

การศึกษารูปร่างและพฤติกรรมของเซลล์กระดูกบนพื้นผิวของไทเทเนียมแบบต่าง ๆ ในห้องปฏิบัติการ



นายโกเมน กุจะพันธ์

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาสัตวศาสตร์ช่องปากและแม็กซ์ซิลโลเฟเชียล ภาควิชาสัตวศาสตร์

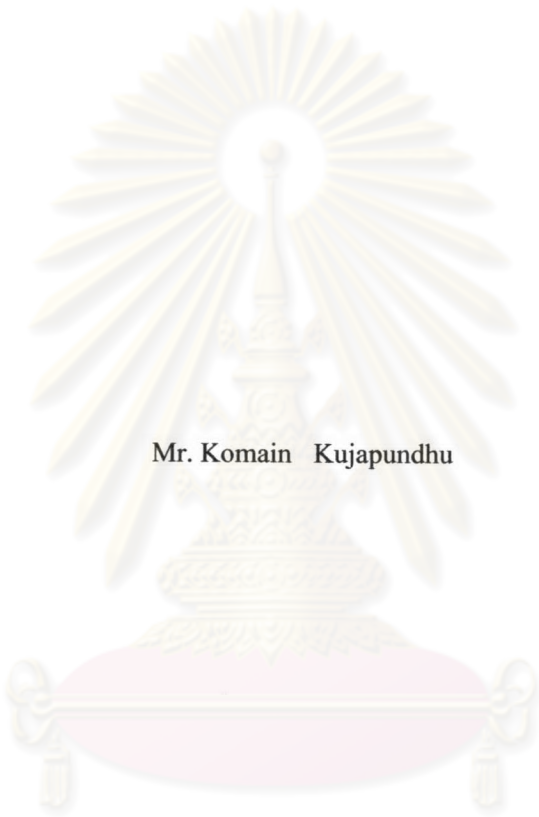
คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2548

ISBN 974-17-5615-1

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

MORPHOLOGY AND BEHAVIOR OF OSTEOBLAST-LIKE CELLS TO TITANIUM  
SURFACES IN VITRO



Mr. Komain Kujapundhu

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements  
for the Degree of Master of Science Program in Oral and Maxillofacial Surgery

Department of Oral and Maxillofacial Surgery

Faculty of Dentistry

Chulalongkorn University

Academic Year 2005

ISBN 974-17-5615-1

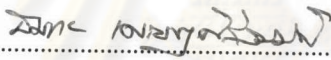
หัวข้อวิทยานิพนธ์ การศึกษารูปร่างและพฤติกรรมของเซลล์กระดูกบนพื้นผิวของ  
ไทเทเนียมแบบต่าง ๆ ในห้องปฏิบัติการ  
โดย นายโกเมน กุจะพันธ์  
สาขาวิชา ศัลยศาสตร์ช่องปากและแม็กซิลโลเฟเชียล  
อาจารย์ที่ปรึกษา อาจารย์ ทันตแพทย์ ดร. ฌรงค์ ลุมพิกานนท์  
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม รองศาสตราจารย์ ทันตแพทย์ ดร.ประสิทธิ์ ภาวสันต์

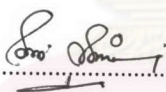
---


คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัย  
เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

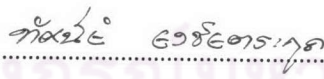
  
.....คณบดีคณะทันตแพทยศาสตร์  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทันตแพทย์หญิง จิตtima กุศิริ)

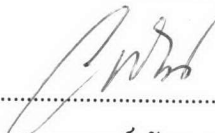
คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

  
.....ประธานกรรมการ  
(รองศาสตราจารย์ ทันตแพทย์ นายแพทย์ สมชาย เศรษฐศิริสมบัติ)

  
.....อาจารย์ที่ปรึกษา  
(อาจารย์ ทันตแพทย์ ดร. ฌรงค์ ลุมพิกานนท์)

