



การศึกษาผลทางคลินิกของการใช้เทคนิควิศวกรรมแผ่นเซลล์เพื่อการทดแทนของอวัยวะปริทันต์: การทบทวนอย่างเป็นระบบและการวิเคราะห์อภิมาน

เอสเธระ ประทีปทองคำ น.บ., ว.น., Dr.med.dent.

สถาบันทันตกรรม กรมการแพทย์ ตำบลตลาดขวัญ อำเภอเมือง จังหวัดนนทบุรี 11000

Abstract: The Effect of Cell Sheet Engineering for Periodontal Tissue Regeneration in Clinical Studies: A Systematic Review and Meta-Analysis

Esthera Prateeptongkum, DDS., Dip., Dr.med.dent.

Institute of Dentistry, Department of Medical Services, Talad Khwan, Mueang Nonthaburi, Nonthaburi, 11000

(E-mail: salasuang@gmail.com)

(Received: April 13, 2020; Revised: May 16, 2020; Accepted: June 18, 2020)

Background: The ultimate goal of periodontal treatment is the regeneration of damaged periodontal tissue. Currently, cell sheets with “Cell Sheet Engineering Technology” were created for the alternative periodontal tissue regeneration. According to the easy fabrication and manipulation, the use of cell sheet technique offers more interesting in clinical setting. **Objective:** To quantitatively find out the effect of cell sheet technique for periodontal tissue regeneration in human. **Methods:** PubMed database was systematically searched for related articles, together with searching in Google scholar. They were all filtered for articles in English or Thai from 1990 to 2019. **Results:** Four articles, which are randomized control trials, clinical trials, and case series were accepted and extracted for meta-analysis. Data was calculated for weighted mean difference (WMD) at 95% CI and random effect model was used. The results showed that the cell sheet technique approach had positive results on clinical attachment level (WMD = -3.080 (95% CI -4.697 - (-1.464), p=0.000), probing depth (WMD = -4.545 (95% CI -5.621 - (-3.468), p=0.000), and bony defect depth (WMD = -4.020 (95% CI -4.873 - (-3.167), p=0.009). However, the data was high heterogeneity ($I^2=92.0\%$, $I^2=88.0\%$, and $I^2=74.0\%$). **Conclusion:** The result evidences suggest that the novel cell sheet technique benefits on periodontal regeneration. However, as less clinical trials and possible the risk of bias problems, the further higher quality researches are still required to prove the effectiveness of cell sheet engineering for periodontal tissue regeneration in clinical applications in the future.

Keywords: Periodontal treatment, Cell sheet engineering, Osseous defect, Meta-analysis

บทคัดย่อ

ภูมิหลัง: เป้าหมายสูงสุดของการรักษาโรคปริทันต์ คือ หวังผลให้เกิดการเจริญทดแทนของอวัยวะปริทันต์อย่างสมบูรณ์ ในปัจจุบันการใช้เทคนิควิศวกรรมแผ่นเซลล์ (cell sheet engineering) มาทำให้เกิดเป็นแผ่นเซลล์ต้นกำเนิดถูกพัฒนาขึ้นมาเพื่อเป็นทางเลือกในการรักษาโรคปริทันต์ เทคนิคนี้ได้รับความสนใจ เนื่องจากสามารถผลิตและนำไปใช้งานได้ง่ายกว่าวิธีวิศวกรรมเนื้อเยื่อแบบดั้งเดิม **วัตถุประสงค์:** เพื่อตอบคำถามในเชิงปริมาณด้วยการวิจัยอย่างเป็นระบบว่าผลทางคลินิกของการใช้เซลล์ต้นกำเนิดด้วยเทคนิควิศวกรรมแผ่นเซลล์เพื่อให้เกิดการเจริญทดแทนของอวัยวะปริทันต์ในมนุษย์เป็นอย่างไร **วิธีการ:** สืบค้นงานวิจัยที่

เกี่ยวข้องกับการรักษาดังกล่าวจากฐานข้อมูล PubMed อย่างเป็นระบบ และสืบค้นจาก Google scholar เลือกเฉพาะบทความภาษาอังกฤษหรือภาษาไทยตั้งแต่ปี ค.ศ. 1990 ถึงปี ค.ศ. 2019 **ผล:** บทความที่ได้รับการยอมรับมี 4 บทความที่เป็นการทดลองที่มีการควบคุม (randomized controlled trials) การวิจัยทางคลินิก (clinical trials) และรายงานผู้ป่วย (case series) ทั้ง 4 บทความได้นำมาวิเคราะห์อภิมานโดยรวบรวมผลลัพธ์ทางคลินิก มีตัวชี้วัด ได้แก่ ระดับการยึดเกาะของอวัยวะปริทันต์ (clinical attachment level) ร่องลึกปริทันต์ที่ (probing depth) และความลึกของรอยการได้สันกระดูกเข้าฟัน (bony defect depth) โดยนำข้อมูลมาเทียบกับข้อมูลก่อนเริ่มการรักษา นำมาหาค่า weighted mean difference

(WMD) ที่ช่วงความเชื่อมั่น 95% ผลการวิเคราะห์พบว่า การรักษาโรคปริทันต์ที่มีความพิการของกระดูกในกลุ่มที่ใช้เทคนิควิศวกรรมแผ่นเซลล์ ผลการวิเคราะห์ของระดับการยึดเกาะของอวัยวะปริทันต์ลดลง (WMD = -3.080 (95% CI -4.697 - (-1.464), p=0.000) ร่องลึกปริทันต์ลดลง (WMD = -4.545 (95% CI -5.621 - (-3.468), p=0.000) และปริมาณกระดูกเพิ่มขึ้น (WMD = -4.020 (95% CI -4.873 - (-3.167), p=0.009) แต่ข้อมูลขาดความเป็นเนื้อเดียวกันระดับสูง ($I^2=92.0\%$, $I^2=88.0\%$ และ $I^2 = 74.0\%$) **สรุป:** การวิเคราะห์นี้สนับสนุนว่าเทคนิควิศวกรรมแผ่นเซลล์มีผลให้เกิดการเจริญทดแทนของอวัยวะปริทันต์ อย่างไรก็ตามเนื่องจากยังมีการศึกษาที่มีจำนวนน้อย จำนวนกลุ่มตัวอย่างมีไม่มากนักและยังมีอคติอยู่บ้าง ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่จะต้องมีการศึกษาในทางคลินิกที่เป็นการศึกษาแบบสุ่มและมีกลุ่มควบคุมที่มีจำนวนมากขึ้นและมีคุณภาพสูงต่อไป เพื่อประเมินประสิทธิภาพของการใช้แผ่นเซลล์ต้นกำเนิดเพื่อการเจริญทดแทนของอวัยวะปริทันต์

