

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ : MRG5480112

ชื่อโครงการ : บทบาทของนอซท์ลิแกนต่อการควบคุมสภาพของเซลล์เอ็นโดพลาสมิกเรติคูลัมของมนุษย์

ชื่อนักวิจัย : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทันตแพทย์ ดร. ธนภูมิ โอสธานนท์

คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

E-mail Address : osathanon.t@gmail.com

ระยะเวลาโครงการ: มิถุนายน 2554 – มิถุนายน 2556

สัญญาณนอซท์ลิแกนมีบทบาทในเซลล์หลายชนิดโดยเกี่ยวข้องกับการควบคุมการคงสภาพและการแปรสภาพของเซลล์ การศึกษานี้ผู้วิจัยศึกษาความสามารถในการควบคุมการแปรสภาพของเซลล์ต้นกำเนิดเมเซนไคม์ที่แยกได้จากเนื้อเยื่อเอ็นโดพลาสมิกเรติคูลัมด้วยการใช้พื้นผิวที่มีการตรึงนอซท์ลิแกน เจกเก็ต 1 ภายหลังจากการหว่านเซลล์ลงบนพื้นผิวที่มีการตรึงเจกเก็ต 1 เซลล์มีการแสดงออกของอาร์เอ็นเอเนื้องอกของยีนเป้าหมายของสัญญาณนอซท์ลิแกน เฮส 1 และ เฮ 1 มากขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่กระตุ้นด้วยนอซท์ลิแกนในอาหารเลี้ยงเซลล์ปกติ การเพิ่มขึ้นของอาร์เอ็นเอเนื้องอกของยีนเป้าหมายของสัญญาณนอซท์ลิแกนนี้จะถูกยับยั้งด้วยสารยับยั้งเอนไซม์แกมมาซีรีเทส เมื่อทำการหว่านเซลล์ลงบนพื้นผิวที่มีการตรึงเจกเก็ต 1 แล้วเลี้ยงต่อในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่กระตุ้นการแปรสภาพไปเป็นเซลล์สร้างกระดูก พบว่ามีการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลฟอสฟาเทสและมีการสะสมตะกอนแคลเซียม รวมทั้งการแสดงออกของอาร์เอ็นเอเนื้องอกของ อัลคาไลน์ฟอสฟาเทส คอลลาเจนชนิดที่ 1 และออสติโอพอนทิน เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม อย่างไรก็ตามพบว่าการแสดงออกของอาร์เอ็นเอเนื้องอกของออสติโอแคลซินลดลง นอกจากนี้พบว่าการลดลงของอาร์เอ็นเอเนื้องอกของทวิส 2 ด้วย แสดงให้เห็นว่าเจกเก็ต 1 กระตุ้นเซลล์ต้นกำเนิดเมเซนไคม์ที่แยกได้จากเนื้อเยื่อเอ็นโดพลาสมิกเรติคูลัมให้มีการแปรสภาพไปเป็นเซลล์สร้างกระดูกผ่านทางกระตุ้นสัญญาณนอซท์ลิแกนและยับยั้งทวิส นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อทำการหว่านเซลล์ลงบนพื้นผิวที่มีการตรึงเจกเก็ต 1 ในภาวะที่ปราศจากซีรัม เซลล์จะมีการแปรสภาพไปเป็นเซลล์ประสาท โดยพบมีการเพิ่มการแสดงออกของเบต้า 3-ทูบูลินเมื่อยับยั้งการแสดงออกของสัญญาณนอซท์ลิแกนด้วยสารยับยั้งเอนไซม์แกมมาซีรีเทส หรือการใช้โดมิแนนเนกกาทีฟของมาสเตอร์มายโลคโปรตีน จะสามารถยับยั้งการแปรสภาพของเซลล์ต้นกำเนิดจากเนื้อเยื่อเอ็นโดพลาสมิกเรติคูลัมได้ ดังนั้นการปรับปรุงพื้นผิวชีววัสดุด้วยนอซท์ลิแกนสามารถใช้ในการกระตุ้นการแปรสภาพของเซลล์ต้นกำเนิดเมเซนไคม์ที่แยกได้จากเนื้อเยื่อเอ็นโดพลาสมิกเรติคูลัมให้แปรสภาพไปเป็นเซลล์สร้างกระดูกและเซลล์ประสาทได้ ในภาวะการเลี้ยงที่เหมาะสม

คำหลัก : สัญญาณนอซท์ลิแกน เจกเก็ต 1 เซลล์ต้นกำเนิดที่แยกได้จากเนื้อเยื่อเอ็นโดพลาสมิกเรติคูลัม การแปรสภาพ เซลล์สร้างกระดูก

Abstract

Project Code : MRG5480112

Project Title: Role of Notch Ligand on Controlling of Human Periodontal Ligament Cell Fate.

Investigator : Assistant Professor Dr. Thanaphum Osathanon

E-mail Address : osathanon.t@gmail.com

Project Period : June 2011 – June 2013

Notch signaling plays critical roles in various cell types by regulating cell fate determination and differentiation. Here, we investigated the ability to control differentiation of human periodontal ligament derived mesenchymal stem cells using modified surfaces containing the affinity immobilized Notch ligand, JAGGED1. After seeding human periodontal ligament derived mesenchymal stem cells (HPDLs) on JAGGED1 modified surfaces, expression of Notch signaling target genes, *HES1* and *HEY1*, was higher than those exposed to soluble JAGGED1 or control surfaces. Upregulation of Notch signaling target genes was attenuated after treatment with the gamma-secretase inhibitor. Upon seeding the cells on Jagged-1 immobilized surface and maintained in osteogenic medium, alkaline phosphatase enzymatic activity and mineralization as well as mRNA expression of alkaline phosphatase (*ALP*), collagen type I (*COL I*) and osteopontin (*OPN*) were significantly increased compared to those of controls. However, osteocalcin (*OCN*) mRNA expression level was decreased when cells were exposed to Jagged-1 modified surfaces. HPDLs on JAGGED1 modified surfaces expressed lower *TWIST2* mRNA levels than the control, suggesting that the mechanism whereby JAGGED1 enhances osteogenic differentiation of HPDLs may occur through Notch signaling and *TWIST* regulation. In addition, neurogenic differentiation was observed upon seeding cells on the JAGGED1 bounded surface in the absence of serum. Inhibition of Notch signaling using gamma-secretase inhibitor or dominant negative mastermind like protein resulted in the attenuation of neurogenic differentiation. In summary, an alteration of biomaterial interface using Notch ligands illustrates a promising system to control HPDLs differentiation toward osteogenic and neurogenic lineage under specific culture condition.

Keywords : Notch signaling, human periodontal ligament-derived mesenchymal stem cells, differentiation, osteoblasts