  
.....อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม  
(รองศาสตราจารย์ ทันตแพทย์ ดร. ประสิทธิ์ ภาวสันต์)

  
.....กรรมการ  
(รองศาสตราจารย์ ทันตแพทย์หญิง ทศนีย์ ยงชัยตระกูล)

  
.....กรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทันตแพทย์ ดร. อาทิพันธุ์ พิมพ์ขาวจำ)

นายโกเมน กุจะพันธ์ : การศึกษารูปร่างและพฤติกรรมของเซลล์กระดูกบนพื้นผิวของไทเทเนียมแบบต่าง ๆ ในห้องปฏิบัติการ. (MORPHOLOGY AND BEHAVIOR OF OSTEOBLAST-LIKE CELLS TO TITANIUM SURFACES IN VITRO) อ. ที่ปรึกษา : อ.ทพ.ดร.ณรงค์ ลุ่มพิกานนท์  
อ.ที่ปรึกษาร่วม : รศ.ทพ.ดร.ประสิทธิ์ ภาวสันต์ จำนวน 94 หน้า. ISBN 974-17-5615-1.

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษารูปร่างและพฤติกรรมการยึดเกาะของเซลล์ไลน์กระดูกบนพื้นผิวไทเทเนียมอัลลอยด์ที่มีการเตรียมพื้นผิวให้มีความขรุขระแตกต่างกัน กลุ่มตัวอย่างที่ใช้ คือ เซลล์ไลน์ของกระดูกชนิด SaOs2 และชิ้นโลหะไทเทเนียมอัลลอยด์รูปทรงกลมขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 15 มิลลิเมตร หนา 2 มิลลิเมตร ที่มีการเตรียมพื้นผิว จำนวน 4 แบบ คือ พื้นผิวที่เป็น Sandblast(SB)พื้นผิวที่ขัดด้วยกระดาษ Silicon carbide เบอร์ 120 (S120) ,400(S400) และ 1200 (S1200) ตามลำดับ สำหรับลักษณะพื้นผิวของไทเทเนียมอัลลอยด์แต่ละชนิด ทำการศึกษาโดยใช้ Scanning Electron Microscope (SEM) วัดค่าความขรุขระของพื้นผิว (Surface roughness : Ra) ด้วยเครื่อง Profilometer ศึกษารูปร่าง การยึดเกาะและการแพร่กระจายของเซลล์บนพื้นผิวของไทเทเนียมอัลลอยด์ด้วย SEM และเปรียบเทียบ Cell Attachment and Proliferation ด้วยการวัดค่า DNA Assay ผลการศึกษาพบว่า ความขรุขระของพื้นผิวไทเทเนียมอัลลอยด์ ทั้ง 4 แบบ มีความแตกต่างกัน โดยมีค่า Ra ที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < .05$ ) พื้นผิวชนิด sandblast มีค่า Ra สูงสุด ( $Ra = 0.27 \pm 0.01$ ) จำนวนเซลล์ที่ยึดเกาะและแพร่กระจายบนพื้นผิวของพื้นผิวไทเทเนียมอัลลอยด์ ทั้ง 4 แบบ มีความแตกต่างกัน และพบว่า เซลล์ยึดเกาะและแพร่กระจายได้ดีบนพื้นผิวไทเทเนียมอัลลอยด์ที่มีพื้นผิวขรุขระมากกว่า ค่า DNA ที่เวลา 30 นาทีพบว่า ปริมาณ DNA ของเซลล์ที่ยึดเกาะบนพื้นผิวของไทเทเนียมอัลลอยด์ชนิด sandblast มีค่ามากกว่าปริมาณ DNA ของเซลล์ที่ยึดเกาะบนพื้นผิวของไทเทเนียมอัลลอยด์ชนิดอื่น อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < .05$ ) และ ค่า DNA ที่เวลา 20 ชั่วโมง พบว่า ไม่มี ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > .05$ ) ระหว่างปริมาณ DNA ของเซลล์ที่ยึดเกาะบนพื้นผิวของไทเทเนียมอัลลอยด์ชนิด sandblast เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณ DNA ของเซลล์ที่ยึดเกาะบนพื้นผิวของไทเทเนียมอัลลอยด์ชนิด S120 และ S400 ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นถึงอิทธิพลของพื้นผิวของไทเทเนียมอัลลอยด์ต่อพฤติกรรมของเซลล์กระดูกในห้องปฏิบัติการ