คำสำคัญ: การรักษาโรคปริทันต์ วิศวกรรมแผ่นเซลล์ ความพิการของกระดูก วิเคราะห์ห่อภิมาณ

บทนำ

โรคปริทันต์ (periodontal disease) เป็นโรคภายในช่องปากที่สามารถเกิดขึ้นและพบได้ทั่วไปในมนุษย์ และเป็นสาเหตุทำให้เนื้อเยื่อต่างๆ ที่รองรับฟันถูกทำลาย ซึ่งเนื้อเยื่อเหล่านั้นได้แก่เหงือก (gingiva), กระดูกเบ้าฟัน (alveolar bone), เคลือบรากฟัน (cementum), และเอ็นยึดปริทันต์ (periodontal ligament) หากไม่ได้รับการรักษาที่เหมาะสมก็จะนำไปสู่การสูญเสียฟันในที่สุด¹ เป้าหมายหลักในการรักษาโรคปริทันต์อีกเสบคือทำให้เกิดการสร้างใหม่ (regeneration) ของอวัยวะที่สูญเสียไปทั้งหมด เพื่อให้กลับมา มีสภาพสมบูรณ์แข็งแรงสามารถใช้งานได้ปกติ ดังนั้นจึงได้มีการรักษาเพื่อมุ่งเน้นให้เกิดการสร้างใหม่ของอวัยวะปริทันต์รอบรากฟัน ซึ่งได้แก่ การชักนำให้เนื้อเยื่อคืนสภาพ (guided tissue regeneration; GTR) ที่ใช้กันโดยทั่วไปในปัจจุบัน โดยการใช้แผ่นเยื่อกัน (membranes) เพื่อเหนี่ยวนำให้เกิดการสร้างใหม่ของอวัยวะปริทันต์² อย่างไรก็ตาม ความสำเร็จในการทำ GTR ยังคงให้ผลการรักษาที่คาดหวังได้ยากในทางคลินิก เนื่องจากในความเป็นจริงเอ็นยึดปริทันต์ที่เหลืออยู่หลังจากการอักเสบติดขัดจากการเป็นโรคปริทันต์นั้นมีน้อย ความสามารถในการสร้างใหม่ของอวัยวะปริทันต์นั้นขึ้นกับปริมาณเซลล์เอ็นยึดปริทันต์ที่เหลืออยู่ในบริเวณรอยโรคด้วย³ จึงได้มีการพัฒนาการนำเซลล์ต้นกำเนิด (stem cell) มาปลูกถ่ายเพื่อการรักษาในบริเวณที่มีรอยโรคปริทันต์ ซึ่งในปัจจุบันนี้ได้รับความสนใจและถูกนำมาศึกษาค้นคว้ากันเป็นอย่างมาก⁴ มีการศึกษาที่พบว่าเซลล์ต้นกำเนิดจากอวัยวะปริทันต์ เหงือก ไชกระดูก เยื่อหุ้มกระดูก และเนื้อเยื่อไขมัน มีประสิทธิภาพ และสามารถคาดการณ์ผลในการรักษาให้เกิดการคืนสภาพเนื้อเยื่อปริทันต์ได้เป็นอย่างดี⁵ Langer⁶ ในปี ค.ศ. 1993 ได้เสนอ

แนวคิดในการรักษาโรคปริทันต์อีกเสบ โดยอาศัยหลักการของวิศวกรรมเนื้อเยื่อ (tissue engineering) ซึ่งอาศัยองค์ประกอบ 3 ประการคือ เซลล์ (cell) โมเลกุลส่งสัญญาณ (signaling molecules) และ โครงร่าง (scaffold) เพื่อหวังผลให้เกิดการสร้างเนื้อเยื่อใหม่ทดแทน ซ่อมแซม และคงสภาพเนื้อเยื่อหรืออวัยวะที่รับภัยอันตราย

การรักษาโรคปริทันต์โดยใช้เซลล์ต้นกำเนิดเพื่อกระตุ้นให้เกิดการสร้างอวัยวะปริทันต์ใหม่ด้วยหลักการทางวิศวกรรมเนื้อเยื่อ อาจแบ่งได้เป็นสองประเภทคือ การใช้เซลล์เพียงอย่างเดียว และการใช้เซลล์ร่วมกับชีววัสดุหรือวัสดุโครงร่าง⁵ โดยการศึกษาในช่วงแรกจะถูกแนะนำให้ใช้เซลล์ต้นกำเนิดร่วมกับวัสดุโครงร่าง (scaffold-based method) ตามหลักการทางวิศวกรรมเนื้อเยื่อที่ต้องอาศัยองค์ประกอบสามอย่าง ได้แก่ เซลล์ต้นกำเนิด (cell-based) วัสดุโครงร่าง (scaffolds) และโกรทแฟกเตอร์ (growth factors)⁷ แต่เนื่องจากวิธีนี้จะทำการปลูกถ่ายเซลล์ซึ่งเพาะเลี้ยงบนวัสดุโครงร่างไปที่ตำแหน่งรอยโรค ซึ่งประสิทธิภาพของการปลูกถ่ายนั้นจะขึ้นกับจำนวนของเซลล์และเทคนิคในการผลิตเซลล์ด้วย⁸ อีกทั้งยังอาจทำให้เกิดการตอบสนองต่อกระบวนการอักเสบในบริเวณที่ปลูกถ่ายจากการสลายตัวของวัสดุโครงร่าง ซึ่งจะส่งผลทำให้ประสิทธิภาพการรักษาลดลงได้⁹

