

รีเจนเนอเรทีฟ เอ็นโดดอนติกส์: รูปแบบ Cell-free และ Cell-based (Regenerative Endodontics: Cell-free and Cell-based Approach)

รัฐนันท์ โจรจิรานนท์¹, จิตนันท์ แก้วแพรก^{*, 1}

¹ ภาควิชาทันตกรรมหัตถการและวิทยาเอ็นโดดอนต์ คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

บทคัดย่อ

การรักษาคลองรากฟันด้วยวิธีรีเจนเนอเรทีฟ เอ็นโดดอนติกส์เป็นทางเลือกหนึ่งที่ใช้ในการรักษาฟันที่เนื้อเยื่อในฟันตายแต่รากฟันยังเจริญไม่สมบูรณ์ โดยมีเป้าหมายสูงสุดคือการสร้างทดแทนเนื้อเยื่อในและเนื้อฟันที่สูญเสียไป ทำให้รากฟันสามารถเจริญต่อจนสมบูรณ์ได้ การรักษาด้วยวิธีดังกล่าวอาศัยหลักการทางวิศวกรรมเนื้อเยื่อ ซึ่งปัจจัยหนึ่งที่สำคัญต่อการสร้างเนื้อเยื่อทดแทนได้สำเร็จ คือ การมีเซลล์ต้นกำเนิดเข้ามาภายในคลองรากฟันและสามารถเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์ชนิดต่าง ๆ ที่เหมาะสมได้ แต่อย่างไรก็ตามการศึกษาในปัจจุบัน พบว่ายังไม่สามารถสร้างทดแทนเนื้อเยื่อในและเนื้อฟันที่มีโครงสร้างทางมิวชีววิทยา (histology) เหมือนเนื้อเยื่อตามธรรมชาติได้จริง บททบทวนวรรณกรรมฉบับนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้องกับการใช้เซลล์ต้นกำเนิดในรูปแบบต่าง ๆ ในการสร้างทดแทนเนื้อเยื่อในและเนื้อฟัน ตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน รวมถึงทิศทางของการศึกษาวิจัยในอนาคต เพื่อนำไปสู่การสร้างทดแทนเนื้อเยื่อในและเนื้อฟันในผู้ป่วยได้จริง

คำสำคัญ: เซลล์ต้นกำเนิด, การรักษาวิธีรีเจนเนอเรทีฟ เอ็นโดดอนติกส์, การสร้างทดแทนเนื้อเยื่อในและเนื้อฟัน

Abstract

Regenerative Endodontic Procedures (REPs) is one of the treatment options for immature permanent teeth with necrotic pulp. These procedures use the principle of tissue engineering in order to regenerate pulp/dentine complex. Stem cells recruited into the root canal is one of the crucial factors that affect tissue regeneration in REPs. Therefore, the ultimate goal of this treatment is not only the healing of apical periodontitis but also the regeneration of pulp/dentine complex. However, pulp/dentine regeneration in REPs teeth cannot be achieved in histological evaluation. This literature review aims to review the literatures related to stem cells used for pulp/dentine regeneration from past to present and the direction of further researches.

Keywords: stem cells, regenerative endodontic procedures, pulp/dentin regeneration

Correspondence: อ.ดร.ทพญ.จิตนันท์ แก้วแพรก

ภาควิชาทันตกรรมหัตถการและวิทยาเอ็นโดดอนต์ คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

เลขที่ 6 ถนนโยธี แขวงทุ่งพญาไท เขตราชเทวี กรุงเทพฯ 10400

โทร. +662-200-7825-6

E-mail: jittranan.kae@mahidol.edu

Received: 15 March 2023

Revised: 9 June 2023

Accepted: 14 June 2023

บทนำ

การรักษาด้วยวิธีรีเจนเนอเรทีฟ เอ็นโดดอนติกส์ (Regenerative Endodontics Procedures: REPs) เป็นกระบวนการรักษาเพื่อทำให้เกิดการสร้างทดแทนเนื้อเยื่อในที่สุดสูญเสียไป และกลับมาทำหน้าที่ในการสร้างเนื้อฟันและรากฟันต่อไป ดังนั้นการรักษานี้จึงเป็นวิธีหนึ่งที่เหมาะสมในฟันที่เนื้อเยื่อในตาย แต่รากฟันยังเจริญไม่สมบูรณ์ การกระตุ้นให้เกิดการสร้างเนื้อเยื่อใหม่ของการรักษาด้วยวิธีรีเจนเนอเรทีฟ เอ็นโดดอนติกส์นั้น อาศัยหลักการทางวิศวกรรมเนื้อเยื่อ (tissue engineering) ซึ่งมีเซลล์ต้นกำเนิด (stem cells) เป็นองค์ประกอบหนึ่งที่สำคัญต่อการประสบความสำเร็จในการสร้างเนื้อเยื่อทดแทน แต่อย่างไรก็ตาม ปัจจุบันการรักษาด้วยวิธีดังกล่าว ยังพิสูจน์ไม่ได้ว่าสามารถสร้างทดแทนเนื้อเยื่อในและเนื้อฟันได้จริง กล่าวคือ เซลล์ต้นกำเนิดที่เข้ามาภายในคลองรากฟัน ต้องมีคุณสมบัติและสิ่งแวดล้อมที่เหมาะสมที่จะเปลี่ยนแปลงไปเป็นเนื้อเยื่อที่จำเป็นต่อการสร้างเนื้อเยื่อใน เช่น เซลล์สร้างเนื้อฟัน เซลล์หลอดเลือด และเซลล์ประสาท เป็นต้น ดังนั้นจึงมีความพยายามที่จะทำการศึกษาค้นคว้าเพื่อหาวิธีการที่สามารถสร้างทดแทนเนื้อเยื่อในที่มีโครงสร้างเหมือนฟันธรรมชาติ สามารถทำหน้าที่สร้างเนื้อฟันได้และทำให้ฟันกลับมามีชีวิตได้อีกครั้ง โดยหากจำแนกตามแหล่งที่มาของเซลล์ต้นกำเนิด จะสามารถแบ่งแนวคิดในการรักษาออกเป็น 2 รูปแบบ ได้แก่ Cell-free regenerative endodontic procedures (CF-REPs) และ Cell-based regenerative endodontic procedures (CB-REPs) (1) ซึ่งจะกล่าวในรายละเอียดต่อไปในบทความวรรณกรรมนี้

Cell-free Regenerative Endodontic Procedures (CF-REPs)

CF-REPs หรือ Cell-free approach คือ การรักษาด้วยวิธีรีเจนเนอเรทีฟ เอ็นโดดอนติกส์ ที่อาศัยเซลล์ต้นกำเนิดจากในร่างกายของผู้ป่วย (endogenous stem cells) ไม่ใช้เซลล์ต้นกำเนิดจากภายนอก (exogenous stem cells) (2) ซึ่งการรักษาด้วยวิธี CF-REPs นี้ มีการปฏิบัติกันมาอย่างเนิ่นนาน โดยทำการกระตุ้นให้เกิดลิ่มเลือดภายในคลอง

รากฟัน และหวังให้มีเซลล์ต้นกำเนิดจากแหล่งกำเนิด (stem cell niche) ในบริเวณใกล้เคียง เคลื่อนที่เข้ามาภายในคลองรากฟันผ่านทางรูเปิดปลายราก เรียกระบวนการนี้ว่า cell homing (3)

กระบวนการ cell homing คือการชักนำให้เซลล์ต้นกำเนิดเคลื่อนที่จากแหล่งกำเนิดมายังบริเวณเป้าหมาย โดยทำการสร้างสภาวะแวดล้อมต่าง ๆ ให้มีโกรทแฟกเตอร์ (growth factor) และโครงค้ำยัน (scaffold) ที่เหมาะสมต่อการอยู่อาศัย การเพิ่มจำนวน และการเปลี่ยนแปลงไปทำหน้าที่สร้างเนื้อเยื่อทดแทนต่อไปของเซลล์ต้นกำเนิด สำหรับในการรักษาด้วยวิธีรีเจนเนอเรทีฟ เอ็นโดดอนติกส์ มีขั้นตอนที่ชักนำให้เซลล์ต้นกำเนิดเข้ามาภายในคลองรากฟันโดยการใส่เครื่องมือปลายแหลมให้เกินปลายรากฟัน เพื่อหวังให้เกิดการฉีกขาดของเอปิคอล แปปิลลา (apical papilla) และทำให้มีเลือดเข้ามาภายในคลองรากฟัน โดยมีการศึกษาที่พิสูจน์ว่าเลือดที่ถูกกระตุ้นให้เข้ามาในคลองรากฟันนั้นมีเซลล์ต้นกำเนิดชนิดมีเซนไคม์ (mesenchymal stem cell) อยู่ เนื่องจากพบการแสดงเครื่องหมายของเซลล์ต้นกำเนิดชนิดมีเซนไคม์ (mesenchymal stem cell marker) ได้แก่ CD105 และ CD73 แต่ยังไม่สามารถระบุจำเพาะได้ว่าเซลล์ต้นกำเนิดที่เข้ามานั้นเป็นเซลล์ต้นกำเนิดชนิดใด (4, 5)

