

Abstract

Project Code: TRG5780033

Project Title: Estrogen biosynthesis and synaptic plasticity in aged hippocampus

Investigator: Assist.Prof. Siriporn Chamniansawat

Division of Anatomy, Department of Biomedical Sciences,
Faculty of Allied Health Sciences, Burapha University

E-mail: siripornc@buu.ac.th

Project Period: 2.0 years

Aging is associated with a decline in cognitive functions that can be explained by changes in hippocampal synaptic plasticity. Aged hippocampus exhibited a restructuring of neuronal process and loss of synaptic integrity subsequently failure of synaptic plasticity. Since synaptic plasticity is directly regulated by hippocampal-derived estrogen, it seems probably that aging may be altered hippocampal estrogen biosynthesis. The present study aims to demonstrate the amount of de novo estrogen synthesis and expression of steroidogenic acute regulatory protein (StAR) in aged hippocampus. Moreover, this study specifically focuses on the role of microglia in aged hippocampus. The amount of estrogen in the hippocampus from 2 months, 4 months, 12 months and 20 months Sprague-Dawley rats was determined by using ELISA kit. The StAR expression in hippocampus was determined by using Western blot. Moreover, activating microglia marker, MHC II, expression was determined by Western blot. To study the mechanisms of activated microglia on the alteration of estrogen biosynthesis in aged hippocampal neurons, microglia activation was induced by 10 ug/ml lipopolysaccharide (LPS), a classic inducer for activation of microglia. Then, amount of estrogen, expression of StAR, as well as expression of synaptic plasticity genes were determined from hippocampal neuronal culture. The result showed that amount of estrogen was significantly decreased in hippocampus of 20-month rat. The expression of StAR was significantly decreased in hippocampus of 12 and 20-month rats. Moreover, microglia transforms to activation state in age hippocampus (20-month rat) by increase the expression of MHC II. In vitro study, LPS induced expression of the microglial activation markers MHC II, CD11b, and ionized calcium-binding adapter molecule 1 (Iba1). Similar to aged brain, prolonged LPS exposure also enhanced the secretion of interleukin (IL)-6 and nitric oxide (NO) from microglial cells. Exposure to either LPS-activated microglia or IL-6, significantly suppressed the expression of synaptic proteins and the secretion of de novo hippocampal estrogen in hippocampal neuronal culture. In addition, activated microglia also decreased the expression of postsynaptic density-95 and synaptophysin in hippocampal neuronal culture. These findings indicated that estrogen synthesis was inhibited by activated microglia, lead to inhibit the expression of synaptic proteins in aged hippocampus. The present study explored the potential role of the hippocampal-derived estrogen, which acts as a novel therapeutic target for prevention and treatment of age-related memory impairment without detrimental consequence from exogenous estrogen replacement.

Keywords: Aging, Estrogen, Hippocampal neuron, Microglia, Memory

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ: TRG5780033
ชื่อโครงการวิจัย: Estrogen biosynthesis and synaptic plasticity in aged hippocampus
ชื่อนักวิจัย: ผศ.ดร.ศิริพร จำเนียรสวัสดิ์
สาขาวิชากายวิภาคศาสตร์, ภาควิชาชีวเวชศาสตร์,
คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา
E-mail address: Siripornc@buu.ac.th
ระยะเวลาโครงการ: 2 ปี

