

Abstract

Project Code : MRG4980025

Project Title : Effects of nacre water-soluble matrix on osteoblasts in the elevated extracellular glucose condition

Investigator : Assist.Prof.Suchaya Pornprasertuk-Damrongsri

Department of oral Radiology, Faculty of Dentistry, Mahidol university

E-mail Address : dtspr@mahidol.ac.th

Project Period : July 1st, 2006 – December 31st, 2008

Nacre is a calcified structure that forms the lustrous inner layer of some molluscan shells. Its organic matrix has been classified as “water-soluble matrix, WSM” and “water-insoluble matrix”, based on its solubility in aqueous solutions. The WSM of nacre is believed to be intimately involved in guiding crystal nucleation and growth through molecular interactions between matrix macromolecules and minerals. In diabetic bone, the osteoblastic bone deposition is decreased whereas the osteoclastic bone resorption is increased resulting in delay matrix mineralization. The purpose of this study was to evaluate whether the WSM from the nacre of *Pinctada maxima* enhances the *in vitro* osteoblastic mineralization in the diabetic condition. MC3T3-E1, an osteoblastic cell line, and primary human bone cells were cultured under normal and intermittent high extracellular glucose conditions for 4 weeks. The mineralized nodules were determined by Alizarin Red S staining and the bone matrix markers were analyzed by real-time PCR. With the presence of the WSM in normal medium condition, MC3T3-E1 cells produced slightly more matrix mineralization than that of control. At day 29, under the intermittent high extracellular glucose condition, the mineralized nodules were more abundant and the bone sialoprotein expression significantly increased, compared to those groups without glucose. However, the effect of WSM under diabetic condition was not significantly different from those of the controls. In conclusion, nacre WSM could enhance matrix mineralization of osteoblastic cell line under normal glucose level. Under the intermittent high extracellular glucose, matrix mineralization was delayed but it was accelerated in the late mineralization with highly expressed bone sialoprotein, a marker of osteoblastic differentiation.

Keywords : nacre of *Pinctada maxima*, mineralization, osteoblast, diabetes, high glucose

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ: MRG4980025

ชื่อโครงการ: ผลของเปลือกหอยส่วนที่ละลายน้ำได้ต่อเซลล์สร้างกระดูกในสภาวะที่มีน้ำตาลสูง

ชื่อนักวิจัย: ผู้ช่วยศาสตราจารย์ทันตแพทย์หญิง ดร. สุชยา ดำรงค์ศรี

ภาควิชารังสีวิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

E-mail Address : dtspr@mahidol.ac.th

ระยะเวลาโครงการ: ๑ กรกฎาคม ๒๕๔๙ ถึง ๓๑ ธันวาคม ๒๕๕๑

อินทรียสารของชั้นในของเปลือกหอยมุก (nacre) สามารถแบ่งตามคุณสมบัติในการละลายได้เป็น ๒ ส่วน คือ ส่วนที่ละลายน้ำได้ และส่วนที่ไม่ละลายน้ำ ส่วนที่ละลายน้ำได้นั้นเชื่อว่าเป็นตัวนำในการเกิดนิวเคลียส และการเติบโตของผลึกอินทรียของเปลือกหอยโดยผ่านอันตรกิริยาเชิงโมเลกุลระหว่างเมทริกซ์แอมอร์ฟัสโมเลกุลกับแร่ ในสภาวะเบาหวานการสร้างกระดูกลดลงและการสลายกระดูกเพิ่มขึ้นยังผลให้การสะสมแร่ในกระดูกช้าลง การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินความสามารถของส่วนที่ละลายน้ำได้ของชั้นในของเปลือกหอยมุก (*Pinctada maxima*) เพื่อเร่งการสร้างกระดูกในสภาวะที่เป็นเบาหวานได้หรือไม่ โดยทดสอบกับสายพันธุ์ของเซลล์สร้างกระดูก (MC3T3-E1 cell line) และเซลล์สร้างกระดูกปฐมภูมิ (primary bone cells) ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีระดับน้ำตาลสูงเป็นระยะๆ เทียบกับที่มีระดับน้ำตาลระดับปกติเป็นเวลา ๔ สัปดาห์ แล้วศึกษาการสะสมของแคลเซียมด้วยวิธีย้อมสีAlizarin Red S และวิเคราะห์ตัวบ่งชี้การสร้างกระดูก (bone matrix markers) ด้วยวิธี real-time PCR จากผลการทดลองพบว่าเซลล์สร้างกระดูกที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีส่วนที่ละลายน้ำได้ของชั้นในของเปลือกหอยมุกอยู่สามารถสะสมแคลเซียมได้มากกว่าปกติ ส่วนในสภาวะที่อาหารเลี้ยงเซลล์มีระดับน้ำตาลสูงเป็นระยะๆ ในวันที่ ๒๙ ของการเพาะเลี้ยงพบมีการสะสมของแคลเซียมมากกว่าปกติ และมีการแสดงออกของ bone sialoprotein สูงกว่าปกติอย่างเห็นได้ชัด แต่ผลของส่วนที่ละลายน้ำได้ของชั้นในของเปลือกหอยมุกต่อการสะสมแคลเซียมยังไม่ชัดเจนในสภาวะที่อาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีระดับน้ำตาลสูง การวิจัยนี้สรุปได้ว่าส่วนที่ละลายน้ำได้ของชั้นในของเปลือกหอยมุกสามารถเร่งการสะสมของแคลเซียมของเซลล์สร้างกระดูกได้มากกว่าปกติในสภาวะที่มีระดับน้ำตาลปกติ และในสภาวะที่มีน้ำตาลสูงเป็นระยะๆ การสะสมแคลเซียมของเซลล์สร้างกระดูกในระยะแรกช้าลง แต่กลับมีจำนวนมากขึ้นในระยะหลังซึ่งสัมพันธ์กับการมีแสดงออกของ bone sialoprotein ที่สูงกว่าปกติซึ่งเป็นตัวบ่งชี้ในการพัฒนาของเซลล์สร้างกระดูก (osteoblastic differentiation)

คำหลัก: ชั้นในของเปลือกหอยมุก, การสะสมแคลเซียม, เซลล์สร้างกระดูก, เบาหวาน, น้ำตาลสูง