นอกจากเซลล์ต้นกำเนิดที่ถูกชักนำให้เข้ามาภายในคลองรากฟันแล้ว อีกปัจจัยหนึ่งที่สำคัญต่อกระบวนการ cell homing และเอื้อให้เกิดการสร้างเนื้อเยื่อทดแทน คือ โกรทแฟกเตอร์ ซึ่งเป็นโปรตีนที่สามารถจับกับตัวรับจำเพาะ (specific receptor) บนผิวพื้นเซลล์เป้าหมาย (target cells) โดยจะทำให้เกิดการสื่อสารกันระหว่างเซลล์ รวมถึงควบคุมการทำงาน กระตุ้นให้เกิดการเคลื่อนที่ การเพิ่มจำนวน และการเปลี่ยนแปลงหน้าที่ของเซลล์ สำหรับการรักษาด้วยวิธีรีเจนเนอเรทีฟ เอ็นโดดอนติกส์ จะมุ่งเน้นไปที่การปลดปล่อยโกรทแฟกเตอร์ ที่ฝังอยู่ในเนื้อฟันในระหว่างกระบวนการสร้างเนื้อฟัน (dentinogenesis) มีการศึกษาพบว่าเมื่อล้างคลองรากฟันด้วยสารบางชนิด เช่น EDTA ความเข้มข้นร้อยละ 17 และ citric acid ความเข้มข้นร้อยละ 10 ซึ่งมีฤทธิ์ละลายแร่ธาตุของเนื้อฟัน (demineralization) จะทำให้เกิดการเผยผิวของสารอินทรีย์ในเนื้อฟัน และสามารถปลดปล่อย

โกรทแฟคเตอร์ต่าง ๆ ได้ เช่น Transforming growth factor beta 1 (TGF- β 1), Fibroblast growth factor (FGF) และ Vascular endothelial growth factor (VEGF) (6) นอกจากนี้ลิ้มเลือดที่เกิดขึ้นภายหลังจากการกระตุ้นให้ลิ้มเลือดจากปลายรากเข้ามาภายในคลองรากฟัน ยังมีส่วนประกอบของเกล็ดเลือด ซึ่งเป็นแหล่งอุดมสมบูรณ์ของโกรทแฟคเตอร์ เช่น Platelet-derived growth factor (PDGF), TGF, VEGF และ FGF (7) อีกทั้งไฟบรินที่เป็นองค์ประกอบหนึ่งของลิ้มเลือดนั้น ยังสามารถทำหน้าที่เป็นโครงค้ำยันและเป็นที่ยู่ออาศัยให้กับเซลล์ต้นกำเนิดได้อีกด้วย (8)

จะเห็นได้ว่าจุดเด่นของการรักษาในรูปแบบ CF-REPs คือ ไม่จำเป็นต้องใช้สิ่งแปลกปลอมจากภายนอกร่างกาย ทำให้มีความเข้ากันได้ดีกับเนื้อเยื่อ การใช้งานทางคลินิกทำได้ง่าย ไม่จำเป็นต้องมีการทำงานในห้องปฏิบัติการ รวมถึงค่าใช้จ่ายไม่สูงมากนัก แต่อย่างไรก็ตาม ก็ยังมีข้อจำกัดอยู่หลายประการ ได้แก่ อาจมีความยากในการกระตุ้นลิ้มเลือดให้เข้ามาในคลองรากฟัน ไม่เหมาะสมกับผู้ที่มีความผิดปกติเกี่ยวกับการแข็งตัวของเลือด รวมทั้งการไม่สามารถควบคุมหรือกำหนดชนิดของเซลล์ต้นกำเนิดให้เข้ามาในคลองรากฟันได้ จึงทำให้ไม่สามารถคาดเดาผลลัพธ์และลักษณะทางมิวิววิทยา (histology) ของเนื้อเยื่อทดแทนที่เกิดขึ้นได้ (2, 3)

สำหรับการศึกษาทางมิวิววิทยาในฟันมนุษย์ที่ได้รับการรักษาด้วยวิธี CF-REPs แล้วได้รับการถอนฟันในภายหลังส่วนใหญ่พบว่าการพอกพูนของแร่ธาตุในบริเวณของรากฟันที่มีความยาวและความหนาเพิ่มขึ้นจากก่อนได้รับการรักษา จะมีลักษณะเหมือนเนื้อเยื่อคล้ายเคลือบรากฟัน (cementum-like tissue) บางตำแหน่งพบเคลือบรากฟันชนิดไม่มีเซลล์ (acellular cementum) หรือเคลือบรากฟันชนิดมีเซลล์ (cellular cementum) พบเนื้อเยื่อคล้ายกระดูก (osteocyte-like lacuna) ร่วมกับเซลล์อักเสบปะปนอยู่พบลักษณะของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันชนิดไฟบรัส (fibrous connective tissue) ไม่พบชั้นของเซลล์คล้ายเซลล์สร้างเนื้อฟัน (odontoblast-like cells) (9-15) พบเพียงหนึ่งการศึกษาที่มีการสร้างทดแทนเนื้อเยื่อในเป็นลักษณะ pulp-dentin complex ที่ใกล้เคียงกับฟันธรรมชาติในบางตำแหน่ง (16) ดังนั้นจากหลักฐานเชิงประจักษ์ในปัจจุบัน (ตารางที่ 1)

ผลลัพธ์ของการรักษาด้วยวิธี CF-REPs ยังไม่สามารถบรรลุเป้าหมายสูงสุด คือ การสร้างทดแทนเนื้อเยื่อในและเนื้อฟันได้

ปัจจัยที่อาจส่งผลต่อการสร้างทดแทนเนื้อเยื่อในและเนื้อฟันของการรักษาด้วย CF-REPs (17)

1. ประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อแบคทีเรียในคลองรากฟัน

สิ่งที่เป็นไปได้ยากสำหรับการกำจัดเชื้อแบคทีเรียในงานรักษาคลองรากฟัน คือการที่ฟันมีลักษณะซับซ้อนและการที่เนื้อฟันมีท่อเนื้อฟันจำนวนมาก ซึ่งการรักษาคลองรากฟันปกติ จะเน้นไปที่การลดปริมาณเชื้อและใช้วิธีอุดคลองรากฟันเพื่อฝังกลบแบคทีเรียในคลองรากฟันที่ยังหลงเหลืออยู่ แต่อย่างไรก็ตามในกรณีที่ทำให้การรักษาด้วยวิธี CF-REPs แม้คลองรากฟันจะผ่านการทำความสะอาดอย่างดีที่สุดแล้ว แบคทีเรียอาจยังคงหลงเหลืออยู่ภายในท่อเนื้อฟัน และอาจส่งผลเสียต่อเซลล์ต้นกำเนิด ซึ่งเป็นการขัดขวางการเกิดสร้างเนื้อเยื่อทดแทนได้ (18)

จากการศึกษาในห้องปฏิบัติการ โดยทำการเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียในคลองรากฟันจำลอง แล้วกำจัดเชื้อด้วยการล้างโซเดียมไฮโปคลอไรท์และใส่ยาปฏิชีวนะผสมสามชนิดไว้ในคลองรากฟันเป็นเวลาสองสัปดาห์ ก่อนที่จะใส่เซลล์ต้นกำเนิดและโครงค้ำยันไปในคลองรากฟัน พบว่าในฟันที่มีการติดเชื้อจะมีการแสดงออกของยีนสร้างเซลล์กระดูกที่เพิ่มขึ้น แต่มีการแสดงออกของเซลล์สร้างเนื้อฟันลดลง นอกจากนี้ยังพบว่าแผ่นชีวภาพของแบคทีเรีย (bacterial biofilm) สามารถลดการเปลี่ยนแปลงไปทำหน้าที่ของเซลล์ได้อีกด้วย (19)

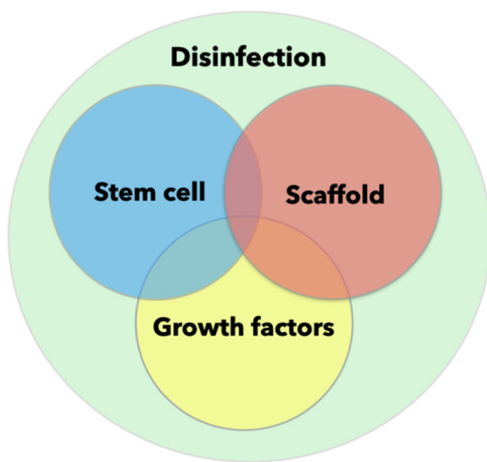
การศึกษาในสัตว์ทดลองที่ทำการปลูกถ่ายเซลล์ต้นกำเนิดลงในฟันซี่ยาวปลายรากเปิดของหนู พบว่าในฟันที่ไม่มีแผ่นชีวภาพของแบคทีเรียจะมีการหนาตัวของเนื้อฟันที่ปรากฏในภาพถ่ายรังสีมากกว่ากลุ่มที่มีแผ่นชีวภาพของแบคทีเรีย แม้ว่ารากฟันจะไม่พบรอยโรคก็ตาม (20)

จากการศึกษาทางคลินิก พบว่าร้อยละ 79-81.3 ของฟันที่รักษาด้วยวิธีรีเจเนอเรทีฟ เอ็นโดดอนติกส์ แล้วล้มเหลวในภายหลัง มีสาเหตุมาจากการติดเชื้อยึดเยื้อ (persistent infection) ซึ่งอาจเกิดจากการทำความสะอาดที่ไม่เพียงพอ (21, 22)