Yamada¹⁰ ได้นำเสนอเทคนิคทางวิศวกรรมเนื้อเยื่อเพื่อปลูกถ่ายเซลล์ต้นกำเนิดแบบไม่อาศัยวัสดุโครงร่าง (scaffold-free tissue engineering approaches) โดยการใช้วิธีการเพาะเลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิดบนจานเพาะเลี้ยงที่เคลือบด้วยพอลิเมอร์ที่ตอบสนองต่ออุณหภูมิ (temperature-responsive culture dishes) ซึ่งเรียกเทคนิคนี้ว่า วิศวกรรมแผ่นเซลล์ (cell sheet engineering) วิธีการนี้จะทำให้ได้เซลล์ต้นกำเนิดที่มีลักษณะเป็นแผ่นเซลล์โดยจะมีการเก็บเกี่ยวเซลล์หลังจากเพาะเลี้ยงเซลล์ด้วยการลดอุณหภูมิลงจากเดิม 37 องศาเซลเซียส ให้เหลือประมาณ 20-32 องศาเซลเซียส ซึ่งการลดอุณหภูมิลงนี้จะทำให้พอลิเมอร์เปลี่ยนวัฏภาคจากเจลเป็นของเหลว และทำให้แผ่นเซลล์ถูกผลัดออกมาโดยที่โปรตีนไม่ถูกทำลาย^{10, 11}

ในการรักษาโรคปริทันต์อีกเสบโดยการสร้างเนื้อเยื่ออวัยวะปริทันต์ใหม่ทดแทน ได้มีการนำเทคนิควิศวกรรมแผ่นเซลล์มาใช้ในการศึกษา โดยทำการศึกษาในสัตว์ทดลอง (animal studies) ซึ่งมีการใช้เซลล์ต้นกำเนิดที่ได้ทั้งจากมนุษย์ หรือจากสัตว์ทดลองเอง ผลการศึกษพบการสร้างเนื้อเยื่อเจริญทดแทนของอวัยวะปริทันต์ และเกิดการสร้างเคลือบรากฟันใหม่ได้¹²⁻¹⁶ ต่อมาได้มีผู้นำเทคนิควิศวกรรมแผ่นเซลล์มาทำการศึกษาในทางคลินิก โดยการใช้เซลล์ต้นกำเนิดจากเนื้อเยื่อหุ้มกระดูกเบ้าฟัน (periosteum-derived cells) และเซลล์ต้นกำเนิดเอ็นยึดปริทันต์ (periodontal ligament stem cells) ไปปลูกถ่ายบริเวณฟันที่มีรอยโรคปริทันต์ หลังจากนั้นทำการประเมินผลทางคลินิกพบว่าร่องลึกปริทันต์ลดลง และพบการยึดติดของอวัยวะปริทันต์เพิ่มมากขึ้น เมื่อประเมินด้วยภาพถ่ายรังสี

ในช่องปาก พบมีลักษณะของการสร้างกระดูกเข้าฟันเพิ่มสูงขึ้นในบริเวณที่เคยมีรอยวิการได้สันกระดูก^{17, 18} ในปัจจุบันความก้าวหน้าทางด้านเทคโนโลยีวิศวกรรมแผ่นเซลล์เพื่อนำมาใช้ในการรักษาผู้ป่วยถูกพัฒนาขึ้นอย่างรวดเร็ว และกำลังได้รับความสนใจในการศึกษาค้นคว้าทางการแพทย์จากหลากหลายประเทศ อย่างไรก็ตามในปัจจุบันนี้การศึกษาทางคลินิก และการศึกษาเพื่อทำวิเคราะห์อภิมานเกี่ยวกับการใช้เทคนิควิศวกรรมแผ่นเซลล์เพื่อใช้ในการรักษาโรคปริทันต์ยังมีน้อยมาก จึงเป็นที่มาของการศึกษาวิจัยนี้ เพื่อต้องการศึกษาและรวบรวมหลักฐานทางวิชาการถึงผลทางคลินิกของการใช้เซลล์ต้นกำเนิดด้วยเทคนิควิศวกรรมแผ่นเซลล์เพื่อให้เกิดการเจริญทดแทนของอวัยวะปริทันต์ในมนุษย์

วัตถุประสงค์และวิธีการ

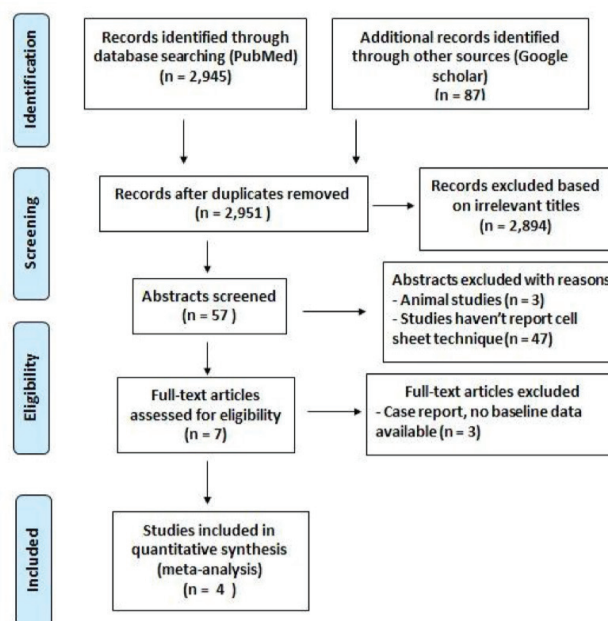
เก็บรวบรวมบทความจากฐานข้อมูล PubMed ด้วยวิธีการสืบค้นอย่างเป็นระบบ นำผลมารวมกับการสืบค้นจาก Google scholar โดยใช้ keyword ได้แก่ stem cell and cell sheet and periodontal regeneration นำมาเฉพาะบทความภาษาอังกฤษหรือภาษาไทยตั้งแต่ ปี ค.ศ. 1990 จนถึงปี ค.ศ. 2019 โดยเป็นรายงานวิจัยในมนุษย์ที่เป็นการทดลองแบบสุ่มที่มีกลุ่มควบคุม (randomized controlled trial) การวิจัยทางคลินิก (clinical trials) และรายงานผู้ป่วย (case series) ซึ่งมีการกำหนดแนวทางและระยะเวลาในการติดตามประสิทธิภาพอย่างน้อย 3 เดือน และมีการแสดงผลของการรักษาชัดเจน ระบุเป็นตัวชี้วัดทางคลินิก (clinical parameter) ได้แก่ ความลึกของร่องลึกปริทันต์ (probing depth; PD) หรือระดับการยึดเกาะของอวัยวะปริทันต์ (clinical attachment level; CAL) หรือความลึกของรอยวิการได้สันกระดูกเข้าฟัน (bony defect depth) จากภาพถ่ายรังสี

Inclusion criteria คือ ผู้ป่วยที่มีความวิการของอวัยวะปริทันต์ ซึ่งได้รับการรักษาโดยใช้เซลล์ต้นกำเนิดด้วยเทคนิควิศวกรรมแผ่นเซลล์ เพื่อการเจริญทดแทนของอวัยวะปริทันต์

