ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
245893

รายงานฉบับสมบูรณ์โครงการวิจัย

เรื่อง

การศึกษาระดับของ ADAM8 ในน้ำเหลืองเหงือกจากผู้ป่วยโรคปริทันต์

The Study of ADAM8 Levels in Gingival Crevicular Fluid (GCF) from Patients with Periodontal Disease

จัดทำโดย

รศ.ทพ.ดร. สุทธิชัย กฤษณะประกรกิจ

ผศ.ทพญ.ดร. สาครรัตน์ คงขุนเทียน

อ.ทพ.ดร. ชยารพ สุพรรณชาติ

อ.ทพญ.ดร. พัทนินทร์ มนตรีขจร

อ.ทพญ. พรรณวดี พันธัย

อ.ทพญ. สรัญญา ธาวนพงษ์

ทุนอุดหนุนการวิจัยเพื่อเพิ่มศักยภาพด้านการวิจัย จากงบประมาณเงินรายได้ ประจำปี 2554

คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

เมษายน 2555

b00251986

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
245893

รายงานฉบับสมบูรณ์โครงการวิจัย

เรื่อง

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

การศึกษาระดับของ ADAM8 ในน้ำเหลืองเหงือกจากผู้ป่วยโรคปริทันต์

The Study of ADAM8 Levels in Gingival Crevicular Fluid (GCF) from Patients with Periodontal Disease

จัดทำโดย

รศ.ทพ.ดร. สุทธิชัย กฤษณะประกรกิจ

ผศ.ทพญ.ดร. สาครรัตน์ คงขุนเทียน

อ.ทพ.ดร. ชยารพ สุพรรณชาติ

อ.ทพญ.ดร. พัทนินทร์ มนตรีขจร

อ.ทพญ. พรรณวดี พันธัย

อ.ทพญ. สรัญญา ธาวนพงษ์

ทุนอุดหนุนการวิจัยเพื่อเพิ่มศักยภาพด้านการวิจัย จากงบประมาณเงินรายได้ ประจำปี 2554

คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

เมษายน 2555

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากงบประมาณเงินรายได้ของคณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ประจำปี 2554 คณะผู้วิจัยขอขอบคุณรองศาสตราจารย์ ดร. ศิริวรรณ องค์ไชย ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์ human chondrosacroma cell line SW1353 มาใช้ในการทดลองเพื่อใช้เป็นตัวควบคุมที่ให้ผลบวก ตลอดจน นางสาว ปรีณา โชติจำลอง นักศึกษาระดับปริญญาเอก สาขาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ และ ทพญ. ปรารถนา เตชาเสถียร นักศึกษาระดับปริญญาโท คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ และอาสาสมัครในโครงการวิจัยนี้ทุกคน ที่ให้ความกรุณาช่วยเหลือในด้านเทคนิคต่าง ๆ และมีส่วนร่วมในงานวิจัยนี้เป็นอย่างดี จนทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงตามวัตถุประสงค์ของโครงการวิจัยที่ได้ตั้งไว้

งานวิจัยครั้งนี้ หากมีข้อบกพร่องหรือขาดความสมบูรณ์ของเนื้อหา คณะผู้วิจัยต้องขออภัยไว้ ณ ที่นี้ด้วย และคณะผู้วิจัยยังคาดหวังว่าผลการทดลองจากโครงการวิจัยนี้จะเป็นประโยชน์ต่อการสร้างองค์ความรู้ใหม่ในสาขาปริทันตวิทยา ตลอดจนความเป็นไปได้ในการพัฒนาชุดตรวจจากสารชีวโมเลกุลตัวใหม่ ๆ ซึ่งได้แก่ ADAM8 เพื่อใช้ในการวินิจฉัยแยกโรคปริทันต์อักเสบชนิดต่าง ๆ ต่อไป

