

บทคัดย่อ

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

ส่วนที่ 1 รายละเอียดเกี่ยวกับโครงการวิจัย

ชื่อโครงการ (ภาษาไทย) โครงการวิจัยเพื่อพัฒนาโครงเลี้ยงเซลล์กระดูกเบ้าฟันในงานทันตกรรมรากเทียม

(ภาษาอังกฤษ) Research Project for Development Alveolar Bone Scaffold Used in Dental Implant

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยเพื่อพัฒนาเศรษฐกิจและสังคมด้วยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

ประจำปี 2551 จำนวนเงิน 1,563,500 (หนึ่งล้านห้าแสนหกหมื่นสามพันห้าร้อยบาท)

ระยะเวลาทำการวิจัย 1½ ปี ตั้งแต่ 1 ต.ค. 2551 ถึง 31 มี.ค. 2552

ส่วนที่ 2 บทคัดย่อ

การผ่าตัดฝังรากเทียมบริเวณกระดูกเบ้าฟันของกระดูกขากรรไกรเป็นที่ยอมรับ เนื่องจากมีลักษณะการใช้งานภายหลังการผ่าตัดใกล้เคียงธรรมชาติมากที่สุด อย่างไรก็ตามวิธีดังกล่าวมีข้อจำกัดในเชิงปริมาณและคุณภาพของกระดูกเบ้าฟัน อันหมายถึงอาจเกิดการสลายตัวของกระดูกขากรรไกรและมีการสลายตัวมากในปีแรกภายหลังการถอนฟัน การปลูกถ่ายกระดูกโดยใช้เนื้อเยื่อกระดูกของผู้ป่วยเองเข้ามามีบทบาทในการผ่าตัดฝังรากเทียมบริเวณกระดูกเบ้าฟันของกระดูกขากรรไกรแต่วิธีดังกล่าวต้องมีการผ่าตัดหลายครั้ง ซึ่งอาจก่อให้เกิดผลข้างเคียงภายหลังการผ่าตัด ผู้วิจัยจึงต้องการพัฒนาวัสดุอุดปิดความวิการของกระดูกเบ้าฟันภายหลังการถอนฟัน เพื่อลดการสลายตัวของกระดูกเบ้าฟัน หากประสบความสำเร็จจะเป็นประโยชน์ต่อการทันตแพทย์อย่างมาก ดังนั้นผู้ทำการวิจัยจึงพัฒนาโครงเลี้ยงเซลล์กระดูกเบ้าฟัน จากสารสกัดโปรตีนจากผิวหนัง เนื่องจากมีองค์ประกอบที่เป็นคอลลาเจนชนิดที่หนึ่งเช่นเดียวกับเนื้อเยื่อกระดูกโดยทำการทดสอบในสัตว์ทดลองโดยที่ผู้ทำการวิจัยได้เลือกที่จะใช้ Cranial Defect ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตรของหนูistar เป็น Model เนื่องจากเป็น Craniofacial bone เช่นเดียวกับกระดูกเบ้าฟันและแม้ว่ากระดูกจะเป็นอวัยวะที่มีกระบวนการสร้างซ่อมแซมได้เอง self regeneration organ แต่ Cranial Defect ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตรถือเป็น critical defect site ที่กระดูกไม่สามารถหายเองได้ตามธรรมชาติ มาฝังด้วยโครงเลี้ยงเซลล์ที่ขึ้นรูปจาก สารสกัดจากผิวหนัง