Exclusion criteria คือ ผู้ป่วยที่มีความวิการของอวัยวะปริทันต์ ซึ่งได้รับการรักษาโดยใช้เซลล์ต้นกำเนิดด้วยเทคนิคอื่น

การทบทวนบทความผู้ทบทวน (reviewer) 2 คน อ่านบทความอย่างเป็นอิสระต่อกัน ตั้งแต่ขั้นตอนคัดเลือกชื่อเรื่องและเฉพาะบทความที่ผ่านเกณฑ์ทั้ง inclusion และ exclusion criteria ที่กำหนด สำเนาฉบับเต็มของบทความจะถูกนำมาประเมินตามขั้นตอนการทำวิจารณ์ (critical appraisal) ซึ่งประกอบด้วย การทบทวนบทความ การดึงข้อมูลจากบทความ และการประเมินคุณภาพของบทความต่อไป โดยการคัดเลือกเป็นอิสระต่อกัน หากความคิดเห็นที่ขัดแย้งระหว่างผู้ทบทวน 2 คน จะถูกแก้ไขโดยการอภิปรายและตกลงกันเป็นเอกฉันท์ (รูปที่ 1) นำผลลัพธ์ทางคลินิกและผลทางภาพถ่ายรังสี ดู clinical parameter ได้แก่ ระดับการยึดเกาะของอวัยวะปริทันต์ ความลึกของร่องลึกปริทันต์ และความลึกของรอยวิการได้สันกระดูกเข้าฟัน โดยกลุ่มทดลองเป็นกลุ่มที่ได้รับการรักษาโดยใช้เซลล์ต้นกำเนิดด้วยเทคนิควิศวกรรมแผ่นเซลล์ เปรียบเทียบกับข้อมูลก่อนเริ่มการรักษา (baseline data) ข้อมูลที่รวบรวมจะเป็นค่าเฉลี่ย (mean) และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation) ของแต่ละ clinical parameter

การประเมินคุณภาพของบทความที่ได้รับการยอมรับ โดยผู้ทบทวนทั้งสองคนอย่างเป็นอิสระต่อกัน จากนั้นผู้วิจัยประเมินคุณภาพของงานวิจัยตามแนวทางของ Methodological Index for Non-Randomized Studies (MINORS)¹⁹ การยอมรับคุณภาพบทความใช้ฉันทามติผู้ทบทวนทั้งสองคน และแสดงผลการประเมินออกงานวิจัย (ตารางที่ 1)



รูปที่ 1 ขั้นตอนวิธีการทบทวนอย่างเป็นระบบใน Prisma flow template

		A clearly stated aim	Inclusion of consecutive patients	Prospective collection of data	Endpoints appropriate to the aim of the study	Unbiased assessment of the study endpoint	Follow-up period appropriate to the aim of the study	Loss to follow up less than 5%	Prospective calculation of the study size	An adequate control group	Contemporary groups	Baseline equivalence of groups	Adequate statistical analyses	Total score (16/24)	Risk of bias
Chen	2016	2	2	2	2	2	2	1	2	2	2	2	1	22	L
Okuda	2013	2	2	2	2	2	2	0	1	N/A	N/A	N/A	N/A	13	L
Okuda	2009	2	2	2	2	1	2	2	0	N/A	N/A	N/A	N/A	13	L
Tamamiya	2008	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	24	L

0 = not reported; 1 = reported but inadequate; 2 = reported and adequate

Total = 16 for non-comparative studies and 24 for comparative studies:

12-16 or 20-24 report as low risk of bias (L), < 12 or < 20 report as high risk of bias (H)

ตารางที่ 1 การประเมินอคติงานวิจัย

การศึกษานี้อยู่ในรูปตัวแปรต่อเนื่อง ข้อมูลที่ได้ผลจาก clinical studies รายงานเป็นค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของ clinical parameter ของกลุ่มที่ได้รับการรักษาโดยใช้เซลล์ต้นกำเนิดด้วยเทคนิควิศวกรรมแผ่นเซลล์ การแสดงผลการวิเคราะห์อภิมานถูกนำมาคำนวณ pooled differential variation ของ clinical parameter ทั้ง 3 ตัว ได้แก่ ระดับการยึดเกาะของอวัยวะปริทันต์ ความลึกของร่องลึกปริทันต์ และความลึกของรอยวิธีการได้สันกระดูกเข้าฟัน โดยคำนวณ weighted mean difference (WMD) ที่ระดับความเชื่อมั่น (confidence interval) เท่ากับร้อยละ 95 ใช้ random effects models นำเสนอผลการรวมข้อมูล (pooled estimate) ในรูปกราฟ forest plot (รูปที่ 2A, 3A, และ 4A) การศึกษานี้ใช้ค่า Cochran statistic (Q-statistic) และค่า percentage of inconsistency index (I^2) เพื่อวัดความไม่เป็นเนื้อเดียวกัน (heterogeneity) นำเสนอผลด้วย Funnel plot (รูปที่ 2B, 3B, และ 4B) การวิเคราะห์นี้ใช้โปรแกรม STATA 11.2

ผล

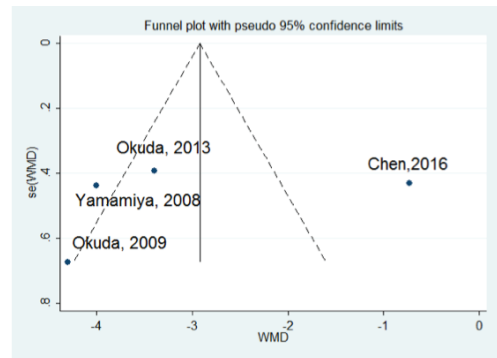
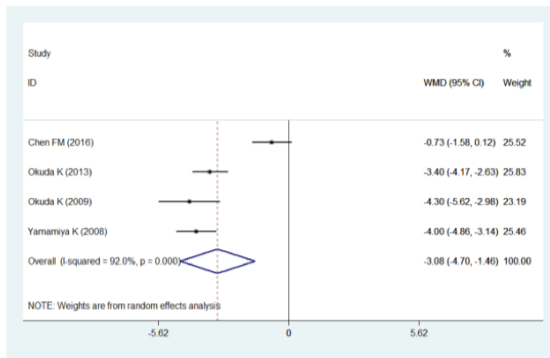
การสืบค้นข้อมูลอย่างเป็นระบบจาก PubMed ได้ 2,945 บทความ สืบค้นจาก Google scholar ได้ 87 บทความ ทำการคัดเลือกบทความที่ซ้ำกันออก เหลือเป็นจำนวนทั้งสิ้น 2,951 บทความ ผ่านการคัดกรองตามเกณฑ์ inclusion และ exclusion criteria ได้รับการยอมรับจากผู้ทบทวนเป็นเอกฉันท์จำนวน 4 บทความ โดยยอมรับบทความที่เป็น randomized control trial, clinical

study และ case series บทความที่ถูกคัดเข้ามานั้นมีขนาดตัวอย่างมากที่สุดคือ 30 คน และน้อยที่สุดคือ 3 คน (รูปที่ 1)