ภาควิชาศัลยศาสตร์

สาขาวิชาศัลยศาสตร์ช่องปากและแม็กซิลโลเฟเชียล

ปีการศึกษา 2548

ลายมือชื่อนิสิต.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

## 4576103132 : MAJOR ORAL AND MAXILLOFACIAL SURGERY

KEY WORD: MORPHOLOGY / OSTEOBLAST / TITANIUM / SURFACES

KOMAIN KUJAPUNDHU : MORPHOLOGY AND BEHAVIOR OF OSTEOBLAST-LIKE CELLS TO TITANIUM SURFACES IN VITRO. THESIS ADVISOR : NARONG LUMBIKANONDA, Ph.D. THESIS COADVISOR : ASSOC. PROF. PRASIT PAVASANT, Ph.D. 94 pp. ISBN 974-17-5615-1.

The object of this study was to investigate the cell morphology, initial attachment and subsequent behavior of human osteoblast-like cells to titanium alloy (Ti6Al4V) with varies surface roughness. Titanium discs with 15 mm. in diameter, 2 mm. in thickness were prepared with four different surface type: sandblast (SB), 120 (S120), 400 (S400) and 1200 (S1200) grade polished. Surface roughness was analysed by Scanning Electron Microscopy and profilometer. Cell culture experiments were performed with SaOs2 human osteoblast-like cells. Cell morphology, attachment and proliferation were assessed by Scanning Electron Microscopy and DNA assay. The results indicated that four type of titanium disc have significantly ( $p < .05$ ) different on Roughness average (Ra). Sanblast surface showed highest Ra value ( $Ra = 0.27 \pm 0.01$ ). Number of cells attachment and spreading was different among 4 groups of titanium alloy surface. Cell attachment and spreading was more higher on rougher surface. Analysis of DNA assay at 30 min. demonstrated significant different ( $p < .05$ ) between DNA of attached and proliferated cells on SB surface as compared with the other surfaces. DNA assay at 20 hr. demonstrated no significant different ( $p > .05$ ) among DNA of attached and proliferated cells on 3 groups of SB, S120 and S400 titanium alloy surface. The results indicated that titanium alloy surface topography affects behavior of human osteoblast-like cells in vitro.

Department Oral and Maxillofacial Surgery Student's signature..... *K. Komain*  
 Field of study Oral and Maxillofacial Surgery Advisor's signature..... *X. Lumbikanonda*  
 Academic year 2005 Co-advisor's signature ..... *Prasit Pavasant*

## กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์เรื่องการศึกษาการศึกษารูปร่างและพฤติกรรมของเซลล์กระดูกบนพื้นผิวของไทเทเนียมแบบต่าง ๆ ในห้องปฏิบัติการ ประสบความสำเร็จได้เนื่องจากบุคคลหลายท่านได้กรุณาช่วยเหลือให้ข้อมูล ข้อเสนอแนะ คำปรึกษา แนะนำ ความคิดเห็น และกำลังใจ

ผู้เขียนขอกราบขอบพระคุณ อ.ทพ.ดร.ณรงค์ ลุมพิกานนท์ และ รศ.ทพ.ดร.ประสิทธิ์ ภาสันต์ ที่ได้ให้คำชี้แนะและตรวจสอบวิทยานิพนธ์ทุกขั้นตอนให้สำเร็จได้ตามวัตถุประสงค์