เปรียบเทียบกับ กลุ่มที่ขึ้นรูปจากสารสกัดจากผิวหนังที่ผสมผงกระดูก โดยผู้ทำการวิจัยยังได้ทำการทดลองฝังชิ้นงานที่ขึ้นรูปจาก bovine collagen type I และวัสดุมีขายในท้องตลาดได้แก่ CollaPlug®อีกด้วย หลังจากรอ 12 สัปดาห์ ผู้ทำการวิจัยได้ทำการเก็บตัวอย่างชิ้นงานนำมาวิเคราะห์ทางภาพถ่ายรังสีด้วย digital x-ray และ Dental CT ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่ามีการสะสมของแคลเซียมภายในรอยวิธีการของกะโหลกศีรษะหนู บริเวณที่ทำการศึกษาเฉพาะในกลุ่มที่ทำการฝังชิ้นงานที่เตรียมขึ้นจาก สารสกัดจากผิวหนังมนุษย์ และไม่พบการสะสมของแคลเซียมภายในรอยวิธีการของกะโหลกศีรษะหนู ในกลุ่ม CollaPlug® , collagen type 1 และ sham group โดยเมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของการเกิดการสะสมของแคลเซียมที่บริเวณกะโหลกศีรษะหนูที่ทั้งที่บริเวณขอบแผล และกลางแผลของกลุ่มสารสกัดจากผิวหนังเมื่อเปรียบเทียบกับ กลุ่ม Bovine collagen type I , Bovine collagen type I ผสม bone powder, และ Blank พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น $p < 0.05$ ทั้งสิ้นยกเว้นในกลุ่ม CollaPlug® และBovine collagen type I ที่เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของการเกิดการสะสมของแคลเซียมที่บริเวณกะโหลกศีรษะหนูที่บริเวณขอบแผล พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ในขณะที่สารสกัดจากผิวหนังที่ผสมผงกระดูกกลับพบการสะสมของแคลเซียมที่บริเวณกะโหลกศีรษะหนูที่บริเวณขอบแผลเพียงสองชิ้นงานและการสะสมของแคลเซียมที่บริเวณกะโหลกศีรษะหนูที่บริเวณกลางแผลเพียงหนึ่งชิ้นงาน แต่เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของการเกิดการสะสมของแคลเซียมที่บริเวณกะโหลกศีรษะหนูที่ทั้งที่บริเวณขอบแผล และกลางแผลของกลุ่มสารสกัดจากผิวหนังเทียบกับกลุ่มสารสกัดจากผิวหนังที่ผสมผงกระดูก พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%ที่บริเวณขอบแผล ($p = 0.429$) และ ที่บริเวณกลางแผล ($p = 0.143$) นอกจากนั้นนำชิ้นงานไปวิเคราะห์ผลทางจุลกายวิภาคศาสตร์พบว่า มีการสร้างกระดูกใหม่ชัดเจนภายในรอยวิธีการของกะโหลกศีรษะหนู บริเวณที่ทำการศึกษาเฉพาะในกลุ่มที่ทำการฝังชิ้นงานที่เตรียมขึ้นจาก สารสกัดจากผิวหนังมนุษย์ โดยพบว่าการสร้างกระดูกใหม่ดีที่สุดในกลุ่ม สารสกัดจากผิวหนังมนุษย์ และรองลงมาคือ สารสกัดจากผิวหนังมนุษย์ผสมผงกระดูกและไม่พบการสร้างกระดูกใหม่ในกลุ่มอื่น ๆ ที่เหลือพบว่าการเกิดเนื้อเยื่อกระดูกใหม่ที่บริเวณแผลกะโหลกของหนูของกลุ่มที่ฝังชิ้นงานที่ทำจากสารสกัดจากผิวหนังมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับกลุ่ม Bovine collagen type I, Bovine collagen type I + bone powder , CollaPlug® และ กลุ่มที่ไม่ได้ใส่ชิ้นงาน (Blank) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p = 0.029$) อย่างไรก็ตามเมื่อนำมาเปรียบเทียบกับกลุ่มสารสกัดผิวหนังผสมผงกระดูก กลับพบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p = 0.143$) แสดงให้เห็นว่ากระดูกที่เติมลงไป ไม่มีผลที่ดีกว่า กลุ่มที่ฝังชิ้นงานที่ขึ้นรูปจากสารสกัดจากผิวหนังอย่างเดียวซึ่งสามารถเหนี่ยวนำการสร้างกระดูกใหม่ได้ อย่างไรก็ตาม แม้ว่าโครงเลี้ยงเซลล์ที่ขึ้นรูปจากสารสกัดจาก