การประเมินอคติงานวิจัยทั้ง 4 การศึกษา พบว่า ทั้ง 4 การศึกษาได้รับการประเมินผลเป็น low risk of bias ตามหลักเกณฑ์การประเมินของ MINORS (ตารางที่ 1)

การทำวิเคราะห์อภิมาน จะนำผลของค่าเฉลี่ย (mean) และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ของ clinical parameter แต่ละตัวมาคำนวณโดยหาค่า weighted mean difference (WMD) ที่ช่วงความเชื่อมั่น 95% วิเคราะห์ตามรูปแบบ random effect model ซึ่งจากการรวบรวมการศึกษาในครั้งนี้มีเซลล์ต้นกำเนิดโดยเทคนิควิศวกรรมแผ่นเซลล์ที่ใช้การศึกษาคือ เซลล์เยื่อหุ้มกระดูกเข้าฟัน และเซลล์จากเอ็นยึดปริทันต์

ผลการวิเคราะห์ของระดับการยึดเกาะของอวัยวะปริทันต์ (clinical attachment level) การแปลผลการวิเคราะห์ เมื่อดูค่า $I^2=92.0\%$ และ $p=0.000$ สามารถแปลผลได้ว่า การศึกษาทั้ง 4 การศึกษาที่นำมารวมกันนั้นมีความต่างแบบปรากฏอย่างชัดเจน เมื่อดูผลรวมของขนาดอิทธิพล (effect size) นั่นคือ ค่า WMD มีค่าเท่ากับ -3.080 (95% CI $-4.697 - (-1.464)$, $p=0.000$) แปลผลได้ว่า กลุ่มทดลองที่มีการใช้เทคนิควิศวกรรมแผ่นเซลล์มีการเพิ่มการยึดเกาะของอวัยวะปริทันต์มากขึ้นเมื่อเทียบกับก่อนการรักษา แต่อาจจะยังไม่สามารถสรุปได้ เนื่องจากข้อมูลขาดความเป็นเนื้อเดียวกันสูง ($I^2=92.0\%$) และมีการศึกษาที่ยังไม่มากพอ (รูปที่ 2)

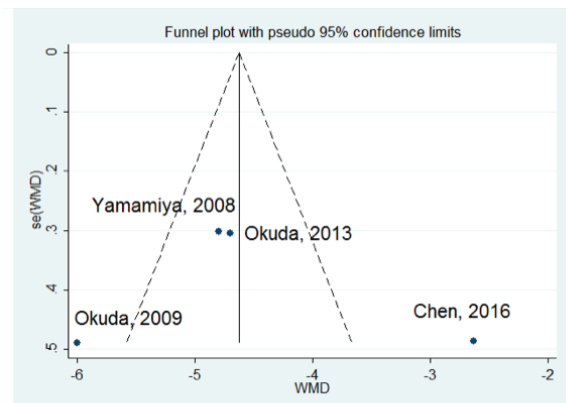
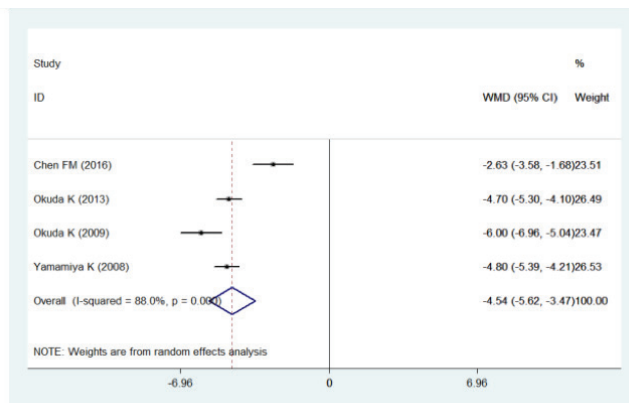


A) Forest plot จากค่า WMD ของระดับการยึดเกาะของอวัยวะปริทันต์ (CAL) **B) Funnel plot ระดับการยึดเกาะของอวัยวะปริทันต์ (CAL)**

รูปที่ 2 ผลของระดับการยึดเกาะของอวัยวะปริทันต์ (CAL)

ผลการวิเคราะห์ของร่องลึกปริทันต์ (probing depth) การแปลผลการวิเคราะห์ เมื่อดูค่า $I^2=88.0\%$ และ $p=0.000$ แปลผลได้ว่าการศึกษาทั้ง 4 การศึกษาที่นำมารวมนั้นมีความต่างแบบปรากฏอย่างชัดเจน เมื่อดูผลรวมของขนาดอิทธิพล (effect size) นั่นคือ ค่า WMD มีค่าเท่ากับ -4.545 (95% CI -5.621 – (-3.468),

$p=0.000$) แปลผลได้ว่ากลุ่มทดลองที่มีการใช้เทคนิควิศวกรรมแผ่นเซลล์มีร่องลึกปริทันต์ลดลง (probing depth reduction) เมื่อเทียบกับก่อนการรักษา แต่อาจจะยังไม่สามารถสรุปได้ เนื่องจากข้อมูลขาดความเป็นเนื้อเดียวกันสูง ($I^2=88.0\%$) และมีการศึกษาที่ยังไม่มากพอ (รูปที่ 3)