ภาวะชรา มีความสัมพันธ์กับการเสื่อมถอยของหน้าที่ในการเรียนรู้ ซึ่งสามารถอธิบายได้โดยการเปลี่ยนแปลงของกระบวนการไซแนปติกพลาสติกซิตีในสมองส่วนฮิปโปแคมปัส ฮิปโปแคมปัสของสมองชรา มีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของแขนงประสาทและสูญเสียความแข็งแรงของไซแนปส์นำไปสู่ความล้มเหลวของกระบวนการไซแนปติกพลาสติกซิตี เมื่อกระบวนการไซแนปติกพลาสติกซิตีถูกควบคุมได้โดยเอสโตรเจนที่สังเคราะห์ขึ้นในสมองส่วนฮิปโปแคมปัส จึงดูเหมือนว่าภาวะชราจะมีการเปลี่ยนแปลงกระบวนการสังเคราะห์เอสโตรเจนในฮิปโปแคมปัส งานวิจัยครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปริมาณของเอสโตรเจน และการแสดงออกของโปรตีน steroidogenic acute regulatory (StAR) ในสมองส่วนฮิปโปแคมปัสชรา มากกว่านี้ การศึกษาครั้งนี้ยังให้ความสนใจไปที่บทบาทของไมโครเกลียในฮิปโปแคมปัสชรา ปริมาณของเอสโตรเจนในฮิปโปแคมปัสของหนูทดลองสายพันธุ์ Sprague-Dawley ที่อายุ 2 เดือน 4 เดือน 12 เดือน และ 20 เดือน ถูกนำมาวิเคราะห์ด้วยวิธี ELISA โดยใช้ชุดทดสอบแบบสำเร็จรูปแบบสำเร็จรูป การแสดงออกของโปรตีน StAR ถูกทดสอบด้วยวิธี Western Blot นอกจากนี้การแสดงผลของตัวบ่งชี้ภาวะไมโครเกลียถูกกระตุ้น คือ MHC II ก็ถูกทดสอบด้วยวิธี Western Blot ด้วยเช่นกัน เพื่อที่จะศึกษาผลกระทบการทำงานของไมโครเกลียที่ถูกกระตุ้นต่อกระบวนการสังเคราะห์เอสโตรเจนในฮิปโปแคมปัสชรา การทดลองนี้จึงทำการเหนี่ยวนำให้ไมโครเกลียอยู่ในภาวะกระตุ้นด้วยการให้สาร lipopolysaccharide ที่ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อไมโครลิตร ซึ่งเป็นตัวเหนี่ยวนำดั้งเดิมในการกระตุ้นไมโครเกลีย จากนั้นทำการศึกษาก่อนและหลังการให้เอสโตรเจน การแสดงออกของโปรตีน StAR และการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการไซแนปติกพลาสติกซิตี ในเซลล์ประสาทฮิปโปแคมปัสเพาะเลี้ยง ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าปริมาณของเอสโตรเจนลดลงในฮิปโปแคมปัสของหนูทดลองที่อายุ 12 เดือน และ 20 เดือน การแสดงออกของโปรตีน StAR ลดลงในฮิปโปแคมปัสของหนูทดลองที่อายุ 12 เดือน และ 20 เดือน เช่นกัน นอกจากนี้ยังพบว่าไมโครเกลียมีการเปลี่ยนแปลงตัวเองไปอยู่ระยะกระตุ้น ในฮิปโปแคมปัสของหนูทดลองอายุ 20 เดือน โดยมีการแสดงออกเพิ่มขึ้นของ MHC II การศึกษาในหลอดทดลองพบว่า LPS เหนี่ยวนำให้มีการแสดงออกของตัวบ่งชี้ภาวะไมโครเกลียถูกกระตุ้น ได้แก่ MHC II, CD11b, และ ionized calcium-binding adapter molecule 1 (Iba1) เช่นเดียวกับที่พบในสมองชรา การที่ไมโครเกลียได้รับ LPS เป็นเวลานานเหนี่ยวนำให้มีการหลั่งเพิ่มขึ้นของ interleukin (IL)-6 และ nitric oxide (NO) ทั้งการสัมผัสกับภาวะไมโครเกลียถูกกระตุ้นจากการให้ LPS หรือ การได้รับ IL-6 สามารถยับยั้งการแสดงออกของโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการไซแนปติกพลาสติกซิตี และยับยั้งการหลั่งของเอสโตรเจนจากเซลล์ประสาทเพาะเลี้ยงฮิปโปแคมปัสในอาหารเลี้ยงเซลล์ นอกจากนี้ไมโครเกลียระยะกระตุ้นมีผลยับยั้งการแสดงออกของโปรตีน postsynaptic density 95 และ synaptophysin ในเซลล์ประสาทเพาะเลี้ยงฮิปโปแคมปัสได้ การค้นพบครั้งนี้บ่งชี้ว่ากระบวนการสังเคราะห์เอสโตรเจนถูกยับยั้งได้โดยการกระตุ้นไมโครเกลีย นำไปสู่การยับยั้งการแสดงออกของโปรตีนที่บริเวณไซแนปส์ในฮิปโปแคมปัสชรา การศึกษานี้แสดงให้เห็นถึงบทบาทที่สำคัญของเอสโตรเจนที่สังเคราะห์ในฮิปโปแคมปัส ซึ่งอาจจะเป็นเป้าหมายในการป้องกันรักษาผู้ป่วยความจำเสื่อมในภาวะชราได้ โดยไม่ต้องให้เอสโตรเจนเพิ่มเติม

คำสำคัญ: ภาวะชรา, เอสโตรเจน, เซลล์ประสาทฮิปโปแคมปัส, ไมโครเกลีย, ความจำ