รศ.ทพ.ดร. สุทธิชัย กฤษณะประกรกิจ

ผศ.ทพญ.ดร. สาครรัตน์ คงขุนเทียน

อ.ทพ.ดร. ชยารพ สุพรรณชาติ

อ.ทพญ.ดร. พัทนินทร์ มนตรีขจร

อ.ทพญ. พรรณวดี พันธัย

อ.ทพญ. สรัญญา ธาวนพงษ์

เมษายน 2555

การศึกษาระดับของ ADAM8 ในน้ำเหลืองเหงือกจากผู้ป่วยโรคปริทันต์

รศ.ทพ.ดร. สุทธิชัย กฤษณะประกรกิจ,[1] ผศ.ทพญ.ดร. สาครรัตน์ คงขุนเทียน,[2] อ.ทพ.ดร. ชยารพ สุพรรณชาติ,[3] อ.ทพญ.ดร. พัทนินทร์ มนตรีขจร,[2] อ.ทพญ. พรรณวดี พันธัย[2] และ อ.ทพญ. สรัญญา ธาวนพงษ์[2]

[1]ภาควิชาชีววิทยาช่องปากและวิทยาการวินิจฉัยโรคช่องปาก, [2]ภาควิชาทันตกรรมบูรณะและปริทันตวิทยา, [3]ภาควิชาศัลยศาสตร์ช่องปากและแมกซิลโลเฟเชียล คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

บทคัดย่อ

245893

ADAM 8 เป็นโปรตีนบนเยื่อหุ้มเซลล์ชนิดที่ 1 ทำหน้าที่ได้หลายอย่าง พบมากในเซลล์ของระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย ระดับของ ADAM 8 ที่เพิ่มขึ้นสามารถตรวจพบได้ในสารคัดหลั่งหลายชนิดที่มีความสัมพันธ์กับสภาวะการอักเสบแบบต่างๆ เช่น โรคข้ออักเสบรูห์มาตอยด์ อย่างไรก็ตาม ยังไม่มีการศึกษาเกี่ยวกับระดับของ ADAM 8 ในโรคที่มีการอักเสบของอวัยวะปริทันต์ ดังนั้น การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์ในการตรวจวัดระดับของ ADAM 8 ในน้ำเหลืองเหงือกของผู้ป่วยโรคปริทันต์ ประชากรที่นำมาศึกษาจำนวน 40 คนประกอบด้วย ผู้มีสุขภาพเหงือกดี 10 คน ผู้ป่วยโรคเหงือกอักเสบ 10 คน ผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบชนิดก้าวร้าว 10 คน และผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบชนิดเรื้อรัง 10 คน ลักษณะทางคลินิกที่ตรวจได้แก่ ร่องลึกปริทันต์ (PPD) ระดับการสูญเสียการยึดเกาะของอวัยวะปริทันต์ (CAL) ดัชนีเหงือกอักเสบ (GI) และ ดัชนีคราบจุลินทรีย์ (PI) จากนั้นเก็บตัวอย่างน้ำเหลืองเหงือกด้วย periopaper strip ตรวจวัดการปรากฏของ ADAM 8 ด้วยวิธี Western blot และวัดระดับของ ADAM 8 ด้วยวิธี ELISA ผลการศึกษาพบว่ามีแถบความเข้มของผลิตภัณฑ์ที่ระดับ 70 กิโลดาลตัน เข้มกว่าในผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบเมื่อเปรียบเทียบกับผู้ป่วยโรคเหงือกอักเสบ สอดคล้องไปกับการศึกษาระดับของ ADAM 8 ที่พบว่าค่ามัธยฐานของ ADAM 8 ในผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบสูงกว่าผู้ที่มีสุขภาพเหงือกดีและผู้ป่วยโรคเหงือกอักเสบอย่างมีนัยสำคัญที่ $p < 0.05$ นอกจากนี้ยังพบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างร่องลึกปริทันต์ที่น้อยกับร่องลึกปริทันต์ที่มากในกลุ่มโรคปริทันต์อักเสบชนิดเรื้อรัง ($p < 0.05$) เมื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างระดับ ADAM 8 กับลักษณะทางคลินิกพบว่ามีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.01$) ทั้งนี้แสดงให้เห็นว่าระดับของ ADAM 8 ที่เพิ่มขึ้นนั้นสอดคล้องไปกับการทำลายกระดูกและสภาวะการอักเสบ การศึกษานี้สรุปได้ว่าระดับของ ADAM 8 ในน้ำเหลืองเหงือกเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญสอดคล้องไปกับระดับความรุนแรงของโรค จึงมีความเป็นไปได้ในการนำ ADAM 8 มาใช้เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพของการอักเสบและการทำลายอวัยวะปริทันต์ อย่างไรก็ตาม ควรทำการศึกษาโดยศึกษาระดับของ ADAM 8 ร่วมกับตัวบ่งชี้ทางชีวภาพชนิดอื่น