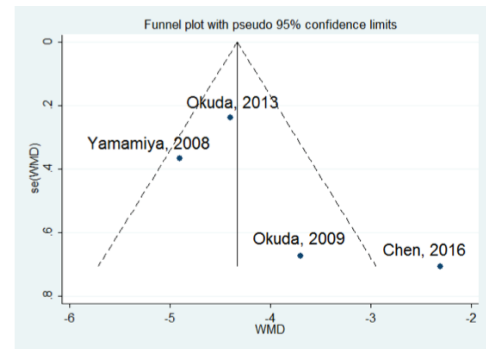
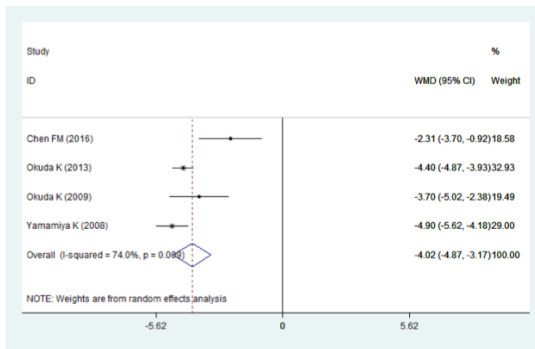
A) Forest plot จากค่า WMD ของร่องลึกปริทันต์ (PD)

B) Funnel plot ร่องลึกปริทันต์ (PD)

รูปที่ 3 ผลของร่องลึกปริทันต์ (probing depth)

ผลการวิเคราะห์ของความลึกของรอยการได้สันกระดูกเข้าฟัน (bony defect depth) การแปลผลการวิเคราะห์ เมื่อดูค่า $I^2=74.0\%$ และ $p=0.009$ สามารถแปลผลได้ว่า การศึกษาทั้ง 4 การศึกษาที่นำมารวมนั้นมีความต่างแบบค่อนข้างชัดเจน เมื่อดูผลรวมของขนาดอิทธิพล (effect size) นั่นคือ ค่า WMD มีค่า

เท่ากับ -4.020 (95% CI -4.873 – (-3.167), $p=0.009$) แปลผลได้ว่ากลุ่มทดลองที่มีการใช้เทคนิควิศวกรรมแผ่นเซลล์มีระดับความสูงของกระดูกเพิ่มขึ้น (bone fill) เมื่อเทียบกับก่อนการรักษา แต่อาจจะยังไม่สามารถสรุปได้ เนื่องจากข้อมูลขาดความเป็นเนื้อเดียวกันค่อนข้างสูง ($I^2=74.0\%$) และมีการศึกษาที่ยังไม่มากพอ (รูปที่ 4)



A) Forest plot จากค่า WMD ความลึกของรอยวิการได้สันกระดูกเข้าฟัน B) Funnel plot ความลึกของรอยวิการได้สันกระดูกเข้าฟัน (BD)

รูปที่ 4 ผลความลึกของรอยวิการได้สันกระดูกเข้าฟัน (bony defect depth)

วิจารณ์

เทคนิควิศวกรรมแผ่นเซลล์ (cell sheet technology) เป็นวิธีของวิศวกรรมเนื้อเยื่อที่เพาะเลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิดเพื่อให้ได้เซลล์ที่มีลักษณะเป็นแผ่น ทำให้มีปริมาณเซลล์ที่มากเพียงพอเพื่อนำไปปลูกถ่ายที่บริเวณรอยโรค²⁰ จากหลายการศึกษาพบว่า การนำเทคนิควิศวกรรมแผ่นเซลล์ (cell sheet engineering) มาใช้ร่วมกับเซลล์ต้นกำเนิดนั้น ทำให้การนำไปใช้งานในทางคลินิกง่ายขึ้น โดยลักษณะของแผ่นเซลล์ที่มีความหนาจะทำให้สามารถนำไปปลูกถ่ายในบริเวณที่ต้องการรักษาได้ง่าย สามารถคงอยู่ได้โดยไม่ต้องอาศัยวัสดุโครงร่าง และคงสภาพความมีชีวิตของเซลล์และจำนวนของเซลล์ได้เป็นอย่างดี²¹ มีการศึกษาหลายการศึกษาทั้งในสัตว์ทดลองและในทางคลินิกที่พบว่า การใช้เทคนิควิศวกรรมแผ่นเซลล์ สามารถนำมาใช้รักษาโรคปริทันต์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยเมื่อนำแผ่นเซลล์มาปลูกถ่ายในบริเวณที่จะทำการรักษา จะทำให้เนื้อเยื่อบริเวณดังกล่าวถูกซ่อมแซม และกลับมาทำหน้าที่ได้ดังเดิม²²

การศึกษาวิเคราะห์ห่อหุ้มกระดูกครั้งนี้ เป็นการศึกษาทางคลินิกถึงผลการใช้แผ่นเซลล์ต้นกำเนิดและปลูกฝังในบริเวณที่มีความวิการของอวัยวะปริทันต์ของตนเอง จากการรวบรวมข้อมูลพบว่า มีเซลล์ที่รวบรวมได้จากการศึกษานี้ ได้แก่ เซลล์จากเนื้อเยื่อหุ้มกระดูกเข้าฟัน จำนวน 3 การศึกษา^{17, 23, 24} และเซลล์จากเอ็นยึดปริทันต์จำนวน 1 การศึกษา²⁵ โดยการศึกษาที่รวบรวมมาประกอบไปด้วยการทดลองแบบสุ่มที่มีกลุ่มควบคุม (randomized controlled trial) การวิจัยทางคลินิก (clinical trials) และ รายงานผู้ป่วย (case series) ซึ่งมีการแสดงผลของการรักษาชัดเจน ระบุเป็นตัวชี้วัดทางคลินิก (clinical parameter) และมีการติดตามผลหลังการรักษาอย่างน้อย 3 เดือน จากการศึกษาทั้ง 4 การศึกษา ยังไม่พบว่ามีรายงานการเกิดอาการที่ไม่พึงประสงค์จากการใช้แผ่นเซลล์ดังกล่าว เช่นเดียวกับการศึกษาของ Iwata²⁶ ในปี ค.ศ. 2018 ที่ศึกษาการนำแผ่นเซลล์ของเอ็นยึดปริทันต์ไปรักษาบริเวณที่มีความวิการของกระดูกร่วมกับใช้เบต้าไตรแคลเซียมฟอสเฟต พบการลดลงของ

ร่องลึกปริทันต์ มีการยึดเกาะของอวัยวะปริทันต์เพิ่มขึ้น และจากภาพรังสีส่วนตัดคอมพิวเตอร์ (computed tomography) พบว่าการเพิ่มขึ้นของกระดูก อีกทั้งพบว่ามีความปลอดภัยและไม่พบผลอันไม่พึงประสงค์

