

บทคัดย่อ (Abstract)

ภาษาไทย

แผนการวิจัยเรื่อง โครงการวิจัยบูรณาการด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อเพื่อการพัฒนากระดูกเทียม ระยะที่ 2 นี้ เป็นแผนงานวิจัยต่อเนื่องปีที่ 2 ของแผนงานวิจัยในระยะที่ 1 (ปีที่ 1) ซึ่งได้ทำการพัฒนาต้นแบบโครงเลี้ยงเซลล์กระดูกเทียมที่ผลิตจากชีววัสดุหลักในประเทศ 2 ชนิดคือ ไพโบรอนไหมไทย และไคโตซาน ซึ่งมีสมบัติทางกายภาพ (ฟิสิกส์) ทางกล ที่เหมาะสม รวมทั้งมีความเข้ากันได้ทางชีวภาพในระดับห้องปฏิบัติการต่อเซลล์กระดูก และเซลล์ต้นกำเนิด ในแผนงานนี้ได้ทำการพัฒนาต้นแบบโครงเลี้ยงเซลล์กระดูกทั้งสองชนิดอย่างต่อเนื่อง เพื่อให้สามารถนำไปทดสอบในมนุษย์ได้ในระยะที่ 3 โดยประกอบด้วยงานใน 3 โครงการย่อย ได้แก่ การทดสอบความเข้ากันได้ทางชีวภาพของโครงเลี้ยงเซลล์กระดูกเทียมในสัตว์ทดลอง การทดสอบความปลอดภัยในการใช้งานของโครงเลี้ยงเซลล์ตามมาตรฐานการทดสอบผลิตภัณฑ์ทางการแพทย์ที่มีในประเทศ และการพัฒนาเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพเพื่อการเพาะเลี้ยงเซลล์และวิศวกรรมเนื้อเยื่อกระดูก

ผลการทดสอบความเข้ากันได้ทางชีวภาพและการประเมินความสามารถในการสร้างกระดูกของกระดูกเทียมในสุนัขด้วยภาพถ่ายทางรังสีและทางจุลพยาธิวิทยา พบว่า โครงเลี้ยงเซลล์ชนิดที่มีไคโตซานเป็นส่วนประกอบหลักก่อให้เกิดปฏิกิริยาอักเสบที่รุนแรง และไม่ย่อยสลายภายหลังการปลูกถ่ายเป็นเวลา 4 เดือน ในขณะที่โครงเลี้ยงเซลล์ชนิดที่มีไหมไทยเป็นส่วนประกอบหลัก ก่อให้เกิดการอักเสบที่น้อยมาก และมีการแทรกของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันเข้าไปในโครงเลี้ยงเซลล์ พบกระดูกงอกใหม่ได้เร็วกว่าการใช้โครงเลี้ยงเซลล์ชนิดที่มีไคโตซานเป็นส่วนประกอบหลัก จากการส่งตรวจมาตรฐานเพื่อรับรองความปลอดภัยสำหรับผลิตภัณฑ์ทางการแพทย์ของสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) และการตรวจสอบความปลอดภัยโดยคณะผู้วิจัยเองตามมาตรฐาน ISO-10993 พบว่า โครงเลี้ยงเซลล์กระดูกเทียมที่ผลิตจากไหมไทยเป็นหลัก หรือ TSF-bone substitute ไม่เป็นพิษต่อสัตว์ทดลอง ไม่พบอาการระคายเคืองอย่างเฉียบพลัน รวมถึงไม่ก่อให้เกิดผื่นแดงและการบวมที่ผิวหนังของสัตว์ทดลอง ทั้งนี้โครงเลี้ยงเซลล์ที่ทำจากไคโตซานเป็นหลักมิได้ส่งตรวจความปลอดภัยเนื่องจากพบว่าทำให้เกิดการอักเสบอย่างรุนแรงจากผลการศึกษาในโครงการย่อยที่ 1 ส่วนผลการพัฒนาเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบไหลวนผ่าน เพื่อการเพาะเลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิดไขกระดูกบนโครงเลี้ยงเซลล์กระดูกเทียมในระดับห้องปฏิบัติการ พบว่าเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพที่ออกแบบสามารถส่งเสริมการเพาะขยายจำนวน และกระตุ้นเซลล์ต้นกำเนิดให้มีการเปลี่ยนแปลงเป็นเซลล์กระดูกได้ ซึ่งจะเป็นประโยชน์ด้านการศึกษาวิจัยเซลล์ และการรักษาที่มีการใช้เซลล์ต้นกำเนิด

ดังนั้นจึงสรุปได้ว่า โครงเลี้ยงเซลล์กระดูกเทียมชนิดที่มีไหมไทยเป็นส่วนประกอบหลัก มีความเข้ากันได้ทางชีวภาพในสัตว์ทดลอง มีความปลอดภัยในสัตว์ทดลอง ไม่ก่อให้เกิดการระคายเคือง และผื่นแดง ถือว่าเป็นโครงเลี้ยงเซลล์ที่มีศักยภาพในการพัฒนาต่อไปเพื่อนำมาใช้งานด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อกระดูก เพื่อสร้างเนื้อเยื่อกระดูกทดแทนด้วยต้นทุน ที่ต่ำกว่าต่างประเทศ

ภาษาอังกฤษ

The project on Multidisciplinary Researches in Tissue Engineering for Development of Bone Substitutes: Phase II is the continuous phase (second year) of the main project. In Phase I, two types of bone substitute scaffolds having suitable physical, mechanical and *in vitro* biological properties have been developed from mainly Thai silk fibroin and chitosan. In this Phase, two obtained scaffolds were further developed as divided into three subprojects: *in vivo* test of biocompatibility and bone formation, standard safety testing of Thai silk fibroin- and chitosan-based bone substitutes, and development of a bioreactor for cell culture and bone tissue engineering.

The results of radiographic evaluations and histopathological examinations on the biocompatibility of two types of scaffolds with bone implanted sites in dogs showed that chitosan based scaffold could profound the higher inflammatory responses to the surgical implanted site and the chitosan based scaffolds still remained after 4 months of implantation. Thai silk fibroin based scaffold showed the lower grade of inflammation and the penetration of fibrous tissue into the scaffold. The scaffold could not be grossly detected after 2 months of implantation. The results on the safety of the developed bone substitutes were obtained from the certified test by Thailand Institute of Scientific and Technological Research (TISTR) and in-house test according to ISO-10993. It was noticed that Thai silk-based bone substitute or TSF-bone substitute was not toxic to animals. There were no dermal irritation and skin erythema. However, chitosan-based scaffold was not tested for its safety due to high inflammatory responses observed in Subproject 1. From the development of an infused bioreactor for dynamic culture of bone marrow derived mesenchymal stem cells (MSC) on 3D scaffolds *in vitro*, it was found that the designed bioreactor was able to enhance the seeding, proliferation, and differentiation of stem cells which would benefit cell culture system for research and therapeutic purposes.

In conclusion, Thai silk fibroin based scaffold has good biocompatibility *in vivo*. It is not toxic and does not exhibit any irritation and skin erythema. Thai silk fibroin based scaffold has high potential to be further developed as a promising scaffold for bone tissue engineering. It could be used to repair bone defects with a lower cost than imported bone substitutes.

คำสำคัญ : ไฟโบรอินไหมไทย, กระดูกเทียม, วิศวกรรมเนื้อเยื่อกระดูก, การทดสอบความปลอดภัย, ความเข้ากันได้ทางชีวภาพ, เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพ (Thai silk fibroin, bone substitute, bone tissue engineering, safety test, biocompatibility, bioreactor)