The Study of ADAM8 Levels in Gingival Crevicular Fluid (GCF) from Patients with Periodontal Disease

Suttichai Krisanaprakornkit,[1] Sakornrat Khongkhunthian,[2] Chayarop Supanchart,[3] Pattanin Montreekachon,[2] Panwadee Bandhaya,[2] and Saranya Thawanaphong[2]

[1]Department of Oral Biology and Diagnostic Sciences, [2]Department of Restorative Dentistry and Periodontology, [3]Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Faculty of Dentistry, Chiang Mai University

Abstract

245893

A disintegrin and metalloproteinase 8 (ADAM 8), a type I membrane-anchored protein with a wide range of functions, is mainly expressed in cells of the immune systems. The elevated levels of ADAM8 have been detected in several secretions in association with various types of inflammatory conditions, such as rheumatoid arthritis. However, the expression of ADAM 8 in the periodontium correlated with the inflammatory state of periodontal tissue has not yet been investigated. Therefore, in the present study, we determined whether the levels of ADAM 8 were elevated in gingival crevicular fluid (GCF) of patients with periodontal diseases. Forty patients with various periodontal conditions, including healthy gingiva (n=10), gingivitis (n=10), aggressive periodontitis (n=10), and chronic periodontitis (n=10), were recruited in this study. The clinical parameters, including periodontal probing depth (PPD), clinical attachment level (CAL), gingival index (GI) and plaque index (PI) were recorded prior to GCF collection with periopaper strips. The presence of ADAM 8 was demonstrated by Western blot, and its levels were measured by ELISA. The findings showed a strong immunoreactive band at 70 kDa in the periodontitis groups, compared to a weaker band in the gingivitis group. Consistently, the median ADAM 8 levels in the periodontitis groups were significantly greater than the median ADAM 8 level in the healthy gingiva or that in the gingivitis group ($p < 0.05$). Furthermore, the significant difference between the shallow and the deep pocket was found in chronic periodontitis group ($p < 0.05$). The ADAM 8 levels were found to be significantly correlated with all clinical parameters tested in this study ($p < 0.01$), indicating that the ADAM 8 levels correspond to bone destruction and inflammatory conditions in periodontal diseases. In summary, the ADAM 8 levels in GCF were significantly elevated in association with the disease severity. It is probable that ADAM 8 may serve as a biomarker for periodontal inflammation and destruction. However, other biomarkers should be included in the future study.

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	จ
สารบัญภาพ	ฉ
อักษรย่อและสัญลักษณ์	ซ
บทนำ	
-ที่มาและความสำคัญของปัญหา	1
-วัตถุประสงค์	3
-สมมติฐานการวิจัย	3
-ขอบเขตการวิจัย	3
สรุปสาระสำคัญจากเอกสารที่เกี่ยวข้อง	4
วัสดุและวิธีการศึกษา	16
ผลการศึกษา	25
อภิปรายผลการศึกษา	34
สรุปผลการศึกษา	39
เอกสารอ้างอิง	40
ประวัติของคณะผู้วิจัย	43

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ชนิด ลักษณะ จำนวนกรดอะมิโน และหน้าที่ของ ADAM	10
2	จำนวน เพศ และอายุเฉลี่ยของประชากรกลุ่มต่างๆ	25
3	จำนวนตำแหน่งที่เก็บตัวอย่างน้ำเหลืองเหงือกในประชากรกลุ่มต่างๆ	26
4	ระดับ ADAM 8 ของกลุ่มต่างๆ	28

