

Certificate of Attendance

This is to certify that

Supalak Phongprasertsakul

has participated as an

Presenter

in

**The 11th Dental Faculty Consortium of Thailand
Academic Meeting and Research Presentation (DFCT 2013)
and 30th Anniversary of the Dental Faculty Consortium of Thailand**

7 - 9 May 2013

at Pullman Pattaya Hotel, Chonburi, Thailand



A handwritten signature in black ink, reading "Sittichai Koontongkaew".

Prof. Dr. Sittichai Koontongkaew

Dean, Faculty of Dentistry, Thammasat University

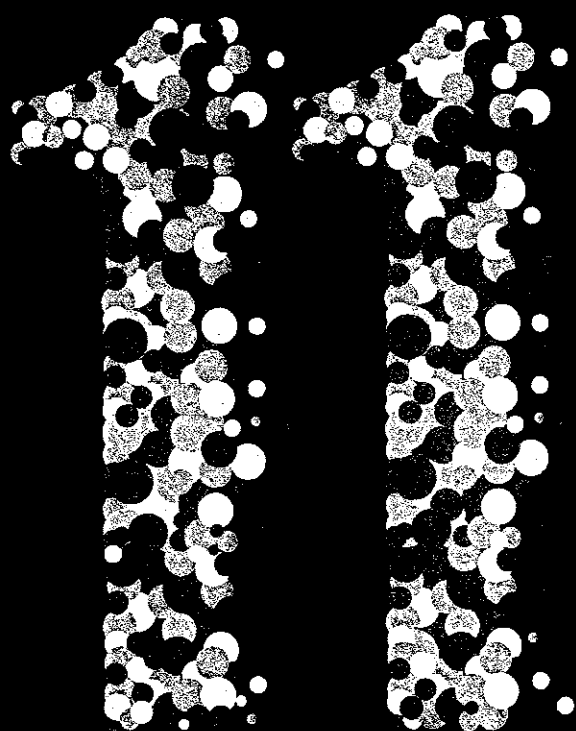
Conference Chair



th
Anniversary

of Thailand

*The Best of
Thai Dental
Research*



th

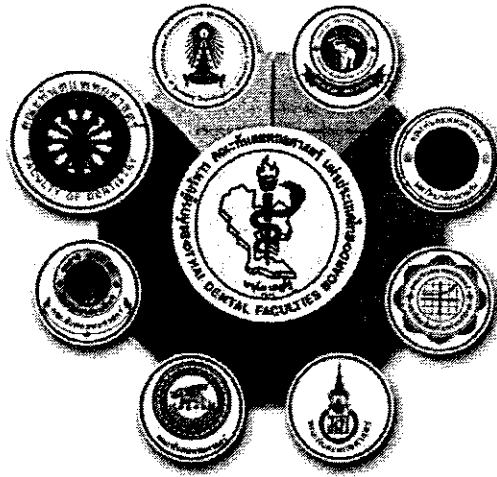
**Dental Faculty
Consortium
of Thailand
Academic Meeting
and Research
Presentation
(DFCT2013)**



7-9 May, 2013

Pullman Pattaya Hotel, Chonburi, Thailand

**The Dental Faculty Consortium of Thailand
Faculty of Dentistry, Thammasat University**



**The 30th Anniversary
Dental Faculty Consortium of Thailand**

The 11th Dental Faculty Consortium of Thailand Academic Meeting and Research Presentation
(DFCT2013)

“The Best of Thai Dental Research”

**Faculty of Dentistry
Thammasat University**

**7-9 May 2013
Pullman Pattaya Hotel, Chonburi, Thailand**



คำสั่งมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

ที่ ๗๘๐/๒๕๕๖

เรื่อง แต่งตั้งคณะกรรมการดำเนินการจัดประชุมวิชาการ
องค์กรผู้บริหารคณะทันตแพทยศาสตร์แห่งประเทศไทย ครั้งที่ ๑๑

ตามที่องค์กรผู้บริหารคณะทันตแพทยศาสตร์แห่งประเทศไทย มีมติให้คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ จัดประชุมวิชาการ องค์กรผู้บริหารคณะทันตแพทยศาสตร์แห่งประเทศไทย ครั้งที่ ๑๑ เพื่อให้การจัดงานเป็นไปด้วยความเรียบร้อย อาศัยอำนาจตามความในมาตรา ๒๕ แห่งพระราชบัญญัติมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ พ.ศ. ๒๕๓๑ จึงขอแต่งตั้งคณะกรรมการ ดำเนินการจัดประชุม ดังรายนามต่อไปนี้