ตารางที่ 1 สรุปการศึกษาทางคลินิกของการรักษาด้วยวิธี CF-REPs ในมนุษย์

ผู้ทำการศึกษา, ปี	คำวินิจฉัย	โครงค้ำยัน	ลักษณะทางคลินิก
Torabinejad และคณะ 2012 (12)	Pulp necrosis with symptomatic apical periodontitis	PRF	- พบเส้นใยคอลลาเจนและหลอดเลือดในเนื้อเยื่อเกี่ยวพันรูปร่างคล้ายเนื้อเยื่อโพรงประสาท - ไม่พบเซลล์คล้ายเซลล์สร้างเนื้อฟัน
Shimizu และคณะ 2012 (11)	Pulp necrosis with chronic apical abscess	Blood clot	- ไม่พบเนื้อเยื่อคล้ายโพรงประสาทฟัน - พบเนื้อเยื่อคล้ายเคลือบรากฟันหรือคล้ายกระดูก - ไม่พบเซลล์คล้ายเซลล์สร้างเนื้อฟัน
Martin และคณะ 2013 (13)	Pulp necrosis with symptomatic apical periodontitis	PRF	- ไม่พบเนื้อเยื่อคล้ายโพรงประสาทฟัน - พบเนื้อเยื่อคล้ายเคลือบรากฟันหรือคล้ายกระดูก - ไม่พบเซลล์คล้ายเซลล์สร้างเนื้อฟัน
Becerra และคณะ 2014 (9)	Pulp necrosis with chronic apical abscess	Blood clot	- พบเนื้อเยื่อเกี่ยวพันรูปร่างคล้ายเนื้อเยื่อโพรงประสาท - พบเนื้อเยื่อคล้ายเคลือบรากฟันหรือคล้ายกระดูก - ไม่พบเซลล์คล้ายเซลล์สร้างเนื้อฟัน
Lei และคณะ 2015 (10)	Pulp necrosis with symptomatic apical periodontitis	Blood clot	- พบเนื้อเยื่อเกี่ยวพันรูปร่างคล้ายเนื้อเยื่อโพรงประสาท - พบเนื้อเยื่อคล้ายเคลือบรากฟันหรือคล้ายกระดูก - ไม่พบเซลล์คล้ายเซลล์สร้างเนื้อฟัน - พบเส้นประสาทในคลองรากฟัน
Norsat และคณะ 2015 (14)	Irreversible pulpitis	Blood clot	- พบเนื้อเยื่อเกี่ยวพันรูปร่างคล้ายเนื้อเยื่อโพรงประสาท - พบเนื้อเยื่อคล้ายเคลือบรากฟันหรือคล้ายกระดูก - ไม่พบเซลล์คล้ายเซลล์สร้างเนื้อฟัน
Austah และคณะ 2018 (16)	Pulp necrosis with asymptomatic apical periodontitis	Blood clot	- พบเนื้อเยื่อเกี่ยวพันชนิดไฟบรัส และหลอดเลือดในเนื้อเยื่อเกี่ยวพันคล้ายกับเนื้อเยื่อโพรงประสาท - พบเซลล์คล้ายเซลล์สร้างเนื้อฟันที่ติดกับเนื้อฟันที่มีการสร้างขึ้นใหม่ - พบเส้นประสาทในคลองรากฟัน
Shetty และคณะ 2018 (15)	Pulp necrosis with chronic apical abscess	Blood clot	- พบเนื้อเยื่อเกี่ยวพันรูปร่างคล้ายเนื้อเยื่อโพรงประสาท - พบเนื้อเยื่อคล้ายเคลือบรากฟันหรือคล้ายกระดูก - ไม่พบเซลล์คล้ายเซลล์สร้างเนื้อฟัน - พบเส้นประสาทในคลองรากฟัน

จึงนับได้ว่าการสร้างระบบหรือสภาพแวดล้อมที่ปราศจากเชื้อแบคทีเรียเป็นปัจจัยหนึ่งที่สำคัญต่อความสำเร็จของการสร้างเนื้อเยื่อทดแทน (รูปที่ 1) ดังนั้นขั้นแรกที่จะนำไปสู่ความสำเร็จของการรักษาด้วยวิธี รีเจเนอเรทีฟ เอ็นโดดอนติกส์ จึงขึ้นอยู่กับกำจัดการติดเชื้อแบคทีเรียในคลองรากฟัน รวมทั้งการปิดผนึกคลองรากฟันที่ดี เพื่อป้องกันการรั่วซึมที่จะทำให้เกิดการติดเชื้อซ้ำ (23) หากไม่สามารถทำได้ เป้าหมายในการสร้างเนื้อเยื่อทดแทน และทำให้ฟันกลับมามีชีวิตอีกครั้งก็คงเป็นไปได้ยาก



รูปที่ 1 การปราศจากเชื้อมีส่วนสำคัญของกระบวนการวิศวกรรมเนื้อเยื่อ และนำไปสู่ความสำเร็จของการรักษาด้วยวิธีรีเจเนอเรทีฟ เอ็นโดดอนติกส์

II. ขั้นตอนในการกำจัดเชื้อแบคทีเรียในคลองรากฟันที่อาจมีผลต่อเซลล์ต้นกำเนิด

การรักษาด้วยวิธีรีเจเนอเรทีฟ เอ็นโดดอนติกส์ มีข้อจำกัดที่ไม่สามารถขยายคลองรากฟันได้ เนื่องจากผนังคลองรากฟันที่บาง ดังนั้น การกำจัดเชื้อจึงมุ่งเน้นไปที่การล้างและการใส่ยาในคลองรากฟันเท่านั้น ซึ่งน้ำยาล้างและยาที่ใส่ในคลองรากฟันในขั้นตอนกำจัดเชื้อนี้ อาจส่งผลกระทบต่อความมีชีวิต และการเปลี่ยนแปลงไปทำหน้าที่ของเซลล์ต้นกำเนิดได้

น้ำยาล้างคลองรากฟันที่มีฤทธิ์ในการกำจัดเชื้อแบคทีเรียและละลายเนื้อเยื่อได้ดี คือ โซเดียมไฮโปคลอไรท์ มีการศึกษาพบว่า การล้างคลองรากฟันด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์

ความเข้มข้นร้อยละ 6 ทำให้ความมีชีวิตของเซลล์ต้นกำเนิดเหลือน้อยที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำยาที่มีความเข้มข้นลดลงได้แก่ ความเข้มข้นร้อยละ 0.5, 1.5 และ 3 ซึ่งให้ผลไม่แตกต่างกัน นอกจากนี้ยังพบอีกว่า เมื่อล้างคลองรากฟันด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ร้อยละ 1.5 ตามด้วย EDTA ความเข้มข้นร้อยละ 17 พบความมีชีวิตและการแสดงออกของยีน DSPP ของเซลล์ต้นกำเนิดมากที่สุด ซึ่งยีนดังกล่าวแสดงถึงการเปลี่ยนแปลงไปทำหน้าที่ของเซลล์ต้นกำเนิดเป็นเซลล์สร้างเนื้อฟัน (24) นอกจากนี้ยังพบอีกว่าเมื่อใช้โซเดียมไฮโปคลอไรท์ล้างในฟันปลายรากเปิด อาจมีผลต่อการละลายของเนื้อเยื่อบริเวณนอกปลายรากฟันได้ คือ เกิดการละลายของเนื้อเยื่อเอพิคอล แปปิลลา ซึ่งเป็นที่อยู่ของเซลล์ต้นกำเนิด โดยพบว่าเมื่อความเข้มข้นสูงของการละลายเนื้อเยื่อก็คงยิ่งมากขึ้น (25)

น้ำยาล้างคลองรากฟันอีกชนิดหนึ่งที่มีฤทธิ์ในการกำจัดเชื้อแบคทีเรีย ได้แก่ คลอร์เฮกซิดีน มีการศึกษาพบว่าน้ำยาคลอร์เฮกซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 ที่ใช้ในการล้างคลองรากฟัน มีความเป็นพิษต่อเซลล์ต้นกำเนิดสูง โดยไม่พบเซลล์ต้นกำเนิดที่มีชีวิตเหลืออยู่เลย เมื่อล้างคลองรากฟันด้วยน้ำยาดังกล่าว (26)

ยาที่นิยมใช้ในการรักษาด้วยวิธีรีเจเนอเรทีฟ เอ็นโดดอนติกส์ คือ แคลเซียมไฮดรอกไซด์และยาปฏิชีวนะผสมสองชนิด (DAP: ciprofloxacin and metronidazole) หรือสามชนิด (TAP: ciprofloxacin, metronidazole and minocycline) ซึ่งการใช้แคลเซียมไฮดรอกไซด์ใส่ในคลองรากฟันพบว่าส่งผลต่อความมีชีวิตของเซลล์ต้นกำเนิดน้อยในทุก ๆ ความเข้มข้น และยังอาจช่วยให้เซลล์ต้นกำเนิดเกิดการแบ่งตัวเพิ่มขึ้นได้อีกด้วย (27) แต่อย่างไรก็ตาม แคลเซียมไฮดรอกไซด์อาจมีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อแบคทีเรียที่ดีกว่ายาปฏิชีวนะผสม

ในส่วนของการยาปฏิชีวนะผสมหากใช้ที่ความเข้มข้นสูงก็จะมีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อได้ดี แต่ก็อาจเป็นพิษต่อเซลล์ต้นกำเนิดได้ มีการศึกษาพบว่าความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะผสม แปรผกผันกับความมีชีวิตของเซลล์ต้นกำเนิด กล่าวคือ ยาปฏิชีวนะผสมที่ความเข้มข้นต่ำ (0.01-0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ไม่มีผลต่อความมีชีวิตของเซลล์ต้นกำเนิด แต่เมื่อความเข้มข้นสูงขึ้น (1-10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)

พบว่าความมีชีวิตของเซลล์ต้นกำเนิดจะค่อย ๆ ลดลง (28) นอกจากนี้ ในการศึกษาที่มีการจำลองสถานการณ์ให้เหมือนในทางคลินิกมากขึ้น โดยใช้ชิ้นส่วนฟันใส่ยาปฏิชีวนะผสมไว้ จากนั้นล้างยาออกก่อนใส่เซลล์ต้นกำเนิดเข้าไปในคลองรากฟัน พบว่าความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะผสม 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ไม่มีผลต่อความมีชีวิตของเซลล์ต้นกำเนิด แต่ที่ความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แทบไม่เหลือเซลล์ที่มียาติดอยู่เลย (27) ดังนั้น ในปัจจุบัน American Association of Endodontics (AAE) จึงแนะนำให้ใช้น้ำยาล้างคลองรากฟันและยาปฏิชีวนะผสมที่ความเข้มข้นต่ำ คือล้างโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้นร้อยละ 1.5-3 ตามด้วย EDTA ความเข้มข้นร้อยละ 17 ซึ่งคาดว่าจะเอื้อให้เกิดการสร้างเนื้อเยื่อทดแทนมากที่สุด และไม่แนะนำให้ใช้คลอร์เฮกซิดีน ความเข้มข้นร้อยละ 2 ในการล้างคลองรากฟัน ส่วนยาที่ใส่ไว้ในคลองรากฟันที่เป็นยาปฏิชีวนะแนะนำให้ใช้ที่ความเข้มข้น 1-5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (29)