ผิวหนัง มีศักยภาพชัดเจนในการเหนี่ยวนำการกระดูกใหม่ได้ชัดเจนเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มอื่น ๆ แต่ยังไม่มากพอที่จะเหนี่ยวนำการสร้างกระดูกใหม่เพื่อซ่อมแซมรูโหว่โดยสมบูรณ์ ผู้ทำการวิจัยจึงมีข้อเสนอแนะให้มีการวิจัย และทำการศึกษาเพิ่มเติม โดยผสมสารกระตุ้นการเจริญเติบโตของกระดูก (BMP) กับ h-Dermal matrix และเปรียบเทียบการเกิด ectopic bone formation กับ DBM (Demineralized bone matrix) และทำการศึกษาการเปรียบเทียบกระบวนการสร้างกระดูก จากสารสกัดจากผิวหนังมนุษย์ที่มีการเพาะเลี้ยง MSC (mesenchymal stem cell) ใน scaffold และเหนี่ยวนำให้เป็นเซลล์กระดูกก่อน แล้วจึงนำไปฝังในสัตว์ทดลอง เทียบกับ กลุ่มที่ทำการฝังชิ้นงานที่เตรียมขึ้นจาก สารสกัดจากผิวหนังมนุษย์ไม่มี MSC โดยที่สามารถขยายประโยชน์การใช้งานได้ในทางการแพทย์อื่นได้ อาทิ ศัลยกรรมกระดูกและข้อ ศัลยกรรมตกแต่ง ศัลยกรรมช่องปากและใบหน้า

Abstract

Dental implant after tooth extraction is increasing popular today. Limitation of dental implant is depending on amount and quality of alveolar bone which is old tooth socket bony base of dental implant. Gold standard for reconstruction of tooth socket is autologous bone graft augmentation which cause donor site defect. Alternative reconstruction technique is bovine collagen type 1 sponge, bovine demineralized bone matrix which are not as good as gold standard technique. This study would like to develop novel scaffold which is made from human dermal matrix / human bone powder. h- Dermal matrix is mainly composed of collagen type 1 and well-known in many clinical application. Our study was focus on osteogenic induction potential of human dermal matrix scaffold compare to bovine collagen type 1(sigma) sponge, CollaPlug® (commercialized bovine collagen type 1 sponge) and sham group. 5 mm. Circular cranial defects in 4 weeks- female Wistar was developed then augmented with each type of scaffolds for 3 months. Animal were then sacrificed, digital dental x-ray, dental CT scan, and histological (H&E) study were investigated. The result show that there were partial calcification which histological demonstrated island of new bone formation in h- dermal matrix scaffold. There were no new bone formation in animals which were augmented cranial defect with collagen type 1 (sigma), CollaPlug®, and sham(blank) group. However, the new bone formation were partial formation, further study should be done more by modification with bone morphogenetic proteins(BMP) or mesenchymal stem cell. Our study could not demonstrate benefit of mixed h-bone powder. Collagen type 1 scaffold is widely accepted in bone tissue engineering. This study has shown better potential of scaffold from allogenic dermal matrix than collagen type 1 scaffold. H- Dermal scaffold is also have potential application in bone reconstruction in orthopedists and plastic & reconstructive surgery.

Objective: This study aimed to study the properties of the human dermal-extracted solution mixed with bone powder shaped into scaffold on the healing of rat's calvarial bone defects which are determined by radiopaque area in computed tomography (CT scan) and new bone formation in histological study.

Materials and methods: Dermal-extracted solution, dermal-extracted solution mixed with bone powder, bovine collagen type I, and bovine collagen type I mixed with bone

powder were structured into scaffolds and embedded into 24 female, aged between 12-14 weeks, wistar rats' calvarial bone defects. The rats were divided into 6 groups which were dermal-extracted solution, dermal-extracted solution mixed with bone powder, bovine collagen type I, bovine collagen type I mixed with bone powder commercial collagen product (CollaPlug®) and sham group. The rats were sacrificed 12 weeks after embedded. The calvarial bone defects were cut and examined with CT scan and Histological study

Results: CT scans showed no statistically differences in both periphery and center of bone defects between dermal-extracted solution and dermal-extracted solution with bone powder (peripheral $p=0.429$, central $p=0.143$.) However, from histological study, the bone formation of dermal-extracted solution group was significantly more than the other groups except the dermal-extracted solution mixed with bone powder. The bone formation of dermal-extracted solution group was not statistically different from the dermal-extracted solution mixed with bone powder group. No complete bone bridge was found in any defects.

Conclusion: Scaffolds from dermal-extracted solution and dermal-extracted solution mixed with bone powder both have osteoinductive property. However, bone powder did not improve the property of scaffolds.