คณะกรรมการอำนวยการ

- | | |
|---|----------------------------|
| ๑. ศาสตราจารย์ ทันตแพทย์ ดร.สิทธิชัย ขุนทองแก้ว
คณบดีคณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ | ประธานกรรมการ |
| ๒. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทันตแพทย์ ดร.สุจิต พูลทอง
คณบดีคณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย | กรรมการ |
| ๓. รองศาสตราจารย์ พาสน์ศิริ นิสาลักษณ์
คณบดีคณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล | กรรมการ |
| ๔. รองศาสตราจารย์ ทันตแพทย์ ดร.ณรงค์ศักดิ์ เหล่าศรีสิน
คณบดีคณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ | กรรมการ |
| ๕. รองศาสตราจารย์ ทันตแพทย์ ทองนารถ คำใจ
คณบดีคณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ | กรรมการ |
| ๖. รองศาสตราจารย์ ทันตแพทย์ ดร.ทศพล ปิยะปัทมินทร์
คณบดีคณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร | กรรมการ |
| ๗. รองศาสตราจารย์ ทันตแพทย์หญิง ดร.นวิรัตน์ วราอัสวปติ เจริญ
คณบดีคณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น | กรรมการ |
| ๘. รองศาสตราจารย์ ทันตแพทย์ ดร.ไชยรัตน์ เฉลิมรัตน์โรจน์
คณบดีคณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ | กรรมการ |
| ๙. อาจารย์ ทันตแพทย์หญิง ดร.ภัคพร ภัทราพรนันท์ | กรรมการและเลขานุการ |
| ๑๐. นางกนกธดา ศรवारี | กรรมการและผู้ช่วยเลขานุการ |

โดยให้ปฏิบัติหน้าที่ดังต่อไปนี้

๑. กำกับดูแล ควบคุม ตรวจสอบ และส่งเสริมการประชุมวิชาการให้เป็นไปตามมติที่ประชุม อ.บ.ท.ท. ครั้งที่ 11
๒. ให้คำปรึกษาหารือ เสนอแนะการดำเนินการประชุม
๓. สรุปผลการประชุม การดำเนินงานเพื่อเสนอที่ประชุมองค์กรผู้บริหารฯ

คณะอนุกรรมการตัดสินผลงานวิจัยและรางวัล

- | | |
|---|------------------------|
| ๑. รองศาสตราจารย์ ทันตแพทย์ ดร.พสุธา วัฒนกิจไพศาล | ประธานอนุกรรมการ |
| ๒. ศาสตราจารย์ ดร.รวี เกียรติไพศาล | อนุกรรมการ |
| ๓. ศาสตราจารย์ ทันตแพทย์ ดร.สุทธิชัย กฤษณประกรกิจ | อนุกรรมการ |
| ๔. รองศาสตราจารย์ ดร.ปานจิตต์ ชุณหบัณฑิต | อนุกรรมการ |
| ๕. รองศาสตราจารย์ ทันตแพทย์ ดร.พลธรรม ไชยฤทธิ์ | อนุกรรมการ |
| ๖. อาจารย์ ทันตแพทย์หญิง ดร.กมลพรรณ ภัคดี | อนุกรรมการ |
| ๗. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทันตแพทย์หญิง ดร.ริสา ชัยสุภรณ์ | อนุกรรมการและเลขานุการ |

โดยให้ปฏิบัติหน้าที่ดังต่อไปนี้

๑. พิจารณาผลงานวิจัย ผลงานทางวิชาการ สรุป รวบรวมผลงาน
๒. พิจารณา วิเคราะห์ ตรวจสอบ ผลงานวิจัย เพื่อให้เป็นไปตามหลักเกณฑ์
๓. ดำเนินการตัดสิน และประกาศรางวัล
๔. อื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องและที่ได้รับมอบหมายจากประธานที่ประชุม