ขอกราบขอบพระคุณคณะอาจารย์ภาควิชาศัลยศาสตร์ทุกท่าน ที่ได้ถ่ายทอดวิชาความรู้และประสบการณ์อันทรงคุณค่าให้แก่ผู้เขียน และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ภาควิชาศัลยศาสตร์ทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือและประสานงานเป็นอย่างดีด้วยอัธยาศัยไมตรีอันอบอุ่น

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการเนื้อเยื่ออินทรีย์ ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ภายใต้การดูแลของ รศ.ทพ.ดร.ประสิทธิ์ ภาสันต์ เจ้าหน้าที่ศูนย์วิจัยทันตวัสดุศาสตร์ทุกท่าน และเจ้าหน้าที่ที่ดูแลห้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน ที่ให้ความร่วมมือในการทดลอง ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งที่ทำให้วิทยานิพนธ์ของผู้ศึกษาสำเร็จลุล่วงด้วยดี

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## สารบัญ

|  | หน้า |
|--|------|
| บทคัดย่อภาษาไทย.....   | ง    |
| บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....  | จ    |
| กิตติกรรมประกาศ.....   | ฉ    |
| สารบัญ.....  | ช    |
| สารบัญตาราง.....   | ฅ    |
| สารบัญภาพ.....   | ญ    |
| สารบัญแผนภูมิแท่ง.....   | ฎ    |
| <br>   |      |
| บทที่ 1 บทนำ.....  | 1    |
| 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....  | 1    |
| 1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....   | 3    |
| 1.3 สมมติฐานของงานวิจัย.....   | 3    |
| 1.4 ประโยชน์ที่ได้รับจากงานวิจัย.....  | 3    |
| 1.5 วิธีดำเนินการวิจัย.....  | 3    |
| บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....  | 5    |
| 2.1 ไทเทเนียมและไทเทเนียมอัลลอยด์.....   | 5    |
| 2.2 การใช้ไทเทเนียมและไทเทเนียมอัลลอยด์ในทางการแพทย์.....                                  | 12   |
| 2.3 การตอบสนองของเซลล์ต่อไทเทเนียมและไทเทเนียมอัลลอยด์.....                                | 15   |
| 2.4 การจำแนกลักษณะพื้นผิวของไทเทเนียมและไทเทเนียมอัลลอยด์.....                             | 16   |
| 2.5 ความแตกต่างของพื้นผิวไทเทเนียมและไทเทเนียมอัลลอยด์ต่อการตอบสนอง<br>ของเซลล์กระดูก..... | 21   |
| บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย.....  | 24   |
| 3.1 การเตรียมชิ้นตัวอย่างไทเทเนียมอัลลอยด์.....  | 24   |
| 3.2 การเตรียมเซลล์.....  | 26   |
| 3.3 การวัดผลการตอบสนองของเซลล์ต่อพื้นผิวไทเทเนียมอัลลอยด์.....                             | 28   |
| 3.4 เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย.....  | 29   |
| 3.5 การวิเคราะห์ข้อมูล.....  | 32   |
| บทที่ 4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล.....  | 33   |
| 4.1 ลักษณะพื้นผิวของไทเทเนียมอัลลอยด์.....   | 33   |

|   |    |
|---|----|
| 4.2 การขีดเกาะของเซลล์ SaOs2 บนพื้นผิวของไทเทเนียมอัลลอยด์..... | 39 |
| 4.3 ผลการศึกษาด้วยวิธีวัดค่าดีเอ็นเอ (DNA Assay).....           | 47 |
| บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ.....             | 50 |
| 5.1 อภิปรายผล.....  | 50 |
| 5.2 สรุปผลการวิจัย.....   | 54 |
| 5.3 ข้อเสนอแนะ.....   | 55 |
| รายการอ้างอิง.....  | 56 |
| ภาคผนวก.....  | 66 |
| ประวัติผู้ทำวิทยานิพนธ์.....                                    | 94 |



ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



## สารบัญตาราง

| ตาราง   | หน้า |
|---|------|
| ตารางที่ 1 แสดงคุณสมบัติเชิงกลของโลหะไทเทเนียมและไทเทเนียมอัลลอยด์.....                     | 11   |
| ตารางที่ 2 แสดงค่า Ra (หน่วยเป็น $\mu\text{m}$ ) ของพื้นผิวไทเทเนียมอัลลอยด์ทั้ง 4 แบบ..... | 38   |



ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## สารบัญภาพ

| ภาพประกอบ   | หน้า |
|---|------|
| รูปที่ 1 แสดงโครงสร้างผลึกแบบ BCC .....   | 6    |
| รูปที่ 2 แสดงโครงสร้างผลึกแบบ HCP .....   | 7    |
| รูปที่ 3 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า Yield Strength กับ อุณหภูมิ ของ โลหะไทเทเนียมแต่ละชนิด .....                      | 8    |
| รูปที่ 4 รูปแสดงโครงสร้างของโลหะผสมไทเทเนียมแบบอัลฟา (Alpha Titanium Alloys)....  | 9    |
| รูปที่ 5 รูปแสดงโครงสร้างผลึกของโลหะผสมไทเทเนียมแบบ Equiaxed grains.....  | 10   |
| รูปที่ 6 รูปแสดงโครงสร้างผลึกของโลหะผสมไทเทเนียมแบบ Acicular.....   | 11   |
| รูปที่ 7 แสดงส่วนต่างๆของพื้นผิวของรากเทียม.....  | 18   |
| รูปที่ 8 แสดง form,roughness,waviness.....  | 19   |
| รูปที่ 9 แสดง Amplitude parameter.....  | 20   |
| รูปที่ 10 แสดง Spacing parameter.....   | 20   |
| รูปที่ 11 แสดง Hybrid parameter.....  | 21   |
| รูปที่ 12 แสดงบริเวณที่วัดค่า Ra บนชิ้นตัวอย่างไทเทเนียมอัลลอยด์.....   | 26   |
| รูปที่ 13 แสดงบริเวณที่สู่มันวัดด้วยเครื่อง Scanning Electron Microscope (SEM)....  | 31   |
| รูปที่ 14 ภาพถ่าย SEM แสดงพื้นผิวของไทเทเนียมอัลลอยด์ชนิด sandblast.....  | 34   |
| รูปที่ 15 ภาพถ่าย SEM แสดงพื้นผิวของไทเทเนียมอัลลอยด์ชนิดที่ขัดด้วยกระดาษ silicon carbide เบอร์ 120.....                  | 34   |
| รูปที่ 16 ภาพถ่าย SEM แสดงพื้นผิวของไทเทเนียมอัลลอยด์ชนิดที่ขัดด้วยกระดาษ silicon carbide เบอร์ 400.....                  | 35   |
| รูปที่ 17 ภาพถ่าย SEM แสดงพื้นผิวของไทเทเนียมอัลลอยด์ชนิดที่ขัดด้วยกระดาษ silicon carbide เบอร์ 1200.....                 | 35   |
| รูปที่ 18 ภาพถ่าย Digital แสดง surface roughness ของไทเทเนียมอัลลอยด์ชนิด sandblast....                                   | 36   |
| รูปที่ 19 ภาพถ่าย Digital แสดง surface roughness ของไทเทเนียมอัลลอยด์ชนิดที่ขัดด้วยกระดาษ silicon carbide เบอร์ 120.....  | 36   |
| รูปที่ 20 ภาพถ่าย Digital แสดง surface roughness ของไทเทเนียมอัลลอยด์ชนิดที่ขัดด้วยกระดาษ silicon carbide เบอร์ 400 ..... | 37   |