ผลลัพธ์ที่นำมาวิเคราะห์ห่อหุ้มกระดูกจะนำผลลัพธ์ทางคลินิกจากการติดตามผลการรักษาครั้งสุดท้ายของแต่ละการศึกษาซึ่งเป็นระยะเวลาที่ต่างกัน จำนวนบทความที่นำมาวิเคราะห์ห่อหุ้มกระดูกทั้งหมด 4 บทความ ซึ่งเป็นการศึกษาที่มีการนำแผ่นเซลล์มาใช้รักษาความวิการของกระดูก (osseous defects) โดยทั้ง 4 บทความมีการวัดผลลัพธ์ของการยึดเกาะของอวัยวะปริทันต์ ร่องลึกปริทันต์ และความลึกของรอยวิการของกระดูกเข้าฟันจากภาพถ่ายรังสี จากการวิเคราะห์พบว่า หลังการรักษาด้วยเทคนิคการใช้แผ่นเซลล์ พบมีการเพิ่มขึ้นของการยึดเกาะอวัยวะปริทันต์ การลดลงของร่องลึกปริทันต์ และการเพิ่มความสูงของกระดูกเข้าฟัน เมื่อเปรียบเทียบกับก่อนการรักษา แต่เนื่องจากผลลัพธ์ที่ได้ั้น ข้อมูลขาดความเป็นเนื้อเดียวกันสูง ($I^2=92.0\%$, 88.0% , และ 74.0%) จึงควรมีการศึกษาทางคลินิกเพื่อดูผลลัพธ์ที่มากกว่านี้

เมื่อตรวจสอบอคติจากการพิมพ์ด้วยกราฟ funnel plot พบว่า กราฟที่ได้ไม่มีความสมมาตรกันในทุก 3 clinical parameter ซึ่งจะแสดงถึงภาวะที่มีอคติจากการตีพิมพ์ได้ โดยอาจจะเกิดจากการศึกษาที่มีความต่างแบบกัน จากกราฟจะพบว่าการศึกษาของ Chen²⁵ มีความต่างจากอีก 3 การศึกษา ซึ่งอาจเป็นไปได้ที่การศึกษาของ Chen²⁵ เป็นการศึกษาทดลองแบบสุ่มโดยใช้แผ่นเซลล์ต้นกำเนิดจากเอ็นยึดปริทันต์ของผู้ป่วยเองร่วมกับปลูกกระดูกสังเคราะห์จากวัว กลุ่มทดลองจะได้รับการรักษาโดยวิธีการชักนำให้เกิดเนื้อเยื่อคืนสภาพและแผ่นเซลล์ต้นกำเนิดเอ็นยึดปริทันต์ร่วมกับ Bio-oss ส่วนกลุ่มควบคุมใช้เฉพาะวิธีการชักนำให้เกิดเนื้อเยื่อคืนสภาพร่วมกับ Bio-oss พบว่าแต่ละกลุ่มมีการเกิดการสร้างกระดูกเพิ่มขึ้น ($p < 0.001$) อย่างไรก็ตามไม่พบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญของทั้งกลุ่มทดลองที่ใช้เซลล์และกลุ่มควบคุม ($p > 0.05$)

ในขณะที่อีก 3 การศึกษาเป็นการศึกษาที่ใช้แผ่นเซลล์เนื้อเยื่อหุ้มกระดูกเข้าพันร่วมกับการใช้เพรตเลทริกพลาสมา (platelet-rich plasma) และ ไฮดรอกซีอะพาไทต์ (hydroxyapatite) โดยผลการศึกษาพบว่าการใช้แผ่นเซลล์เนื้อเยื่อหุ้มกระดูกเข้าพันมีประสิทธิภาพในการรักษารอยโรคปริทันต์ของกระดูก ($p < 0.05$)^{17, 23, 24}

จากการทบทวนวรรณกรรมครั้งนี้ พบว่าจำนวนตัวอย่างของแต่ละการศึกษาและการศึกษาที่เป็นการทดลองแบบสุ่มที่มีกลุ่มควบคุมยังมีไม่มาก เนื่องจากการศึกษาในลักษณะนี้ทำได้ค่อนข้างยาก และมีข้อจำกัดในการทดลองมาก ดังนั้นการศึกษาที่นำมาศึกษาในมนุษย์ส่วนใหญ่จะเป็นรายงานผู้ป่วยหรือชุดรายงานผู้ป่วย และไม่มีกลุ่มควบคุม การวิเคราะห์ทางสถิติจึงใช้ผลลัพธ์จากการรักษาเปรียบเทียบกับรอยโรคก่อนเริ่มการรักษา

ข้อจำกัดเกี่ยวกับการสืบค้นข้อมูลในครั้งนี้ ได้แก่ บทความที่ได้มาจาก PubMed และ Google scholar เท่านั้น การศึกษาที่เป็นการทดลองแบบสุ่มหรือการศึกษาทางคลินิกยังมีน้อย และการศึกษารายงานสถานะเสร็จสมบูรณ์แต่ยังไม่สามารถหาข้อมูลฉบับเต็มได้ รวมถึงบางการศึกษาไม่แสดงข้อมูลทางคลินิกที่ชัดเจน โดยในการศึกษานี้มีเพียง 4 บทความที่ครบตามเกณฑ์ที่กำหนดไว้ใน inclusion และ exclusion criteria และยอมรับตามเกณฑ์เป็นเอกฉันท์จากผู้ทบทวน การศึกษาที่นำมาวิเคราะห์มีอคติวิจัยอยู่บ้างแต่ก็ยอมรับได้

สรุป

การรวบรวมข้อมูลเพื่อทำวิเคราะห์ห่อถักจากการศึกษาทั้งหมด 4 การศึกษา พบว่าการใช้เซลล์ต้นกำเนิดด้วยเทคนิควิศวกรรมแผ่นเซลล์ เพื่อทดแทนอวัยวะปริทันต์ พบการเพิ่มการยึดเกาะของอวัยวะปริทันต์ การลดลงของร่องลึกปริทันต์ และระดับของกระดูกที่เพิ่มขึ้น แต่อาจยังไม่สามารถสรุปได้ เนื่องจากข้อจำกัดความเป็นเนื้อเดียวกันสูง ข้อจำกัดของการศึกษานี้คือ จำนวนการศึกษาและจำนวนตัวอย่างของแต่ละการศึกษามีจำนวนน้อย ดังนั้นยังต้องมีการศึกษาทางคลินิกที่มีการออกแบบให้มีจำนวนตัวอย่างที่มากขึ้นและไม่มีอคติ การให้การรักษารอคปรทันต์โดยใช้เซลล์ต้นกำเนิดด้วยเทคนิควิศวกรรมแผ่นเซลล์ก็เป็นอีกหนึ่งทางเลือกเพื่อนำมารักษาโรคปริทันต์ ซึ่งทางเลือกการรักษาโดยวิธีวิศวกรรมแผ่นเซลล์และการใช้เซลล์ต้นกำเนิดร่วมด้วยควรจะต้องมีการรวบรวมผลวิจัยทางคลินิกที่มีคุณภาพเพื่อหาผลสรุปต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ อ.พญ.ทพญ. กรรณิกา ชูเกียรติมน สำหรับคำแนะนำการวิเคราะห์ผลทางสถิติ