คณะอนุกรรมการฝ่ายวิชาการ

- | | |
|--|------------------------|
| ๑. รองศาสตราจารย์ ทันตแพทย์หญิง ดร.ศิริวรรณ สืบบุญการณ | ประธานอนุกรรมการ |
| ๒. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทันตแพทย์หญิง ดร.นิรดา ธเนศวร | อนุกรรมการ |
| ๓. รองศาสตราจารย์ สร้อยศิริ ทวีบุรณ์ | อนุกรรมการ |
| ๔. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปรมาภรณ์ กลั่นฤทธิ์ | อนุกรรมการ |
| ๕. รองศาสตราจารย์ ทันตแพทย์ ดร.ทศพล ปิยะปัทมินทร์ | อนุกรรมการ |
| ๖. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทันตแพทย์หญิง ดร.อภิรัม จันทน์หอม | อนุกรรมการ |
| ๗. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทันตแพทย์หญิง ดร.ศรีสุรางค์ สุทธปรียาศรี | อนุกรรมการ |
| ๘. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทันตแพทย์ ดร.วิวิธพิล ศรีมณีพงศ์ | อนุกรรมการ |
| ๙. อาจารย์ ดร.กฤษมาวดี อุทิศพันธ์ | อนุกรรมการและเลขานุการ |

โดยให้ปฏิบัติหน้าที่ดังต่อไปนี้

๑. รับผลงานวิจัย ผลงานวิชาการ รวบรวม คัดกรอง สรุป
๒. พิจารณาผลงานวิจัย เพื่อให้เป็นไปตามหลักเกณฑ์
๓. ดำเนินการอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้อง

คณะอนุกรรมการฝ่ายลงทะเบียนและประสานงาน

- | | |
|--|------------------------|
| ๑. อาจารย์ ทันตแพทย์หญิง ดร.ภัคพร ภัทรพรนันท์ | ประธานอนุกรรมการ |
| ๒. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุคนธ์ทิพย์ อาวีชนาการ | อนุกรรมการ |
| ๓. อาจารย์ ทันตแพทย์หญิง เสรีนา สิริรัตน์ สุกุลณะมรรคา | อนุกรรมการ |
| ๔. อาจารย์ ทันตแพทย์หญิง ดร.วีรญา ตันทนาภรณ์กุล | อนุกรรมการ |
| ๕. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทันตแพทย์ การุณ เวโรจน์ | อนุกรรมการ |
| ๖. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทันตแพทย์ วรพงษ์ ปัญญาองค์ | อนุกรรมการ |
| ๗. นางอาณา มหาพิรุณ | อนุกรรมการ |
| ๘. นายพรชัย โล่ห์อรชุน | อนุกรรมการ |
| ๙. นางสาวกนกวรรณ ใจแก้ว | อนุกรรมการและเลขานุการ |

โดยให้ปฏิบัติหน้าที่ดังต่อไปนี้

๑. รับลงทะเบียน ตรวจสอบการเข้าพัก
๒. ประสานงาน ติดตาม การลงทะเบียน การเข้าพัก การเข้าร่วมประชุม
๓. ดำเนินการอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้อง

คณะอนุกรรมการฝ่ายจัดเลี้ยง นันทนาการ

๑. อาจารย์ ทันตแพทย์ ดร.ธนาศักดิ์ รัชชมณี
 ๒. อาจารย์ ทันตแพทย์หญิง นันทวรรณ กระจ่างตา
 ๓. อาจารย์ ทันตแพทย์หญิง ดร.กมลพรรณ ภัคดี
 ๔. นางสาวทัศนวิวรรณ กันตรง
- เลขานุการ

ประธานอนุกรรมการ
อนุกรรมการ
อนุกรรมการ
อนุกรรมการและ

โดยให้ปฏิบัติหน้าที่ดังต่อไปนี้

๑. จัดกิจกรรม การแสดง การจัดพิธีการต่าง ๆ
๒. ติดตาม กำกับดูแล ผู้ร่วมประชุมในงานเลี้ยงรับรอง
๓. ดำเนินการอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้อง

คณะอนุกรรมการฝ่ายพิธีการ จัดการประชุม

๑. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทันตแพทย์ ดร.เลิศฤทธิ์ ศรีนนภากร
 ๒. อาจารย์ ทันตแพทย์หญิง ดร.พรธนาภา สิ้นสุประเสริฐ
 ๓. นางสาวเพาพางา มณฑนะพิศุทธิ์
 ๔. นางสุภาวรรณ ตรีราภิ
 ๕. นางกนกธดา ศรวารี
- เลขานุการ

ประธานอนุกรรมการ
อนุกรรมการ
อนุกรรมการ
อนุกรรมการ
อนุกรรมการและ

โดยให้ปฏิบัติหน้าที่ดังต่อไปนี้

๑. ดำเนินการ กำกับดูแล และตรวจสอบการประชุมให้เป็นไปตามกำหนดการ
๒. ประสานงาน ติดตาม การขอลงทะเบียน การเข้าพัก
๓. ดำเนินการอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้อง

