T136740

รหัสโครงการ : RDG3/18/2543

ชื่อโครงการ : ความสัมพันธ์ระหว่างสารหลั่งจากแบคทีเรียในรอยโรคปริทันต์กับการกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ MMP-2

ชื่อนักวิจัย : ประสิทธิ์ ภวสันต์[1] จินตกร คูวัฒนสุชาติ[2] ทัศนีย์ ดรงค์สุวรรณ[1] สุคนธา เจริญวิทย์[1]
[1] ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ [2]ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

email address : prasit.pav@chula.ac.th

ระยะเวลาโครงการ : พฤษภาคม 2543 – เมษายน 2545

บทคัดย่อ :

วัตถุประสงค์ของงานวิจัยครั้งนี้ เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างสารหลั่งจากแบคทีเรียที่เพาะเลี้ยงจากร่องลึกปริทันต์ โดยเฉพาะสารหลั่งจากเชื้อ *P.gingivalis* (Pg) และ *A.actinomycetemcomitans* (Aa) กับการกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ MMP-2 ในเซลล์เหงือกและเซลล์เอ็นยึดปริทันต์ของมนุษย์ เซลล์เหงือกและเซลล์เอ็นยึดปริทันต์เพาะเลี้ยงจากเนื้อเยื่อเหงือกและเอ็นยึดปริทันต์ที่ได้จากฟันของผู้ป่วยที่ถอนด้วยเหตุผลทางทันตกรรมจัดฟัน เซลล์จะถูกกระตุ้นด้วยสารหลั่งจากแบคทีเรียทั้งที่เพาะเลี้ยงจากร่องลึกปริทันต์และจากสายพันธุ์อ้างอิงของ Pg และ Aa เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นจึงวิเคราะห์การกระตุ้นการทำงานของ MMP-2 ด้วยวิธี gelatin zymography ผลการทดลองแสดงว่าสารหลั่งทั้งจากเชื้อที่เพาะเลี้ยงจากร่องลึกปริทันต์และจากสายพันธุ์อ้างอิงสามารถกระตุ้นการทำงานของ MMP-2 ในเซลล์ทั้งสองชนิด และจากการศึกษากลไกการกระตุ้นการทำงานของ MMP-2 พบว่าสารหลั่งจาก Pg สามารถเหนี่ยวนำการแสดงออกของ MT1-MMP ทั้งในระดับโปรตีนและ mRNA ในขณะที่สารหลั่งจาก Aa ลดการหลั่ง TIMP-2 เนื่องจาก MT1-MMP และ TIMP-2 ทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับการกระตุ้นการทำงานของ MMP-2 ดังนั้น กลไกการกระตุ้นการทำงานของ MMP-2 จากผลของสารหลั่ง จึงเป็นกลไกแบบ MMP dependent เมื่อทำการศึกษาถึงบทบาทของ LPS จากทั้ง Pg และ Aa ในการกระตุ้นการทำงานของ MMP-2 พบว่า LPS จากเชื้อทั้งสองชนิดสามารถกระตุ้นการทำงานของ MMP-2 ได้โดยตรงโดยไม่ต้องผ่านเซลล์ และกลไกการกระตุ้นการทำงานของ MMP-2 โดย LPS จะต่างจากกลไกการกระตุ้นโดยสารหลั่ง และเกี่ยวข้องกับ serine protease activity ของ LPS นอกจากนี้ ผลการทดลองยังแสดงว่าทั้งสารหลั่งและ LPS สามารถเพิ่มระดับการแสดงออกของ IL-1β และ TNF-α ในเซลล์เหงือกและเซลล์เอ็นยึดปริทันต์ แต่การทดลองเติม IL-1β และ TNF-α ลงในอาหารเลี้ยงเซลล์กลับไม่มีผลต่อการกระตุ้นการทำงานของ MMP-2 ดังนั้น จึงอาจสรุปว่า IL-1β และ TNF-α ไม่มีผลต่อการกระตุ้นการทำงานของ MMP-2 โดยสารหลั่งและ LPS ผลการทดลองครั้งนี้ แสดงว่า สารหลั่งและ LPS จากเชื้อ *P.gingivalis* และ *A.actinomycetemcomitans* สามารถกระตุ้นการทำงานของ MMP-2 ในเซลล์เหงือกและเซลล์เอ็นยึดปริทันต์ และการเพิ่มขึ้นของ active MMP-2 นี้น่าจะสัมพันธ์กับการเพิ่มการทำลายของเนื้อเยื่อปริทันต์ด้วย การศึกษาเพิ่มเติมถึงกลไกการควบคุมการทำงานของ MMP-2 จะเป็นประโยชน์ต่อการควบคุมความรุนแรงของรอยโรคปริทันต์ต่อไป

TE 136740

Project Code : RDG3/18/2543

Project Title : The relationship between secretion from bacteria in periodontal disease and activation of MMP-2.

Investigators : Prasit Pavasant[1], Jintakorn Coowattanasuchat[2] Tussanee Darongsuwan[1] Sucontha Chareonvit[1]

[1]Department of Anatomy, [2]Department of Microbiology, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University

email address : prasit.pav@chula.ac.th

Project Duration : May 2000 – April 2002

Abstract :

The purpose of this study is to investigate the relationship between the supernatant from anaerobic bacteria cultivated from periodontal pocket, especially the supernatant of *P.gingivalis* (Pg) and *A.actinomycetemcomitans* (Aa), and the activation of MMP-2 in human gingival fibroblasts (GF) and human periodontal ligament cells (PDL). Human GF and PDL cells were grown from the explants obtained from the teeth extracted for orthodontic reason. Cells were treated with the supernatant from bacteria cultivated either directly from periodontal pocket or from the reference strains of Pg and Aa for 48 hours and analyzed the activation of MMP-2 by gelatin zymography. The results indicated that supernatants from both pathogenic and reference strains of bacteria could activate MMP-2 from GF and PDL cells. Studies in detailed mechanism of MMP-2 activation revealed that the supernatant from Pg upregulated the expression of MT1-MMP in both transcription and translation levels while the supernatant from Aa decreased the secretion of TIMP-2. Thus, the activation of MMP-2 by bacterial supernatant was MMP-dependent mechanism since MT1-MMP and TIMP-2 are known to be involved in the activation of MMP-2. We also examined the effect of LPS from both Pg and Aa on the activation of MMP-2. The result suggested that LPS from both types of bacteria could activate MMP-2 in the medium directly via serine protease activity in LPS. Although both bacterial supernatant and LPS could induce the expression of IL-1β and TNF-α in GF and PDL cells, addition of exogenous IL-1β or TNF-α had no effect on the activation of MMP-2. The result indicated that there was no interaction between the presence of IL-1β and TNF-α and the activation of MMP-2 in GF and PDL cells. In conclusion, these results showed that the activation of MMP-2 could be induced in both GF and PDL cells by the supernatant and LPS from Pg and Aa, suggesting that high level of active MMP-2 in periodontal tissue play a role in the periodontal tissue destruction. Further investigation about the regulation of MMP-2 activation may help in controlling the severity of periodontal disease.