| ภาพประกอบ   | หน้า |
|---|------|
| รูปที่ 21 ภาพถ่าย Digital แสดง surface roughness ของไทเทเนียมอัลลอยด์ชนิดที่ขัดด้วย<br>กระดาษ silicon carbide เบอร์ 1200 .....                      | 37   |
| รูปที่ 22 ภาพถ่าย SEM แสดงการยึดเกาะ (attachment) ของเซลล์ SaOs2 บนพื้นผิว<br>ไทเทเนียมอัลลอยด์ ชนิด sandblast.....                                 | 40   |
| รูปที่ 23 ภาพถ่าย SEM แสดงการยึดเกาะ (attachment) ของเซลล์ SaOs2 บนพื้นผิว<br>ไทเทเนียมอัลลอยด์ ชนิดที่ขัดด้วยกระดาษ silicon carbide เบอร์ 120..... | 41   |
| รูปที่ 24 ภาพถ่าย SEM แสดงการยึดเกาะ (attachment) ของเซลล์ SaOs2 บนพื้นผิว<br>ไทเทเนียมอัลลอยด์ ชนิดที่ขัดด้วยกระดาษ silicon carbide เบอร์ 400..... | 41   |
| รูปที่ 25 ภาพถ่าย SEM แสดงการยึดเกาะของเซลล์ SaOs2 บนพื้นผิวไทเทเนียมชนิด<br>ที่ขัดด้วยกระดาษ silicon carbide เบอร์ 1200.....                       | 42   |
| รูปที่ 26 ภาพถ่าย SEM แสดงการยึดเกาะ (attachment) ของเซลล์ SaOs2 ระยะที่ 1.....   | 42   |
| รูปที่ 27 ภาพถ่าย SEM แสดงการยึดเกาะ (attachment) ของเซลล์ SaOs2 ระยะที่ 2.....   | 43   |
| รูปที่ 28 ภาพถ่าย SEM แสดงการยึดเกาะ (attachment) ของเซลล์ SaOs2 ระยะที่ 3.....   | 43   |
| รูปที่ 29 ภาพถ่าย SEM แสดงการยึดเกาะ (attachment) ของเซลล์ SaOs2 ระยะที่ 4.....   | 44   |

## สารบัญแผนภูมิแท่ง

| แผนภูมิแท่ง  | หน้า |
|--|------|
| แผนภูมิแท่งที่ 1 แสดงค่าเฉลี่ยของจำนวนเซลล์ที่ยึดเกาะบนพื้นผิวของไทเทเนียมอัลลอยด์<br>ทั้ง 3 แบบ.....  | 39   |
| แผนภูมิแท่งที่ 2 แสดงค่าเฉลี่ยของจำนวนเซลล์ SaOs2 ในระยะที่ 1 ถึง 4 ที่ยึดเกาะบน<br>พื้นผิวของไทเทเนียมอัลลอยด์ชนิดที่ขัดด้วยกระดาษ silicon carbide<br>เบอร์ 120.....  | 45   |
| แผนภูมิแท่งที่ 3 แสดงค่าเฉลี่ยของจำนวนเซลล์ SaOs2 ในระยะที่ 1 ถึง 4 ที่ยึดเกาะบน<br>พื้นผิวของไทเทเนียมอัลลอยด์ชนิดที่ขัดด้วยกระดาษ silicon carbide<br>เบอร์ 400.....  | 46   |
| แผนภูมิแท่งที่ 4 แสดงค่าเฉลี่ยของจำนวนเซลล์ SaOs2 ในระยะที่ 1 ถึง 4 ที่ยึดเกาะบน<br>พื้นผิวของไทเทเนียมอัลลอยด์ชนิดที่ขัดด้วยกระดาษ silicon carbide<br>เบอร์ 1200..... | 47   |
| แผนภูมิแท่งที่ 5 แสดงค่าร้อยละของปริมาณ DNA ของเซลล์ที่ยึดเกาะบนพื้นผิวไทเทเนียม<br>อัลลอยด์ที่เวลา 30 นาที.....   | 48   |
| แผนภูมิแท่งที่ 6 แสดงค่าร้อยละของปริมาณ DNA ของเซลล์ที่ยึดเกาะบนพื้นผิวไทเทเนียม<br>อัลลอยด์ที่เวลา 20 ชั่วโมง.....  | 49   |