III. เซลล์ต้นกำเนิดเมื่ออยู่ในสภาวะอักเสบและการติดเชื้อจากคลองรากฟัน

โดยปกติแล้วในฟันตายปลายรากเปิด เอพิคอล แปปิลลา จะอยู่ท่ามกลางสภาวะแวดล้อมที่มีการอักเสบและการติดเชื้อ ซึ่งก็มีข้อสงสัยว่าในสภาวะดังกล่าวจะทำให้คุณสมบัติของเซลล์ต้นกำเนิดเปลี่ยนไปหรือไม่

จากการศึกษาในห้องปฏิบัติการ เมื่อเลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิดในสภาวะที่มีสารสื่ออักเสบ (pro-inflammatory cytokines) พบว่าเซลล์ต้นกำเนิดจากเนื้อเยื่อส่วนปลายรากมีอัตราการเพิ่มจำนวนที่ไม่แตกต่างจากสภาวะปกติ ในส่วนของการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ต้นกำเนิดไปเป็นเซลล์สร้างกระดูกและเซลล์สร้างเนื้อฟัน พบว่า กลุ่มการทดลองที่มีสารสื่ออักเสบจะมีความสามารถในการเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์กระดูกที่ลดลง (30)

มีการศึกษาในห้องปฏิบัติการ โดยทำการเลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิดในสภาวะที่มีไลโปโพลีแซคคาไรด์ (lipopolysaccharide) พบว่าทุกความเข้มข้นของไลโปโพลีแซคคาไรด์ไม่ส่งผลต่อความมีชีวิตและการเพิ่มจำนวนของเซลล์ต้นกำเนิด ส่วนการเปลี่ยนแปลงไปทำหน้าที่ของเซลล์ พบว่าเซลล์ที่อยู่ในสภาวะ

ที่มีไลโปโพลีแซคคาไรด์ความเข้มข้นสูง มีการแสดงออกของยีน BSP ที่พบมากในกระดูกและเคลือบรากฟันเพิ่มขึ้น การแสดงออกของยีน DSP ซึ่งเป็นตัวบ่งชี้สำหรับเนื้อฟันหรือเซลล์สร้างเนื้อฟันไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม นอกจากนี้ เซลล์ต้นกำเนิดยังสามารถเปลี่ยนแปลงไปทำหน้าที่สร้างเนื้อเยื่อแข็งได้ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอีกด้วย (31)

การศึกษาในสัตว์ทดลองที่ทำให้เกิดการอักเสบรอบปลายรากฟันโดยการเจาะฟันให้ทะลุโพรงประสาทเป็นเวลา 30, 60 และ 90 วัน พบว่าจะมีการตายของเนื้อเยื่อส่วนปลายรากร้อยละ 43 เมื่อการอักเสบเกิดขึ้น 90 วัน แสดงให้เห็นว่าเนื้อเยื่อส่วนปลายรากส่วนใหญ่ยังคงความมีชีวิตอยู่เมื่อเวลาผ่านไป 90 วัน (32)

สำหรับการศึกษาในทางคลินิกเมื่อนำรอยโรคปลายรากที่มีการอักเสบ มาคัดแยกค้นหาเซลล์ต้นกำเนิด ผลปรากฏว่าเซลล์ในรอยโรคปลายรากสามารถพบการแสดงเครื่องหมายของเซลล์ต้นกำเนิดชนิดมีเซนไคม์ ได้แก่ CD90, CD105, CD146 และ STRO-1 จึงเรียกเซลล์ต้นกำเนิดกลุ่มนี้ว่า Inflamed periapical progenitor cells (iPAPCs) ซึ่งมีความสามารถในการเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์สร้างเนื้อเยื่อแข็งได้ (33) นอกจากนี้เมื่อทำการศึกษาคูสมบัติของเอพิคอล แปปิลลา ที่ได้จากปลายรากฟันตายและมีการอักเสบปลายรากฟัน พบว่า เนื้อเยื่อดังกล่าวมีการแสดงเครื่องหมายของเซลล์ต้นกำเนิดชนิดมีเซนไคม์ไม่แตกต่างจาก SCAP cell line และยังมีความสามารถในการสร้างเนื้อเยื่อแข็งได้ (34) จากการศึกษาต่าง ๆ ข้างต้น จะเห็นได้ว่าเซลล์ต้นกำเนิดยังคงมีชีวิตอยู่และสามารถเจริญเติบโตได้ ถึงแม้จะอยู่ในสภาวะที่มีการอักเสบบริเวณปลายรากฟัน (35)

ดังนั้นกระบวนการที่จะเอื้อให้เกิดการสร้างเนื้อเยื่อทดแทนควรให้ความสำคัญกับการกำจัดเชื้อในคลองรากฟันที่มีประสิทธิภาพ โดยใช้น้ำยาและยาที่ใส่ในคลองรากฟันความเข้มข้นเหมาะสม หากใช้ความเข้มข้นสูงเกินไป แม้จะสามารถกำจัดเชื้อได้ดี แต่ก็อาจเป็นพิษต่อเซลล์ต้นกำเนิด และไม่เกิดการสร้างทดแทนของเนื้อเยื่อขึ้นได้ ส่วนปัจจัยเกี่ยวกับสภาวะแวดล้อมที่มีการอักเสบ ถึงแม้จะไม่ส่งผลต่อความมีชีวิตของเซลล์ต้นกำเนิด แต่ก็อาจส่งผลต่อทิศทางในการเปลี่ยนแปลงไปทำหน้าที่ของเซลล์ต้นกำเนิดได้

Cell-based regenerative endodontic procedures (CB-REPs)

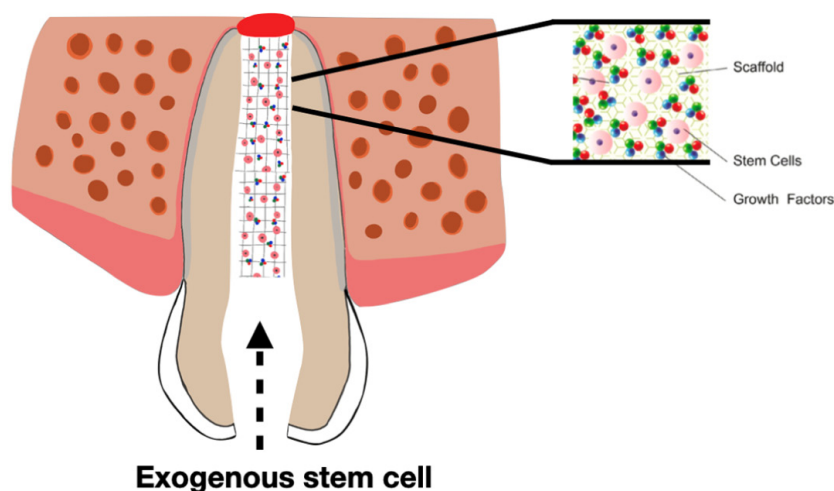
จากข้อจำกัดของการรักษาแบบ CF-REPs ที่ไม่สามารถกำหนดชนิดของเซลล์ต้นกำเนิดที่เข้ามาและไม่สามารถกำหนดจำนวนของเซลล์ต้นกำเนิดที่มีชีวิตรอดหลังจากผ่านกระบวนการทำความสะอาดภายในคลองรากฟัน ทำให้ผลลัพธ์ไม่สามารถคาดเดาได้ จึงมีแนวทางการรักษาทางเลือกหนึ่ง นั่นคือ CB-REPs หรือ Cell-based approach ซึ่งหมายถึงการใช้เซลล์ต้นกำเนิดจากภายนอกร่างกายทำการคัดแยกและเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ แล้วจึงใส่เข้าไปในคลองรากฟัน โดยอาจมีการใส่โกรทแฟกเตอร์และ/หรือโครงค้ำยันที่เหมาะสมจากภายนอกพร้อมด้วย (รูปที่ 2) เพื่อหวังให้เกิดการสร้างเนื้อเยื่อทดแทนขึ้น (2, 36)

มีความพยายามที่จะทำการศึกษากการสร้างทดแทนเนื้อเยื่อในในสัตว์ทดลอง (*in vivo* model) โดยแบ่งรูปแบบของการศึกษาออกเป็น 3 รูปแบบ ได้แก่ ectopic model, semiorthotopic model และ orthotopic model (37) โดยมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

Ectopic model หรือ ectopic transplantation คือการปลูกถ่ายเนื้อเยื่อไปในตำแหน่งที่ไม่ปกติหรือไม่ใช่ตำแหน่งตามธรรมชาติ เช่น หลังของสัตว์ทดลอง และใช้ท่อที่ทำจาก hydroxyapatite/tricalcium phosphate (HA/TCP)

แทนรากฟันธรรมชาติ ซึ่งการทดลองแบบนี้สามารถทำได้ง่าย ค่าใช้จ่ายไม่สูง มีการศึกษาที่ทำการปลูกถ่ายท่อ hydroxyapatite ร่วมกับเซลล์ต้นกำเนิดจากเนื้อเยื่อส่วนปลายราก (HA/SCAP) เข้าไปในหลังหนู พบมีการเจริญของเนื้อเยื่อลักษณะคล้ายเนื้อเยื่อในและเนื้อฟันขึ้น (38) แต่อย่างไรก็ตาม การศึกษาแบบ ectopic model อาจไม่สามารถจำลองสภาพสิ่งแวดล้อมให้เสมือนจริงและเอื้อให้เกิดการสร้างทดแทนได้อย่างสมบูรณ์แบบ

