

**Thesis Title** Effect of Sesamin on Osteoblast Metabolism  
**Author** Ms. Kanchanit Boonmaleerat  
**Degree** Master of Science (Biochemistry)  
**Thesis Advisor** Assoc. Prof. Dr. Prachya Kongtawelert

### ABSTRACT

The imbalanced functions of osteoblast and osteoclast causes osteoporosis, which is the most common metabolic bone disease in humans. It is characterized by low bone mass, microarchitectural deterioration, and an increase in the risk of fracture. More than 50% of osteoporosis prevalence found after the age of 60, and marked in women more than men. Osteoporosis causes considerable disability, morbidity, mortality and high cost for treatment in the protection. This disease might be protected by supplementation with estrogen hormone or some food supplement. We investigate the effect of one of the most popular supplement, sesamin, which is the sesame lignan that has many biological functions, but its effect on the osteoblast metabolism has not been reported.

Human fetal osteoblast cells line (hFOB 1.19, ATCC<sup>®</sup> No. CRL-11372<sup>™</sup>) were cultured in DMEM treated with various concentrations of sesamin (0.5-10.0 µg/ml). After 24 hours of sesamin treatment, RNA were extract, then converted to cDNA and gene expression analysis. It was found that sesamin at high dose (10.0 µg/ml) can increase mRNA level of the osteogenic markers ( $p < 0.05$ ); *ALP*, *BMP-2*, *Col1*, *BSP*, *OC* and *OP* by RT-PCR. The analysis by real-time qPCR

demonstrated that sesamin dose-dependently (1.0, 2.5, 5.0 and 10.0  $\mu\text{g/ml}$ ) increased the expression of bone formation markers (*ALP*, *BMP-2*, *COL1* and *OC*) and a potent antagonist of osteoclast differentiation, *OPG* ( $p < 0.05$ ). In addition, sesamin can elevate the alkaline phosphatase activity level and the nodule formation. The highest level of alkaline phosphatase activity was found on day 7 and the calcium nodule formation was appeared on day 21 of the study period.

These results indicated that sesamin have direct stimulatory effects on osteoblast metabolism *via* decrease bone resorption and increase formation which it can be suggested that sesame products, that containing high level sesamin is useful in the prevention and treatment of osteoporosis.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ ผลของเซซามินต่อเมแทบอลิซึมของออสทีโอเบลาสต์

ผู้เขียน นางสาว กานต์ชนิด บุญมาลีรัตน์

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ชีวเคมี)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

รศ.ดร. ปรัชญา คงทวีเลิศ

บทคัดย่อ

โรคกระดูกพรุนมีสาเหตุมาจากความไม่สมดุลของการทำงานระหว่างเซลล์ออสทีโอเบลาสต์ และออสทีโอคลาสต์ โรคกระดูกพรุนเป็นโรคที่มีมวลกระดูกน้อยกว่าปกติ มีการเปลี่ยนแปลงที่โครงสร้างภายในส่งผลให้กระดูกมีความเสี่ยงที่แตกหักง่าย โรคกระดูกพรุนมักพบในเพศหญิงมากกว่าชายที่มีอายุตั้งแต่ 60 ปีขึ้นไป โดยมีอุบัติการณ์มากกว่า 50% เป็นสาเหตุของการพิการทุพพลภาพ และตาย และคุณภาพชีวิตทำให้มีคุณภาพชีวิตไม่ดีและมีค่าใช้จ่ายในการรักษาสูง การได้รับฮอร์โมนเอสโตรเจนหรืออาหารเสริมเป็นวิธีป้องกันโรคกระดูกพรุนได้ งานวิจัยนี้ได้

ศึกษาผลของงาดำซึ่งจัดว่ามีคุณสมบัติต่อสุขภาพ ซึ่งพบว่าสารสำคัญในงาดำคือ เซซามิน ที่เป็นสารในกลุ่มลิกันแนนมีคุณสมบัติที่ดีต่อสุขภาพ แต่ทั้งนี้ยังไม่มีการศึกษาถึงผลของสารเซซามิน ต่อเมแทบอลิซึมของออสทีโอเบลาสต์

ได้ทำการศึกษาโดยการเลี้ยงเซลล์ออสทีโอเบลาสต์ (hFOB1.19, ATCC<sup>®</sup> No. CRL-

11372<sup>™</sup>) ในอาหารเลี้ยงเซลล์ DMEM ที่ปราศจากซีรั่มในภาวะที่มีและไม่มีเซซามิน โดยใช้

ความเข้มข้นของเซซามิน 0.5-10.0 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นทำการสกัด

แยกอาร์เอ็นเอจากเซลล์และเปลี่ยนเป็นซีดีเอ็นเอ เพื่อศึกษาการแสดงออกของยีนในกลุ่มการสร้างกระดูกด้วยวิธี reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR) จากการศึกษาพบว่าเซซามินที่ความเข้มข้นสูงสุด (10.0 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) เพิ่มระดับการแสดงออกของยีน *alkaline phosphatase (ALP)*, *bone morphogenic protein-2 (BMP-2)*, *bone sialoprotein (BSP)*, *type I collagen (COL1)*, *osteocalcin (OC)* และ *osteopontin (OP)* อย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) เมื่อวิเคราะห์การแสดงออกของยีนด้วยวิธี real-time PCR พบว่ามีการแสดงออกของยีน *ALP*, *BMP-2*, *COL1*, *OC* และ *osteoprotegerin (OPG)* ซึ่งจัดเป็นตัวยับยั้งพัฒนาการของออสติโอคลาสต์ มีการแสดงออกเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของเซซามิน (1.0, 2.5, 5.0 และ 10.0 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) อย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) นอกจากนี้เซซามินสามารถช่วยเพิ่มระดับการทำงานของเอนไซม์แอลคาไลน์ฟอสฟาเทส โดยพบระดับสูงสุดในวันที่ 7 ของการศึกษา และการสร้างปุ่มสะสมแคลเซียมโดยพบว่าเซซามินช่วยให้เกิดปุ่มสะสมแคลเซียมขึ้นในวันที่ 21 ของการศึกษา

ผลการศึกษาในครั้งนี้ทำให้ทราบว่าเซซามินมีผลโดยตรงต่อเมแทบอลิซึมของออสติโอคลาสต์โดยควบคุมทั้งลดการสลายและเพิ่มการสร้างกระดูก ดังนั้นผลิตภัณฑ์จากงาดำซึ่งมี

เซซามินเป็นองค์ประกอบปริมาณมากมีประโยชน์ในการนำไปใช้เพื่อป้องกันและรักษาโรคกระดูกพรุนได้