คณะอนุกรรมการฝ่ายโสตทัศนอุปกรณ์และการประเมินผล

๑. อาจารย์ ทันตแพทย์หญิง ดร.วิสาขา อุปพงศ์
 ๒. นายสุริยะ ตรีราภิ
 ๓. นายพิษณุ มลิชัยศรี
- เลขานุการ

ประธานอนุกรรมการ
อนุกรรมการ
อนุกรรมการและ

โดยให้ปฏิบัติหน้าที่ดังต่อไปนี้

๑. ติดตั้ง ควบคุม กำกับดูแล ระบบเครื่องเสียง ระบบคอมพิวเตอร์
๒. ประสานงาน ติดตาม แจกแบบสอบถาม ประมวลผล สรุปรายงานผลการประเมิน
๓. ดำเนินการอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้อง

คณะอนุกรรมการฝ่ายอาคารสถานที่

๑. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทันตแพทย์หญิง ดร.ทิพวัลย์ เตชะนิธิสวัสดิ์
๒. นางสาวธัญนิชา ดวงจิตสิริ
๓. นางทิพวรรณ สິงวร

ประธานอนุกรรมการ
อนุกรรมการ
อนุกรรมการและเลขานุการ

โดยให้ปฏิบัติหน้าที่ดังต่อไปนี้

๑. กำกับดูแล ตรวจสอบสถานที่จัดประชุม
๒. ประสานงาน ติดตาม การลงทะเบียน การเข้าพัก การเข้าร่วมประชุม
๓. ดำเนินการอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้อง

คณะอนุกรรมการฝ่ายสาราณียกร เอกสาร และประชาสัมพันธ์

๑. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทันตแพทย์ ยสนันท์ จันทรเวทิน
๒. อาจารย์ ทันตแพทย์หญิง วิสากานต์ บุญไพศาลเสรี
๓. นางสาวเขมจิรา เกรอด

ประธานอนุกรรมการ
อนุกรรมการ
อนุกรรมการและเลขานุการ

โดยให้ปฏิบัติหน้าที่ดังต่อไปนี้

๑. ดำเนินการจัดทำหนังสือ คู่มือ การประชาสัมพันธ์ แผ่นพับ ประกาศนียบัตร วุฒิบัตร
๒. ประสานงาน ติดตาม ควบคุมดูแล การจัดเอกสารเข้าร่วมประชุม
๓. ดำเนินการอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้อง

ทั้งนี้ตั้งแต่บัดนี้เป็นต้นไป จนกว่าการดำเนินงานจะแล้วเสร็จ
สั่ง ณ วันที่ ๒๓ เมษายน พ.ศ. ๒๕๕๖

(ศาสตราจารย์ ดร.สมคิด เลิศไพฑูรย์)
อธิการบดีมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

Scientific Presentation Program

7 May 2013

13.45 – 14.30

- KS01** Teaching and Research in 21st century.....26
 Professor Dr. Vicharn Panich

14.30 – 15.00

- IS02** The Metastatic Niche and Oral Cancer Progression.....28
 Professor Dr. Sittichai Koontongkaew

15.15 – 15.45

- IS03** Aloe vera: It is not just for skin anymore.....29
 Associate Professor Dr. Pasutha Thunyakitpisan

15.45 – 16.15

- IS04** Neurophysiology of the Intra-Dental Nerves and Sensory30
 Mechanism of Dentine in Normal and Inflamed Pulp
 Associate Professor Dr. Noppakun Vongsavan

8 May 2013

09.00 – 09.30

- IS02** Fluoride-Antibacterial Approaches to Improve Caries Control27
 Professor J.M. (Bob) Ten Cate

09.30 – 10.00

- IS05** Effect of Probiotics on Oral Health31
 Professor Dr. Rawee Teanpaisan

10.00 – 10.30

- IS06** Development of Thai Herbs for Oral Health32
 Associate Professor Dr. Suwimol Taweechaisupapong

10.45 – 11.15

- IS07** Writing Case reports in Order to Understand Human Biology.....33
 Dr. Piranit Kantaputra