Semiorthotopic model หรือ semiorthotopic transplantation คือการศึกษาที่มีรูปแบบคล้ายกับ ectopic model แต่ใช้ชิ้นส่วนฟันธรรมชาติในการปลูกถ่ายเข้าไปในหลังของสัตว์ทดลอง โดยคาดหวังให้มีการสร้างทดแทนเนื้อเยื่อในใหม่ภายในคลองรากฟัน (รูปที่ 3) โดยการศึกษาเริ่มแรกมีการใช้ชิ้นส่วนฟันธรรมชาติแบบบางก่อน ต่อมาได้มีการพัฒนาโดยใช้ชิ้นส่วนฟันที่หนามากขึ้น คือ 5-6 มิลลิเมตร แล้วใส่เซลล์ต้นกำเนิดและโครงค้ำยันเข้าไปภายในคลองรากฟัน ปิดด้านบนด้วย MTA อีกด้านหนึ่งเปิดไว้ให้เส้นเลือดสามารถเข้ามาได้ พบว่ามีการเจริญของเนื้อเยื่อลักษณะคล้ายเนื้อเยื่อในรวมถึงมีการล้อมรอบด้วยเซลล์คล้ายเซลล์สร้างเนื้อฟันตลอดทั้งความยาวรากฟัน (39) หลังจากนั้น มีการศึกษาโดยเพิ่มความยาวรากฟันขึ้นอีกเป็น 11-13 มิลลิเมตร โดยแบบจำลองนี้มีความใกล้เคียงกับการรักษาด้วยวิธีเจเนอเรทีฟ

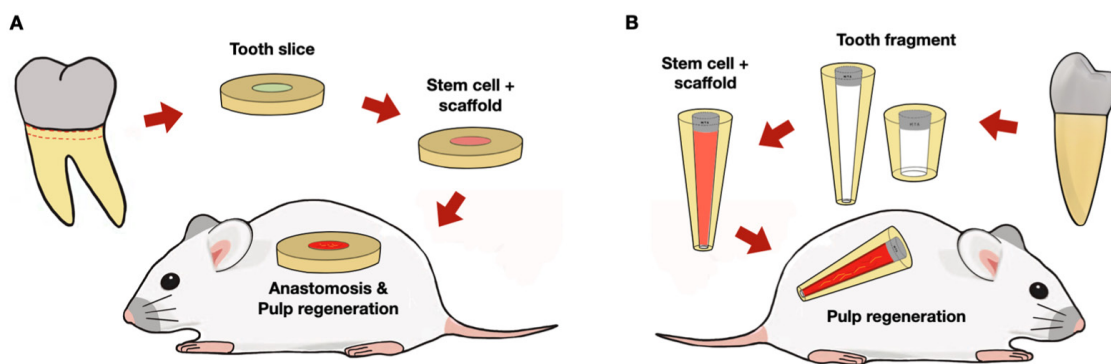


รูปที่ 2 แสดงรูปแบบการรักษาด้วยวิธีเจเนอเรทีฟ เอ็นโดดอนติกส์ชนิด CB-REPs ดัดแปลงจาก Lin L.M. และคณะ (1)

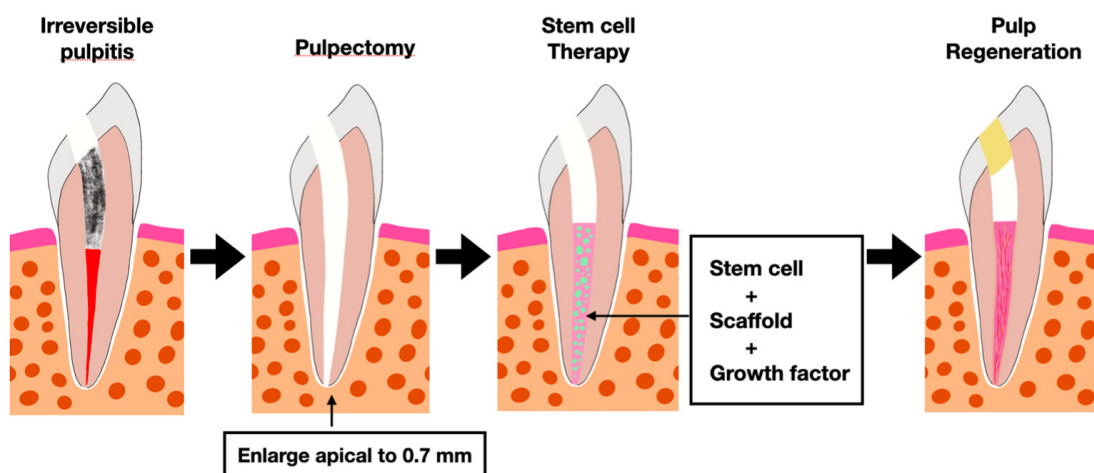
เอ็นโดดอนติกส์ ในทางคลินิกมากที่สุด เมื่อใส่เซลล์ต้นกำเนิดร่วมกับโครงค้ำยันและโกรตแพคเตอร์ก็พบว่าการเจริญเข้ามาของเนื้อเยื่อคล้ายเนื้อเยื่อในตลอดทั้งความยาวคลองรากฟัน (40) จากการทดลองแบบ semiorthotopic model พบว่ามีความเป็นไปได้ที่จะเกิดการสร้างทดแทนเนื้อเยื่อในและเนื้อฟัน ในฟันที่ปลูกถ่ายเซลล์ต้นกำเนิดลงไปเพิ่มความยาวรากฟัน (71)

Orthotopic model หรือ orthotopic transplantation คือการปลูกถ่ายเนื้อเยื่อในตำแหน่งโดย

ธรรมชาติของสัตว์ทดลอง เช่น การปลูกถ่ายเนื้อเยื่อในภายในคลองรากฟันของสัตว์ทดลอง เป็นต้น การศึกษาในรูปแบบนี้ทำการศึกษาค่อนข้างยาก จำเป็นต้องใช้สัตว์ทดลองขนาดใหญ่ เช่น สุนัขหรือหมู การศึกษารูปแบบ orthotopic ที่เกี่ยวกับการสร้างทดแทนเนื้อเยื่อใน ทำได้โดยการเอาเนื้อเยื่อในเดิมออกทั้งหมด (pulpectomy) ร่วมกับขยายรูเปิดปลายรากให้มีขนาดประมาณ 0.6 – 0.7 มิลลิเมตร แล้วทำการใส่เซลล์ต้นกำเนิดร่วมกับโครงค้ำยันเข้าไป เพื่อหวังให้มีเนื้อเยื่อทดแทนเกิดขึ้น (รูปที่ 4) (41)



รูปที่ 3 แสดงการศึกษาแบบ semiorthotopic transplantation โดยเริ่มจากการใช้ชิ้นส่วนฟันธรรมชาติแบบบาง (A) แล้วจึงเพิ่มความยาวจนเสมือนความยาวรากธรรมชาติ (B) พบการสร้างเนื้อเยื่อลักษณะคล้ายเนื้อเยื่อในในกลุ่มที่ใส่เซลล์ต้นกำเนิดร่วมกับโครงค้ำยันในคลองรากฟัน ดัดแปลงจาก Nakashima M. และคณะ (38)



รูปที่ 4 การศึกษาแบบ orthotopic model โดยการพยายามสร้างทดแทนเนื้อเยื่อในของฟันที่ตัดเนื้อเยื่อในออกทั้งหมด (pulpectomy) ในสุนัข ดัดแปลงจาก Nakashima M. และคณะ (42)

