med användas för att reparera skador i nervsystemet. Fördelen med DPSCs är ju att de är relativt lättåtkomliga och kan utvinnas ur exempelvis en extraherad visdomstand. Denna tillgänglighet skulle kunna göra pulpala stamceller attraktiva för att ersätta nervvävnad. Kanske kan också andra vävnader bildas med hjälp av tekniker som påverkar DPSCs att välja olika alternativa utvecklingsbanor. Det är ett fascinerande framtidsscenario.

English summary

Stem cells

– new therapeutic possibilities in odontology?

Kaj Fried, Mikael Wendel

Tandläkartidningen 2002; 95 (7): 44–9

Embryonic stem cells have an extraordinary ability to form a large number of cell types. Stem cells with the potential to differentiate are also present in many adult tissues, and such cells have been used clinically for regeneration in the haematopoietic system and of skin and cornea. Recent reports have indicated that adult stem cells may have a much greater potential for differentiation than previously thought. The access to both embryonic and adult stem cells with high levels of plasticity has evoked hopes for new cell-based therapeutic regimens for debilitating human conditions like Alzheimer's disease, Parkinson's disease, stroke and diabetes. New findings have shown that different stem cell populations are also present in bone, cementum and in the dental pulp. Such cells are able to regenerate bone and its marrow, cementum, dentin and perhaps also periodontal ligament. Potentially, stem cells of either embryonic or adult origin could drastically improve the possibilities of repairing orofacial bone or teeth, and may even be used to regenerate new teeth. This field is still in its infancy and a series of scientific, technical and ethical problems remain to be solved. Despite this, some important and exciting possibilities seem to await down the road.

Referenser

1. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K and Walter P. Molecular biology of the cell. Garland Science, Taylor & Francis, New York, NY (4th ed) 2002.
2. Bianco P, Robey PG. Stem cells in tissue engineering. *Nature* 2001; 414: 118–21.
3. Chai Y, Jiang X, Ito Y, Bringas P Jr, Han J, Rowitch DH, Soriano P, McMahon AP, Sucov HM. Fate of the mammalian cranial neural crest during tooth and

- mandibular morphogenesis. *Development* 2000; 127: 1671–9.
4. Cobourne MT, Sharpe PT. Tooth and jaw: molecular mechanisms of patterning in the first branchial arch. *Arch Oral Biol* 2003; 1283: 1–14.
5. Fried K, Nosrat C, Lillesaar C, Hildebrand C. Molecular signaling and pulpal nerve development. *Crit Rev Oral Biol Med* 2000; 11: 318–32.
6. Grzesik WJ, Kuznetsov SA, Uzawa K, Mankani M, Robey PG, Yamauchi M. Normal human cementum-derived cells: isolation, clonal expansion, and in vitro and in vivo characterization. *J Bone Miner Res* 1998; 13: 1547–54.
7. Grzesik WJ, Narayanan AS. Cementum and periodontal wound healing and regeneration. *Crit Rev Oral Biol Med* 2002; 13: 474–84.
8. Gronthos S, Mankani M, Brahimi J, Robey PG, Shi S. Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) in vitro and in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 13625–30.
9. Gronthos S, Brahimi 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; 81: 531–5.
10. Krebsbach PH, Kuznetsov SA, Bianco P, Robey PG. Bone marrow stromal cells: characterization and clinical application. *Crit Rev Oral Biol Med* 1999; 10: 165–81.
11. Krebsbach PH, Robey PG. Dental and skeletal stem cells: potential cellular therapeutics for craniofacial regeneration. *J Dent Educ* 2002; 66: 766–73.
12. Lemischka IR, Raulet DH, Mulligan RC. Developmental potential and dynamic behavior of hematopoietic stem cells. *Cell* 1986; 45: 917–27.
13. Lillesaar C, Eriksson C, Fried K. Rat tooth pulp cells elicit neurite growth from trigeminal neurones and express mRNAs for neurotrophic factors in vitro. *Neurosci Lett* 2001; 308: 161–4.
14. Lillesaar C, Eriksson C, Johansson CS, Fried K, Hildebrand C. Tooth pulp tissue promotes neurite outgrowth from rat trigeminal ganglia in vitro. *J Neurocytol* 1999; 28: 663–70.
15. Nosrat IV, Widenfalk J, Olson L, Nosrat CA. Dental pulp cells produce neurotrophic factors, interact with trigeminal neurons in vitro, and rescue motoneurons after spinal cord injury. *Dev Biol* 2001; 238: 120–32.
16. Ringe J, Kaps C, Burmester GR, Sittlinger M. Stem cells for regenerative medicine: advances in the engineering of tissues and organs. *Naturwissenschaften* 2002; 89: 338–51.
17. Thesleff I, Mikkola M. The role of growth factors in tooth development. In: *Rev Cytol* 2002; 217: 93–135.
18. Toma JG, Akhavan M, Fernandes KJ, Barnabe-Heider F, Sadikot A, Kaplan DR, Miller FD. Isolation of multipotent adult stem cells from the dermis of mammalian skin. *Nat Cell Biol* 2001; 3: 778–84.
19. Tucker AS, Sharpe PT. Molecular genetics of tooth morphogenesis and patterning: the right shape in the right place. *J Dent Res* 1999; 78: 826–34.
20. Verfaillie CM. Adult stem cells: assessing the case for pluripotency. *Trends Cell Biol* 2002; 12: 502–8.
21. Weissman IL. Translating stem and progenitor cell biology to the clinic: barriers and opportunities. *Science* 2000; 287: 1442–6.
22. Young CS, Terada S, Vacanti JP, Honda M, Bartlett JD, Yelick PC. Tissue engineering of complex tooth structures on biodegradable polymer scaffolds. *J Dent Res* 2002; 81: 695–700.

Adress:
Kaj Fried och
Mikael Wendel,
Centrum för Oral
Biologi, Novum
Karolinska Institutet,
Box 4064,
141 04 Huddinge
E-post: Kaj.Fried
@cob.ki.se