References

1. Pihlstrom BL, Michalowicz BS, Johnson NW. Periodontal diseases. Lancet 2005;366:1809-20.
2. Melcher AH. On the repair potential of periodontal tissues. J Periodontol 1976;47:256-60.
3. Bartold PM, Gronthos S, Ivanovski S, Fisher A, Huttmacher DW. Tissue engineered periodontal products. J Periodontal Res 2016;51:1-15.
4. Xu XY, Li X, Wang J, He XT, Sun HH, Chen FM. Concise Review: Periodontal Tissue Regeneration Using Stem Cells: Strategies and Translational Considerations. Stem Cells Transl Med 2019;8:392-403.
5. Han J, Menicanin D, Gronthos S, Bartold PM. Stem cells, tissue engineering and periodontal regeneration. Aust Dent J2014; 59:117-30.
6. Langer R, Vacanti JP. Tissue engineering. Science 1993; 260:920-6.
7. Bartold PM, McCulloch CA, Narayanan AS, Pitaru S. Tissue engineering: a new paradigm for periodontal regeneration based on molecular and cell biology. Periodontol 2000. 2000; 24:253-69.
8. Lodi D, Iannitti T, Palmieri B. Stem cells in clinical practice: applications and warnings. J Exp Clin Cancer Res 2011; 30:9.
9. Chen FM, Shi S. Periodontal Tissue Engineering. Principles of Tissue Engineering; 2014.
10. Yamada N, Okano T, Sakai H, Karikusa F, Sawasaki Y, Sakurai Y. Thermo-responsive polymeric surfaces; control of attachment and detachment of cultured cells. Makromol Chem Rapid Commun 1990;11:571-6.
11. Okano T, Yamada N, Okuhara M, Sakai H, Sakurai Y. Mechanism of cell detachment from temperature-modulated, hydrophilic-hydrophobic polymer surfaces. Biomaterials 1995;16:297-303.
12. Akizuki T, Oda S, Komaki M, Tsuchioka H, Kawakatsu N, Kikuchi A, et al. Application of periodontal ligament cell sheet for periodontal regeneration: a pilot study in beagle dogs. J Periodontal Res2005;40:245-51.
13. Hasegawa M, Yamato M, Kikuchi A, Okano T, Ishikawa I. Human periodontal ligament cell sheets can regenerate periodontal ligament tissue in an athymic rat model. Tissue Eng 2005;11:469-78.
14. Flores MG, Hasegawa M, Yamato M, Takagi R, Okano T, Ishikawa I. Cementum-periodontal ligament complex regeneration using the cell sheet technique. J Periodontal Res2008;43:364-71.

15. Tsumanuma Y, Iwata T, Washio K, Yoshida T, Yamada A, Takagi R, et al. Comparison of different tissue-derived stem cell sheets for periodontal regeneration in a canine 1-wall defect model. *Biomaterials* 2011;32:5819–25.
16. Gaubys A, Papeckys V, Pranskunas M. Use of Autologous Stem Cells for the Regeneration of Periodontal Defects in Animal Studies: a Systematic Review and Meta-Analysis. *J Oral Maxillofac Res* 2018;9:e3.
17. Yamamiya K, Okuda K, Kawase T, Hata KI, Wolff LF, Yoshie H. Tissue-engineered cultured periosteum used with platelet-rich plasma and hydroxyapatite in treating human osseous defects. *J Periodontol* 2008;79:811–8.
18. Feng F, Akiyama K, Liu Y, Yamaza T, Wang T-M, Chen JH, et al. Utility of PDL progenitors for in vivo tissue regeneration: a report of 3 cases. *Oral Dis* 2010;16:20–8.
19. Slim K, Nini E, Forestier D, Kwiatkowski F, Panis Y, Chipponi J. Methodological index for non-randomized studies (minors): development and validation of a new instrument. *ANZ J Surg* 2003;73:712–6.
20. Washio K, Iwata T, Mizutani M, Ando T, Yamato M, Okano T, et al. Assessment of cell sheets derived from human periodontal ligament cells: a pre-clinical study. *Cell Tissue Res* 2010;341:397–404.
21. Kobayashi J, Kikuchi A, Aoyagi T, Okano T. Cell sheet tissue engineering: Cell sheet preparation, harvesting/manipulation, and transplantation. *J Biomed Mater Res A* 2019;107:955–67.
22. Iwata T, Washio K, Yoshida T, Ishikawa I, Ando T, Yamato M, et al. Cell sheet engineering and its application for periodontal regeneration. *J Tissue Eng Regen Med* 2015;9:343–56.
23. Okuda K, Kawase T, Nagata M, Yamamiya K, Nakata K, Wolff LF, et al. Tissue-engineered cultured periosteum sheet application to treat infrabony defects: case series and 5-year results. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2013;33:281–7.
24. Okuda K, Yamamiya K, Kawase T, Mizuno H, Ueda M, Yoshie H. Treatment of human infrabony periodontal defects by grafting human cultured periosteum sheets combined with platelet-rich plasma and porous hydroxyapatite granules: case series. *J Int Acad Periodontol* 2009; 11:206–13.
25. Chen FM, Gao LN, Tian BM, Zhang XY, Zhang YJ, Dong GY, et al. Treatment of periodontal intrabony defects using autologous periodontal ligament stem cells: a randomized clinical trial. *Stem Cell Res Ther* 2016; 7:33.
26. Iwata T, Yamato M, Washio K, Yoshida T, Tsumanuma Y, Yamada A, et al. Periodontal regeneration with autologous periodontal ligament-derived cell sheets - A safety and efficacy study in ten patients. *Regen Ther* 2018;9:38–44.