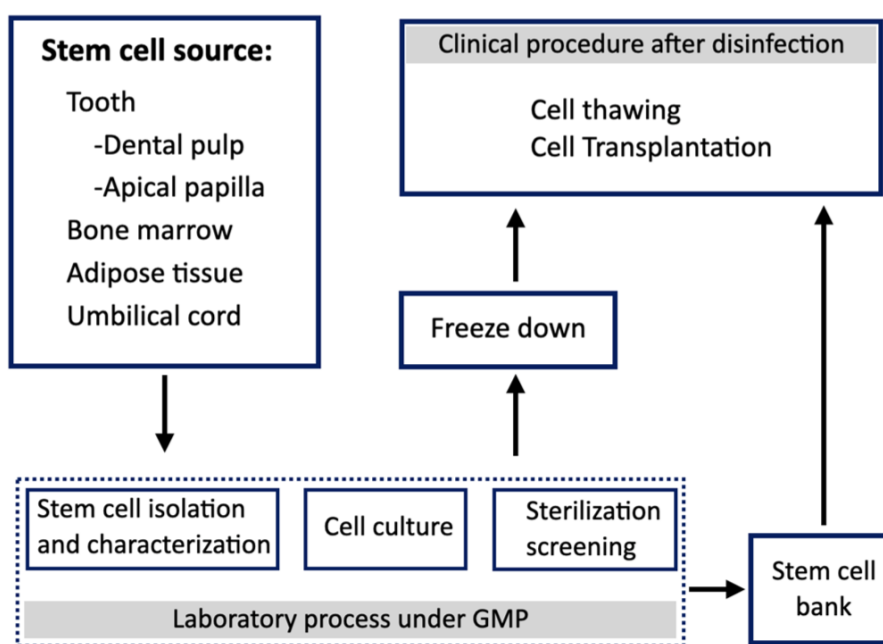
การศึกษาแรกในรูปแบบ pulpectomy เป็นการ
ศึกษาของ Iohara และคณะ ในปี ค.ศ. 2011 โดยเมื่อทำการ
ดึงเนื้อเยื่อประสาทฟันออกแล้วทำการปลูกถ่ายเซลล์ต้น
กำเนิดร่วมกับโครงค้ำยันหรือโกรทแพคเตอร์ โดยภายหลัง
การทดลองพบว่าภายในฟันที่ปลูกถ่ายเซลล์ต้นกำเนิดเข้าไป
พบเนื้อเยื่อคล้ายเนื้อเยื่อในและหลอดเลือด เซลล์คล้ายเซลล์
สร้างเนื้อฟันที่สร้างเนื้อเยื่อคล้ายเนื้อฟันต่อจากเนื้อฟันที่มีอยู่
เดิม รวมถึงพบหลอดเลือดและเส้นประสาท (41) และเมื่อดูที่
ปริมาณของการเกิดของเนื้อเยื่อทดแทน พบว่าในกลุ่มที่ใส่
เซลล์ต้นกำเนิดร่วมกับโครงค้ำยันและโกรทแพคเตอร์ จะมี
ปริมาณของเนื้อเยื่อทดแทนที่มากกว่ากลุ่มที่ใส่โครงค้ำยัน
หรือ โกรทแพคเตอร์อย่างใดอย่างหนึ่ง (43) รวมไปถึงพบว่า
ปริมาณการสร้างเนื้อเยื่อทดแทนในฟันที่ปลูกถ่ายด้วยเซลล์
ต้นกำเนิดจากเนื้อเยื่อประสาทฟันแท้ (DPSCs) จะมีปริมาณ
มากกว่าเซลล์ต้นกำเนิดจากไขกระดูก (BMSCs) และเซลล์ต้น
กำเนิดจากไขมัน (ADSCs) อย่างมีนัยสำคัญ (44, 45) แล้วยัง
พบว่าการใช้เซลล์ต้นกำเนิดที่มาจากสัตว์ทดลองสูงอายุ
จะพบปริมาณการสร้างเนื้อเยื่อทดแทนที่น้อยกว่าการใช้เซลล์
ต้นกำเนิดจากสัตว์ทดลองที่มีอายุน้อย แต่อย่างไรก็ตาม
ก็สามารถพบการสร้างเนื้อเยื่อในและเนื้อฟันได้เช่นเดียวกับการ
ศึกษาก่อนหน้านี้ (46) นอกจากนี้เมื่อทำการปลูกถ่ายเซลล์
ต้นกำเนิดจากสัตว์ทดลองตัวอื่น (allogenic stem cell)
พบว่าสามารถเกิดการสร้างเนื้อเยื่อทดแทนและมีลักษณะ
คล้ายเนื้อเยื่อในและเนื้อฟัน ซึ่งไม่ต่างจากเซลล์ต้นกำเนิดของ
ตนเอง (autologous stem cell) โดยไม่พบผลข้างเคียงใด ๆ
กับสัตว์ทดลอง (47, 48) แต่อย่างไรก็ตามการศึกษาที่ผ่านมา
ทั้งหมดไม่ได้จำลองการติดเชื้อในคลองรากฟัน จึงมีการศึกษา
ทดลองโดยการจำลองการติดเชื้อในคลองรากฟัน หลังจากนั้น
จึงทำการฆ่าเชื้อแบคทีเรียโดยใช้โซเดียมไฮโปคลอไรท์และยา
ปฏิชีวนะผสมสามชนิด ก่อนทำการปลูกถ่ายเซลล์ต้นกำเนิด
เข้าไป โดยพบว่ากลุ่มการทดลองที่ใส่เซลล์ต้นกำเนิดเข้าไปจะ
เกิดการสร้างรากฟันต่อทั้งความยาวและความหนา รวมถึงมี
การปิดของรากฟันที่มากกว่ากลุ่มการทดลองที่ไม่ใส่เซลล์ต้น
กำเนิด สำหรับลักษณะทางมิวสิกวิทยา พบว่ากลุ่มที่ใส่เซลล์
ต้นกำเนิดพบลักษณะของการสร้างทดแทนเนื้อเยื่อในและ
เนื้อฟันในคลองรากฟัน ส่วนกลุ่มที่ไม่ใส่เซลล์ต้นกำเนิดไม่พบ
การสร้างของเนื้อเยื่อทดแทน (49)

การศึกษา CB-REPs ในทางคลินิก

สำหรับการศึกษาเกี่ยวกับ CB-REPs ในผู้ป่วยจริงยังมี
ข้อจำกัดอยู่หลายประการ เนื่องจากวิธีการนี้ต้องมีการสกัด
เอาเซลล์ต้นกำเนิดจากร่างกายผู้ป่วยไปเพาะเลี้ยงในห้อง
ปฏิบัติการก่อน ซึ่งมีค่าใช้จ่ายที่ค่อนข้างสูง ขั้นตอนต่าง ๆ
ต้องมีความสะอาด ปลอดภัยและได้มาตรฐาน Good
Manufacturing Practice (GMP)

โดยภาพรวมของการรักษาด้วย CB-REPs ในมนุษย์นั้น
หลังจากทำความสะอาดคลองรากฟันเรียบร้อยแล้ว จากนั้น
จะทำการคัดแยกเซลล์ต้นกำเนิดออกมาจากร่างกาย โดยจำเป็น
ต้องมีการถอนฟันเพื่อเก็บเนื้อเยื่อใน หากต้องการใช้เซลล์
ต้นกำเนิดโพรงประสาทฟันแท้ แต่หากต้องการเซลล์
ต้นกำเนิดจากเนื้อเยื่อส่วนปลายราก จำเป็นต้องใช้ฟันที่ยังมี
การสร้างรากฟันไม่สมบูรณ์ เพื่อที่จะเก็บเอปิคอล แปปิลลา
บริเวณปลายรากออกมา หลังจากนั้นจะทำการคัดแยกเซลล์
ต้นกำเนิดด้วยวิธีการย่อยเนื้อเยื่อด้วยเอนไซม์ (enzymatic
digestion) เพื่อให้ได้เซลล์ที่อยู่ภายในเนื้อเยื่อดังกล่าวและนำ
เซลล์ไปเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการต่อไป โดยเซลล์ทั้งหมดที่
ได้จะผ่านการทดสอบคุณสมบัติการแสดงเครื่องหมายของ
เซลล์ต้นกำเนิด เพื่อคัดแยกเฉพาะเซลล์ต้นกำเนิดที่ต้องการ
เท่านั้น รวมถึงทดสอบความสามารถในการเปลี่ยนแปลงไป
เป็นเนื้อเยื่อชนิดต่าง ๆ นอกจากนี้ ก่อนนำเซลล์ต้นกำเนิดไป
ใช้ในผู้ป่วยยังต้องมีการทดสอบความสะอาด (sterility test)
โดยการเจริญเติบโตของเชื้อรา แบคทีเรีย รวมถึงไวรัส
อีกด้วย เซลล์ที่ผ่านการทดสอบทั้งหมดจะถูกแช่แข็งไว้
เพื่อรอปลูกถ่ายในผู้ป่วยต่อไป (รูปที่ 5)

ในปัจจุบัน American Association of Endodontics
(AAE) และ The European Society of Endodontology
(ESE) ยังไม่ได้แนะนำให้ใช้ CB-REPs เพื่อรักษาในผู้ป่วย
เนื่องจากมีขั้นตอนที่ยุ่งยาก ต้องผ่านการรับรองมาตรฐาน
GMP มีข้อจำกัดทางกฎหมาย อีกทั้งต้องอาศัยทักษะของ
ทันตแพทย์ที่ค่อนข้างมาก รวมถึงในปัจจุบันยังมีธนาคารเซลล์
ต้นกำเนิดเพื่อจะเก็บเซลล์ต้นกำเนิดของผู้ป่วยไว้ใช้ในอนาคต
ไม่เพียงพอ ดังนั้นการให้การรักษารูปแบบดังกล่าวจึงยัง
จำกัดอยู่เฉพาะในการศึกษาวิจัยเท่านั้น



รูปที่ 5 แสดงภาพรวมของการรักษาด้วย CB-REPs ในทางคลินิก ดัดแปลงมาจาก Huang GT-J และคณะ (36)

การศึกษาที่ใช้วิธี CB-REPs ในทางคลินิกสามารถสรุปได้ดังตารางที่ 2 การศึกษาแรกเป็นของ Nakashima และคณะ ในปี ค.ศ. 2017 ทำการรักษาด้วยการปลูกถ่ายเซลล์ต้นกำเนิดจากประสาทฟันแท้จากตัวผู้ป่วยเอง จำนวน 5 ราย หลังจากติดตามผลการรักษา 24 สัปดาห์ ไม่พบผลข้างเคียงในผู้ป่วยจากการตรวจเลือดและยูรีน โดยพบว่าฟันทุกซี่มีการตอบสนองปกติเมื่อทดสอบความมีชีวิตของฟัน แต่มี 1 ซี่ที่เกิดรอยโรครอบปลายรากฟันขึ้น และผลทางภาพรังสีส่วนตัดคอมพิวเตอร์ชนิดโคนบีบ พบว่ามีการหนาตัวของเนื้อฟันขึ้นภายใน 3 ซี่ (50)

การศึกษาในรูปแบบ randomized controlled trial ของ Xuan และคณะในปี ค.ศ. 2018 รักษาโดยทำการปลูกถ่ายเซลล์ต้นกำเนิดจากฟันเขี้ยวบนบน ลงไปในฟันตายปลายรากฟันเปิด ที่ได้รับอุบัติเหตุในผู้ป่วยอายุ 7-12 ปี เมื่อติดตามผลการรักษา 24 เดือน พบว่าผู้ป่วยปลอดภัยไม่พบผลข้างเคียง และฟันที่รักษาด้วย CB-REPs มีการเพิ่มขึ้นของค่า blood perfusion เมื่อทดสอบด้วยเครื่อง laser doppler flowmetry อีกทั้งยังพบว่า ฟันมีการหนาตัวและ

มีการยาวขึ้นของรากฟัน รวมทั้งพบปลายรากฟันปิดเมื่อดูจากภาพรังสีส่วนตัดคอมพิวเตอร์ชนิดโคนบีบ นอกจากนี้ มีฟัน 1 ซี่ที่ได้รับอุบัติเหตุซ้ำ จำเป็นต้องได้รับการรักษาใหม่ จึงทำการดึงเนื้อเยื่อในของฟันซี่ดังกล่าวออก เพื่อศึกษาลักษณะทางมิวชีววิทยา พบเนื้อเยื่อลักษณะคล้ายเนื้อเยื่อในปกติ คือ ประกอบด้วยชั้นของเซลล์สร้างเนื้อฟัน หลอดเลือด และเส้นประสาทอยู่ภายใน แต่อย่างไรก็ตามไม่สามารถดูลักษณะของเนื้อฟันที่อาจถูกสร้างขึ้นใหม่ได้ เนื่องจากฟันซี่ดังกล่าวไม่ได้รับการถอน (51)