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ลักษณะทางคลินิกของผู้ป่วยโรคเหงือกอักเสบ	1
2	ลักษณะทางคลินิกและภาพถ่ายรังสีของผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบชนิดเรื้อรัง	2
3	ลักษณะทางคลินิกของผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบชนิดก้าวร้าว	2
4	แผนภูมิแสดงการเกิดโรคปริทันต์อักเสบ	4
5	กลไกที่ระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายตอบสนองต่อโรคปริทันต์	6
6	ไซโทไคน์ต่างๆ ที่มีบทบาทในการเกิดโรคปริทันต์	7
7	ภาพจำลองแสดงการสร้างเซลล์สลายกระดูก	8
8	ภาพจำลองแสดงการทำงานของ ADAM	11
9	ลำดับกรดอะมิโนของ ADAM 8	12
10	การสร้างเซลล์สลายกระดูกที่เพิ่มตามความเข้มข้นของ ADAM 8	12
11	การทำลายเนื้อฟันเป็นหลุมสอดคล้องไปตามความเข้มข้นของ ADAM 8	13
12	การทำลายของกระดูกในหนูที่ถูกดัดแปลงพันธุกรรม	14
13	การติดสีของเนื้อเยื่อของผู้ป่วย	14
14	ระดับของ TACE ในผู้ป่วยโรคปริทันต์แบบต่างๆ	15
15	Periopaper strip (Periopaper)	20
16	เครื่อง Periotron (Periotron 8000™)	20
17	วิธีการเก็บตัวอย่างน้ำเหลืองเหงือกจากร่องลึกปริทันต์	20
18	ใส่ตัวอย่างใน SDS-PAGE ที่มีเจลร้อยละ 10	21
19	แยกโปรตีนใน SDS-PAGE ที่มีเจลร้อยละ 10 ด้วยกระแสไฟฟ้า	22
20	ย้ายโปรตีนมาใส่ในแผ่นไนโตรเซลลูโลส	22
21	การตรวจวัดโปรตีนที่แสดงให้เห็นว่าสารละลายเปลี่ยนเป็นสีฟ้า	24
22	สีของสารละลายเปลี่ยนไปเป็นสีเหลืองเมื่อถูกหยุดปฏิกิริยา	24
23	การอ่านผลด้วย ELISA plate reader	24
24	แถบโปรตีน ADAM 8 ที่ถูกแยกด้วยวิธี western blot	27
25	ระดับ ADAM 8 ในกลุ่มที่มีสุขภาพเหงือกดีเปรียบเทียบกับโรคปริทันต์กลุ่มต่างๆ	29
26	ระดับ ADAM 8 ในกลุ่มเหงือกอักเสบเปรียบเทียบกับโรคปริทันต์กลุ่มต่างๆ	30
27	ระดับ ADAM 8 ในผู้ป่วยโรคปริทันต์ชนิดต่างๆ	31

28	ระดับ ADAM 8 ในผู้ป่วยโรคปริทันต์ชนิดต่างๆ	31
29	ความสัมพันธ์ระหว่างระดับ ADAM 8 กับร่องลึกปริทันต์	32
30	ความสัมพันธ์ระหว่างระดับ ADAM 8 กับระดับการสูญเสียการยึดเกาะของอวัยวะปริทันต์	32
31	ความสัมพันธ์ระหว่างระดับ ADAM 8 กับดัชนีเหงือกอักเสบ	33
32	ความสัมพันธ์ระหว่างระดับ ADAM 8 กับดัชนีคราบจุลินทรีย์	33

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

อักษรย่อและสัญลักษณ์

AAP	The American Academy of Periodontology
ADAM	A Disintegrin And Metalloproteases
ADAM8	A Disintegrin And Metalloprotease 8
CAL	clinical attachment level
CFU-GM	granulocyte-macrophage colony-forming unit
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay
GI	gingival index
ICAM	intercellular adhesion molecule
IL	interleukin
LPS	lipopolysaccharide
M-CSF	macrophage-colony stimulating factor
MMP	matrix metalloproteinase
OPG	osteoprotegerin
PI	plaque index
PPD	probing pocket depth
RANK	receptor activator of nuclear factor-kappa B
RANKL	receptor activator of nuclear factor-kappa B ligand
SDS	sodium dodecyl sulfate
SDS-PAGE	SDS-polyacrylamide gel electrophoresis
TACE	tumor necrosis factor-alpha-converting enzyme
TNF-α	tumor necrosis factor-alpha
Tris-HCl	tris-hydrochloride