

**THE EFFECTS AND MECHANISM OF PROLACTIN ON BONE  
REMODELING**



**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT  
OF THE REQUIREMENTS FOR  
THE DEGREE OF DOCTOR OF PHILOSOPHY  
(PHYSIOLOGY)  
FACULTY OF GRADUATE STUDIES  
MAHIDOL UNIVERSITY**

**2008**

**COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY**

## ผลและกลไกการออกฤทธิ์ของโพรแลคตินต่อการสร้างและสลายกระดูก (THE EFFECTS AND MECHANISM OF PROLACTIN ON BONE REMODELING)

คุณมณี เสรีวัฒนาชัย 4637351 SCPS/D

ปร.ค. (สตรีวิทยา)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์: นทีทิพย์ กลุณามระ, ปร.ค., ดวงพร สุทธิพงษ์ชัย, ปร.ค., สมนึก ดำรงกิจชัยพร, พ.บ., สินี คิษฐาบรกรัง, พ.บ.

### บทคัดย่อ

การลดลงของมวลกระดูกอันเนื่องมาจากภาวะโพรแลคตินสูงในเลือดส่วนใหญ่เชื่อว่ามาจากผลของภาวะฮอร์โมนเพศต่ำแต่มีรายงานพบการลดลงของมวลกระดูกในผู้ป่วยภาวะโพรแลคตินสูงมีฮอร์โมนเพศปกติ นอกจากนี้มีรายงานพบว่าตัวรับโพรแลคตินที่เซลล์มะเร็งกระดูกและเซลล์ปกติของหนู ซึ่งแปลว่าโพรแลคตินอาจออกฤทธิ์โดยตรงต่อเซลล์กระดูกได้ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงจะศึกษาผลและกลไกการส่งสัญญาณของโพรแลคตินต่อการสร้างและสลายกระดูก

การวิจัยใช้เซลล์ MG-63 (เลียนแบบเซลล์สร้างกระดูกในผู้ใหญ่) และ hFOB (เลียนแบบเซลล์สร้างกระดูกในทารก) เลี้ยงในสารละลายที่มีโพรแลคตินเลียนในความเข้มข้นคล้ายในภาวะร่างกายได้แก่ ระดับปกติ: 1,10 นก./มล., ขณะให้นม: 100 นก./มล. และภาวะพยาธิสภาพเช่น มะเร็งต่อมพิทูอิทารี: 1000 นก./มล. พบว่าในเซลล์ MG-63 โพรแลคตินที่ 100 1000 นก./มล. มีผลลดการทำงานของเซลล์และการแสดงออกของยีนสื่อสติโอคาลซินซึ่งเป็นยีนบ่งชี้ภาวะการเจริญเต็มที่ของเซลล์ (differentiation) ทั้งยังเพิ่มความสามารถในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของเซลล์สลายกระดูกโดยลดการแสดงออกของยีนสื่อสติโอคาลซิน (ตัวรับหลักของแรงสปีโดแกนด) ในขณะที่เดียวกันก็เพิ่มแรงสปีโดแกนดทำให้สัดส่วนของแรงสปีโดแกนดต่อโอพีจีสูงขึ้นซึ่งจะมีผลต่อการกระตุ้นการสลายกระดูก ส่วนในเซลล์ hFOB ซึ่งเหมือนเซลล์กระดูกในทารก โพรแลคตินที่ 1000 นก./มล. ลดการทำงานของเซลล์ขณะที่โพรแลคตินที่ 100 และ 1000 นก./มล. เพิ่มการแสดงออกของยีนสื่อสติโอคาลซินแต่ลดความสามารถในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของเซลล์สลายกระดูก โดยลดสัดส่วนของแรงสปีโดแกนดต่อโอพีจีทั้งในระดับการแสดงออกของยีนและโปรตีน นอกจากนี้การวิจัยยังพบว่าโพรแลคตินออกฤทธิ์ที่เซลล์กระดูกโดยส่งสัญญาณผ่านกลไกฟอสโฟอินโนลิไทด์ 3-ไคนาส