การศึกษาที่ใช้เซลล์ต้นกำเนิดจากบุคคลอื่น คือ เซลล์ต้นกำเนิดที่สกัดจากสายสะดือ (umbilical cord mesenchymal stem cells) จากธนาคารเซลล์ต้นกำเนิด และเมื่อติดตามผลการรักษาพบว่าฟันทุกซี่ไม่พบการเพิ่มขนาดของรอยโรคปลายรากฟัน มีการสร้างหลอดเลือดเมื่อทดสอบด้วยวิธี laser dropper flowmetry และผู้ป่วยไม่มีผลข้างเคียงใด ๆ จากการใช้เซลล์ต้นกำเนิดจากบุคคลอื่น (52) อีกทั้งยังมีการศึกษาที่ให้การรักษาด้วยวิธี CB-REPs ในฟันปลายรากปิด และให้ผลการรักษาที่ดีอีกด้วย (50, 52-54)

ตารางที่ 2 สรุปการศึกษาทางคลินิกในการรักษา CB-REPs

ผู้ทำการ ศึกษา, ปี	รูปแบบ การศึกษา	ชนิดของ เซลล์	รูปแบบฟัน	โครงค้ำยัน และ โกรทแพค เตอร์	ผลการศึกษา
Nakashima และคณะ 2017 (50)	Pilot clinical trial	hDPSC	Irreversible pulpitis mature tooth	Collagen G-CSF	- ติดตามผลการรักษา พบว่าผู้ป่วยปลอดภัย ไม่พบผลข้างเคียง - ฟันตอบสนองต่อ EPT ทุกซี่ - มีการสร้างเนื้อฟันเกิดขึ้นภายในคลองรากฟัน 3 เคสเมื่อดูจาก CBCT - ไม่มีการตรวจด้านมิวชีววิทยา
Xuan และ คณะ 2018 (51)	Randomized controlled trial	hDPSC	Traumatized teeth with pulp necrosis	-	- ติดตามผลการรักษาระยะเวลา 2 ปี พบว่า ผู้ป่วยปลอดภัย ไม่พบผลข้างเคียง - ฟันมีการหนาตัวของรากฟันและมีความยาวมากขึ้น เมื่อเทียบกับกลุ่ม apexification เมื่อดูจาก CBCT - ฟันมีการเพิ่มขึ้นของหลอดเลือดเมื่อทดสอบ LDF - ลักษณะทางมิวชีววิทยาพบชั้นเซลล์สร้างเนื้อฟัน หลอดเลือดและเส้นประสาท ซึ่งมีลักษณะ คล้ายกับเนื้อเยื่อประสาทฟันปกติ
Brizuela และคณะ 2020 (52)	Randomized clinical trial	Human umbilical cord	Mature permanent teeth with apical lesion	Platelet poor plasma (PPP)	- ปลอดภัย ไม่พบผลข้างเคียง - มีการเพิ่มขึ้นของหลอดเลือดเมื่อทดสอบ LDF - ฟันทุกซี่ในกลุ่ม REPs ไม่มีการเพิ่มขนาดของรอยโรครอบปลายราก - ไม่มีการตรวจด้านมิวชีววิทยา
Meza และ คณะ 2019 (53)	รายงานผู้ป่วย	hDPSC	Irreversible pulpitis in mature tooth	PRF	- ปลอดภัย ไม่พบผลข้างเคียง - ไม่พบรอยโรครอบปลายราก - พบ dentine bridge บริเวณกึ่งกลางคลองรากฟัน และ calcification ที่บริเวณปลายราก - ตอบสนองต่อ thermal test ที่ 36 เดือน - ไม่มีการตรวจทางมิวชีววิทยา
Nakashima และคณะ 2022 (54)	รายงานผู้ป่วย	hDPSC	Irreversible pulpitis mature tooth in maxillary molar	Collagen G-CSF	- ปลอดภัย ไม่พบผลข้างเคียง - ไม่พบรอยโรครอบปลายราก - พบ calcification ที่บริเวณปลายราก palatal - ตอบสนองต่อ EPT - ไม่มีการตรวจทางมิวชีววิทยา

บทสรุป

การรักษาด้วยวิธีเจเนอเรทีฟ เอ็นโดดอนติกส์ เป็นการรักษาฟันแท้อย่างปลอดภัย โดยอาศัยหลักการทางวิศวกรรมเนื้อเยื่อ ซึ่งสามารถทำให้เกิดการหายของ รอยโรคปลายราก และยังทำให้เกิดรากฟันที่หนาและยาวขึ้น การรักษาในรูปแบบ CF-REPs ได้รับความนิยมในการรักษา มาเป็นเวลานาน เนื่องจากมีขั้นตอนในการรักษาไม่ยุ่งยาก และค่าใช้จ่ายไม่สูงมากนัก แต่อย่างไรก็ตาม การรักษาในรูปแบบดังกล่าวยังไม่สามารถบรรลุเป้าหมายในแง่ของการ สร้างทดแทนเนื้อเยื่อในและเนื้อฟันได้ ดังนั้น ในอนาคตการ ให้การรักษาแบบ CB-REPs อาจเข้ามามีบทบาทมากยิ่งขึ้น เพื่อให้บรรลุเป้าหมายสูงสุด โดยในส่วนของการศึกษาในสัตว์ ทดลองได้ผลที่น่าพอใจ แต่การศึกษาทางคลินิกในมนุษย์ยังมี ข้อจำกัด ทั้งในเรื่องของจริยธรรม กระบวนการคัดแยกเซลล์ ต้นกำเนิด กระบวนการในห้องปฏิบัติการที่มีความยุ่งยาก รวมถึง ค่าใช้จ่ายที่สูง จึงยังคงเป็นความท้าทายสำหรับทันตแพทย์ และนักวิจัย แต่ท้ายที่สุดจากการทบทวนวรรณกรรมทำให้ พบว่าการสร้างทดแทนเนื้อเยื่อในและเนื้อฟันภายในคลอง รากฟันนั้นไม่ไกลเกินจริง

กิตติกรรมประกาศ

ไม่มี

แหล่งเงินทุน

ไม่มี

ผลประโยชน์ขัดแย้ง

ไม่มี

เอกสารอ้างอิง

1. Lin LM, Huang GT, Sigurdsson A, Kahler B. Clinical cell-based versus cell-free regenerative endodontics: clarification of concept and term. *Int Endod J*. 2021; 54: 887-901.
2. Cui D, Yu S, Zhou X, Liu Y, Gan L, Pan Y, et al. Roles of Dental Mesenchymal Stem Cells in the Management of Immature Necrotic Permanent Teeth. *Front Cell Dev Biol*. 2021; 9: 666186.
3. Galler KM, Eidt A, Schmalz G. Cell-free approaches for dental pulp tissue engineering. *J Endod*. 2014; 40: S41-5.
4. Lovelace TW, Henry MA, Hargreaves KM, Diogenes A. Evaluation of the delivery of mesenchymal stem cells into the root canal space of necrotic immature teeth after clinical regenerative endodontic procedure. *J Endod*. 2011; 37: 133-8.
5. Chrepa V, Henry MA, Daniel BJ, Diogenes A. Delivery of Apical Mesenchymal Stem Cells into Root Canals of Mature Teeth. *J Dent Res*. 2015; 94: 1653-9.
6. Galler KM, Buchalla W, Hiller KA, Federlin M, Eidt A, Schiefersteiner M, et al. Influence of root canal disinfectants on growth factor release from dentin. *J Endod*. 2015; 41: 363-8.
7. Civinini R, Macera A, Nistri L, Redl B, Innocenti M. The use of autologous blood-derived growth factors in bone regeneration. *Clin Cases Miner Bone Metab*. 2011; 8: 25-31.
8. Ruangsawasdi N, Zehnder M, Weber FE. Fibrin gel improves tissue ingrowth and cell differentiation in human immature premolars implanted in rats. *J Endod*. 2014; 40: 246-50.
9. Becerra P, Ricucci D, Loghin S, Gibbs JL, Lin LM. Histologic study of a human immature permanent premolar with chronic apical abscess after revascularization/revitalization. *J Endod*. 2014; 40: 133-9.
10. Lei L, Chen Y, Zhou R, Huang X, Cai Z. Histologic

- and Immunohistochemical Findings of a Human Immature Permanent Tooth with Apical Periodontitis after Regenerative Endodontic Treatment. **J Endod.** 2015; 41: 1172-9.
11. Shimizu E, Jong G, Partridge N, Rosenberg PA, Lin LM. Histologic observation of a human immature permanent tooth with irreversible pulpitis after revascularization/regeneration procedure. **J Endod.** 2012; 38: 1293-7.
 12. Torabinejad M, Faras H. A clinical and histological report of a tooth with an open apex treated with regenerative endodontics using platelet-rich plasma. **J Endod.** 2012; 38: 864-8.
 13. Martin G, Ricucci D, Gibbs JL, Lin LM. Histological findings of revascularized/revitalized immature permanent molar with apical periodontitis using platelet-rich plasma. **J Endod.** 2013; 39: 138-44.
 14. Nosrat A, Kolahdouzan A, Hosseini F, Mehrizi EA, Verma P, Torabinejad M. Histologic Outcomes of Uninfected Human Immature Teeth Treated with Regenerative Endodontics: 2 Case Reports. **J Endod.** 2015; 41: 1725-9.
 15. Shetty H, Shetty S, Kakade A, Desai R, Zhang CF, Neelakantan P. Cone-beam computed tomographic and histological investigation of regenerative endodontic procedure in an immature mandibular second premolar with chronic apical abscess. **J Investig Clin Dent.** 2018; 9: e12352.
 16. Austah O, Joon R, Fath WM, Chrepa V, Diogenes A, Ezeldeen M, et al. Comprehensive Characterization of 2 Immature Teeth Treated with Regenerative Endodontic Procedures. **J Endod.** 2018; 44: 1802-11.
 17. Huang GT, Liu J, Zhu X, Yu Z, Li D, Chen CA, et al. Pulp/Dentin Regeneration: It Should Be Complicated. **J Endod.** 2020; 46: S128-34.
 18. Kim SG. Infection and Pulp Regeneration. **Dent J (Basel).** 2016; 4: 4.
 19. Vishwanat L, Duong R, Takimoto K, Phillips L, Espitia CO, Diogenes A, et al. Effect of Bacterial Biofilm on the Osteogenic Differentiation of Stem Cells of Apical Papilla. **J Endod.** 2017; 43: 916-22.
 20. Verma P, Nosrat A, Kim JR, Price JB, Wang P, Bair E, et al. Effect of Residual Bacteria on the Outcome of Pulp Regeneration In Vivo. **J Dent Res.** 2017; 96: 100-6.
 21. Almutairi W, Yassen GH, Aminoshariae A, Williams KA, Mickel A. Regenerative Endodontics: A Systematic Analysis of the Failed Cases. **J Endod.** 2019; 45: 567-77.
 22. Lee C, Song M. Failure of Regenerative Endodontic Procedures: Case Analysis and Subsequent Treatment Options. **J Endod.** 2022; 48: 1137-45.
 23. Diogenes A, Hargreaves KM. Microbial Modulation of Stem Cells and Future Directions in Regenerative Endodontics. **J Endod.** 2017; 43: s95-101.
 24. Martin DE, De Almeida JF, Henry MA, Khaing ZZ, Schmidt CE, Teixeira FB, et al. Concentration-dependent effect of sodium hypochlorite on stem cells of apical papilla survival and differentiation. **J Endod.** 2014; 40: 51-5.

25. Claudino Ribeiro JR, da Silveira Bueno CE, Bruno KF, Dos Reis S, de Martin AS, Fontana CE, et al. Impact of Sodium Hypochlorite on Organic Tissue Dissolution in the Periapical Region of Immature Permanent Teeth: An Ex Vivo Study. **J Endod.** 2022; 48: 555-60.
26. Trevino EG, Patwardhan AN, Henry MA, Perry G, Dybdal-Hargreaves N, Hargreaves KM, et al. Effect of irrigants on the survival of human stem cells of the apical papilla in a platelet-rich plasma scaffold in human root tips. **J Endod.** 2011; 37: 1109-15.
27. Althumairy RI, Teixeira FB, Diogenes A. Effect of dentin conditioning with intracanal medicaments on survival of stem cells of apical papilla. **J Endod.** 2014; 40: 521-5.
28. Ruparel NB, Teixeira FB, Ferraz CC, Diogenes A. Direct effect of intracanal medicaments on survival of stem cells of the apical papilla. **J Endod.** 2012; 38: 1372-5.
29. American Association of Endodontics. AAE Clinical considerations for a regenerative procedure revised 5/18/2021. 2021 [cited 2022 Feb 26]. Available from: <https://www.aae.org/specialty/wp-content/uploads/sites/2/2021/08/ClinicalConsiderationsApprovedByREC062921.pdf>.
30. Liu C, Xiong H, Chen K, Huang Y, Huang Y, Yin X. Long-term exposure to pro-inflammatory cytokines inhibits the osteogenic/dentinogenic differentiation of stem cells from the apical papilla. **Int Endod J.** 2016; 49: 950-9.
31. Lertchirakarn V, Aguilar P. Effects of Lipopolysaccharide on the Proliferation and Osteogenic Differentiation of Stem Cells from the Apical Papilla. **J Endod.** 2017; 43: 1835-40.
32. Tobias Duarte PC, Gomes-Filho JE, Ervolino E, Marçal Mazza Sundfeld ML, Tadahirowayama M, Lodi CS, et al. Histopathological condition of the remaining tissues after endodontic infection of rat immature teeth. **J Endod.** 2014; 40: 538-42.
33. Liao J, Al Shahrani M, Al-Habib M, Tanaka T, Huang GT. Cells isolated from inflamed periapical tissue express mesenchymal stem cell markers and are highly osteogenic. **J Endod.** 2011; 37: 1217-24.
34. Chrepa V, Pitcher B, Henry MA, Diogenes A. Survival of the Apical Papilla and Its Resident Stem Cells in a Case of Advanced Pulpal Necrosis and Apical Periodontitis. **J Endod.** 2017; 43: 561-7.
35. Nada OA, El Backly RM. Stem Cells From the Apical Papilla (SCAP) as a Tool for Endogenous Tissue Regeneration. **Front Bioeng Biotechnol.** 2018; 6: 103.
36. Huang GT-J, Al-Habib M, Gauthier P. Challenges of stem cell-based pulp and dentin regeneration: a clinical perspective. **Endodontic Topics.** 2013; 28: 51-60.
37. Kim SG. A Cell-Based Approach to Dental Pulp Regeneration Using Mesenchymal Stem Cells: A Scoping Review. **Int J Mol Sci.** 2021; 22.
38. Nakashima M, Iohara K, Bottino MC, Fouad AF, Nör JE, Huang GT. Animal Models for Stem Cell-Based Pulp Regeneration: Foundation for Human Clinical Applications. **Tissue Eng Part B Rev.** 2019; 25: 100-13.
39. Huang GT, Yamaza T, Shea LD, Djouad F, Kuhn NZ, Tuan RS, et al. Stem/progenitor

- cell-mediated de novo regeneration of dental pulp with newly deposited continuous layer of dentin in an in vivo model. **Tissue Eng Part A**. 2010; 16: 605-15.
40. Li X, Ma C, Xie X, Sun H, Liu X. Pulp regeneration in a full-length human tooth root using a hierarchical nanofibrous microsphere system. **Acta Biomater**. 2016; 35: 57-67.
 41. Iohara K, Imabayashi K, Ishizaka R, Watanabe A, Nabekura J, Ito M, et al. Complete pulp regeneration after pulpectomy by transplantation of CD105+ stem cells with stromal cell-derived factor-1. **Tissue Eng Part A**. 2011; 17: 1911-20.
 42. Nakashima M, Iohara K. Pulp Regeneration by Harnessing Dental Pulp Stem Cells. In: Hideharu H, Minoru U, editors. *New Trends in Tissue Engineering and Regenerative Medicine*. Rijeka: IntechOpen; 2014. p. Ch. 3.
 43. Iohara K, Murakami M, Takeuchi N, Osako Y, Ito M, Ishizaka R, et al. A novel combinatorial therapy with pulp stem cells and granulocyte colony-stimulating factor for total pulp regeneration. **Stem Cells Transl Med**. 2013; 2: 521-33.
 44. Murakami M, Hayashi Y, Iohara K, Osako Y, Hirose Y, Nakashima M. Trophic Effects and Regenerative Potential of Mobilized Mesenchymal Stem Cells From Bone Marrow and Adipose Tissue as Alternative Cell Sources for Pulp/Dentin Regeneration. **Cell Transplant**. 2015; 24: 1753-65.
 45. Ishizaka R, Iohara K, Murakami M, Fukuta O, Nakashima M. Regeneration of dental pulp following pulpectomy by fractionated stem/progenitor cells from bone marrow and adipose tissue. **Biomaterials**. 2012; 33: 2109-18.
 46. Iohara K, Murakami M, Nakata K, Nakashima M. Age-dependent decline in dental pulp regeneration after pulpectomy in dogs. **Exp Gerontol**. 2014; 52: 39-45.
 47. Iohara K, Utsunomiya S, Kohara S, Nakashima M. Allogeneic transplantation of mobilized dental pulp stem cells with the mismatched dog leukocyte antigen type is safe and efficacious for total pulp regeneration. **Stem Cell Res Ther**. 2018; 9: 116.
 48. Zhu X, Liu J, Yu Z, Chen CA, Aksel H, Azim AA, et al. A Miniature Swine Model for Stem Cell-Based De Novo Regeneration of Dental Pulp and Dentin-Like Tissue. **Tissue Eng Part C Methods**. 2018; 24: 108-20.
 49. El Ashiry EA, Alamoudi NM, El Ashiry MK, Bastawy HA, El Derwi DA, Atta HM. Tissue Engineering of Necrotic Dental Pulp of Immature Teeth with Apical Periodontitis in Dogs: Radiographic and Histological Evaluation. **J Clin Pediatr Dent**. 2018; 42: 373-82.
 50. Nakashima M, Iohara K, Murakami M, Nakamura H, Sato Y, Aiji Y, et al. Pulp regeneration by transplantation of dental pulp stem cells in pulpitis: a pilot clinical study. **Stem Cell Res Ther**. 2017; 8: 61.
 51. Xuan K, Li B, Guo H, Sun W, Kou X, He X, et al. Deciduous autologous tooth stem cells regenerate dental pulp after implantation into injured teeth. **Sci Transl Med**. 2018; 10.
 52. Brizuela C, Meza G, Urrejola D, Quezada MA, Concha G, Ramirez V, et al. Cell-Based Regenerative Endodontics for Treatment of



- Periapical Lesions: A Randomized, Controlled Phase I/II Clinical Trial. **J Dent Res.** 2020; 99: 523-9.
53. Meza G, Urrejola D, Saint Jean N, Inostroza C, López V, Khoury M, et al. Personalized Cell Therapy for Pulpitis Using Autologous Dental Pulp Stem Cells and Leukocyte Platelet-rich Fibrin: A Case Report. **J Endod.** 2019; 45: 144-9.
54. Nakashima M, Fukuyama F, Iohara K. Pulp Regenerative Cell Therapy for Mature Molars: A Report of 2 Cases. **J Endod.** 2022; 48: 1334-40.