จากผลการทดลองสามารถสรุปได้ว่า โพรแลคตินออกฤทธิ์ต่อเซลล์สร้างกระดูกแตกต่างกันในเซลล์สร้างกระดูกจากผู้ใหญ่ โพรแลคตินยับยั้งการแสดงออกของยีนบ่งชี้ภาวะเจริญเต็มที่ของเซลล์แต่เพิ่มความสามารถในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของเซลล์สลายกระดูกจึงคาดว่า จะมีผลกระตุ้นการสลายกระดูก ส่วนในเซลล์สร้างกระดูกจากทารกโพรแลคตินกระตุ้นแสดงออกของยีนบ่งชี้ภาวะเจริญเต็มที่แต่ยับยั้งความสามารถในการกระตุ้นเซลล์สลายกระดูก ทำให้มีผลลดการสลายกระดูก ส่วนการออกฤทธิ์ของโพรแลคตินที่เซลล์กระดูก ใช้กลไกการส่งสัญญาณทางฟอสโฟอินโนลิไทด์ 3-ไคนาส

**THE EFFECTS AND MECHANISM OF PROLACTIN ON BONE REMODELING****DUTMANEE SERIWATANACHAI 4637351 SCPS/D****Ph.D. (PHYSIOLOGY)****THESIS ADVISORS: NATEETIP KRISHNAMRA, Ph.D., TUANGPORN SUTHIPHONGCHAI, Ph.D., SOMNUAK DOMRONGKITCHAIORN, M.D., SINEE DISTHABANCHONG, M.D.****ABSTRACT**

Hyperprolactinemia-induced osteoporosis is believed to be caused by hypogonadism. However, in hyperprolactinemic women with normal estrogen levels, net bone loss still occurred, but its severity was significantly less than that in hyperprolactinemia without estrogen. More recently, the presence of prolactin (PRL) receptor in human osteosarcoma cell lines and primary osteoblasts supported the hypothesis of a direct PRL effect on bone cells. Therefore, the aim of this study was to investigate the role of PRL and its signal transduction pathway in the regulation of bone metabolism.

MG-63 (as a model of osteoblasts from adult human) and hFOB (as a model of osteoblasts from human fetus) were used to study the effect of PRL at concentrations which mimic the physiological levels in non-pregnant women (1, 10 ng/ml), lactating period (100 ng/ml) and pathological hyperprolactinemia (1000 ng/ml) on osteoblast proliferation, differentiation and activity. The results showed that high doses of PRL i.e., 100 and 1000 ng/ml, significantly decreased MG-63 activity as indicated by alkaline phosphatase activity and differentiation as shown by osteocalcin mRNA expression, while having no effect on cell proliferation. Furthermore, the osteoclastogenic function of MG-63 was stimulated by a reduction of OPG, the decoy receptor of RANKL, and an increase of RANKL, resulting in a higher RANKL/OPG ratio, as indicator of bone resorption. In hFOB, only at 1000 ng/ml PRL significantly decreased the alkaline phosphatase activity and mRNA expression, while PRL at 100 and 1000 ng/ml significantly enhanced osteoblast cell differentiation. The osteoclastogenic function of osteoblast was suppressed as indicated by a decrease in the ratio of RANKL/OPG, both mRNAs and proteins. Furthermore, by using the inhibition of PI3 kinase, LY294002, and ALP activity as a target action of PRL, the present study demonstrated that PI3K was involved in PRL signal transduction in both MG-63 and hFOB.

In conclusion, PRL had different effects on human adult and fetal osteoblasts. PRL suppressed differentiation and stimulated osteoclastogenesis in adult osteoblasts, while enhancing cell osteoblast differentiation and suppressing osteoclastogenesis in young osteoblast. The intracellular signaling pathway of PRL action on human osteoblasts was involved in PI3 kinase.

**KEY WORDS: PROLACTIN/ OSTEOBLAST/BONE REMODELING****109 pp**