13.00 – 14.15 Oral Presentation

Session 1 Group 1

Chair Person: Asst.Prof.Dr. Nirada Dhanesuan

- OP01** ADAM8 Up-regulation in Human Gingival Epithelial Cells37
by *Fusobacterium nucleatum*
*Suttichai Krisanaprakornkit**, *Pattanin Montreekachon*,
Supansa Pata, *Pareena Chotjumlong*, *Anupong Makeudom* and
Watchara Kasinrerak
- OP02** Growth inhibitory effect of *Lactobacillus paracasei* SD1 on38
Candida species: an In vitro study
*Kanokporn Kampoo** and *Rawee Teanpaisan*
- OP03** The antimicrobial efficacy of different pH values of sodium39
hypochlorite on simulated *Enterococcus faecalis* biofilm
Chareerat Jitrong, *Peraya Surapipongpuntr** and *Visaka Limwongse*
- OP04** The effect of Poly (4-styrenesulfonic acid-co-maleic acid)40
sodium salt polyelectrolyte multilayer films coated surface on in
vitro mineralization and bone formation in rat model.
*Prasit Pavasant**, *Thidarat Angwarawong*, *Watchawadee Hoonwichit* and
Pornpen Jittivarangkool
- OP05** The effects of Gelatin/eggshell's hydroxyapatite composite sheet41
on MC3T3-E1 cells for bone tissue engineering
*Nisakorn Pornsomchai**, *Wanwisa Kongsong*, *Nanirat Suttipattarakorn*,
Suphunnarat Boonniyom, *Pongsak Saleedaeng* and
Boontharika Chuenjittakuntaworn

Session 1 Group 2

Chair Person: Asst.Prof.Dr. Kanokporn Bhalang

- OP06** Xerostomia, Hyposalivation and Oral Microbiota in Hypertensive Patients42
Vimonpun Nonzee, *Somchai Manopatanakul* and *Siribang-on Khovidhunkit**
- OP07** Oral hyperkeratosis in association with bacterial infection: a case report43
*Chanwit Prapinjumrune**, *Jinkyō Sakurai*, *Yusuke Nakajima*,
Norihiko Okada and *Ken Omura*
- OP08** Effectiveness of acemannan in the treatment of oral aphthous ulceration44
*Kanokporn Bhalang** and *Pasutha Thanyakitpisal*
- OP09** Oral health and human papillomavirus colonization in HIV-infected patients.....45
*Piamkamon Vacharotayangul**, *Sorasun Rungsiyanont*,
Aroonwan Lam-Ubol, *Tippawan Pankam*, *Piyanee Rodbamrung* and
Nittaya Phanuphak
- OP10** Daily variation of oral malodour and related factors in46
community-dwelling elderly Thai
*Patcharaphol Samnieng**

Session 1 Group 3**Chair Person: Asst.Prof. Dr.Apirum Janhom**

- OP11** Corticotomy-assisted orthodontic tooth movement into recent47
and healed extraction sites
Kaviya Kanokpongsak and Bancha Samruajbenjakun*
- OP12** An evaluation of the selection of extracted tooth in orthodontists48
and a group of Thai people
Chidsanu Changsiripun, Chompunuch Tiyawongmana,
Petchpailin Phusantisampan and Hathaiwan Ngamsukonthaputit*
- OP13** Root resorption after palatal expansion: a pilot study.....49
Syrina Tantidhnazet and Peerapong Santiwong*
- OP14** Associations of periodontitis and oral manifestations with CD450
counts in HIV-pregnant women in Thailand
Pakkaporn Pattrapornnan and Timothy Derouen*
- OP15** Effect of Initial Periodontal Therapy Plus Air Polishing on51
VEGF Level in Gingival Crevicular Fluid in Chronic Periodontitis
Thanasak Rakmanee, Kunasan Yonsakthanakul,
Nithinun Sutam and Chutapa Talungjit*

Session 2 Group 1**Chair Person: Assoc.Prof.Dr. Soisiri Thaweboon**

- OP16** MxA expression induced by α -defensin in healthy human periodontal tissue52
Rangsin Mahanonda, N Sa-Ard-Iam, P Rerkyen,
A Thitithanyanont, K Subbalekha and S Pichyangkul*
- OP17** Structural analysis of reactionary dentin formed in response to53
polymicrobial invasion
Nattida Charadram, Christine Austin, Patrick Trimby,
Mary Simonian, Michael Swain and Neil Hunter*
- OP18** Effect of Zingiber cassumunar-extract on CCL20 production54
in LPS-induced fibroblasts
Kamolpan Pugdee and Sittichai Koontongkaew*
- OP19** Trigona sirindhornea propolis reduces progression of head55
and neck cancer cell lines
Kusumawadee Utispan and Sittichai Koontongkaew*
- OP20** Effect of Eupatorium odoratum leaves extract on the viability56
of primary human gingival fibroblasts
*Paweena Kongkon, Jitrekha Samphantharat, Phonphanit Sivavetpikul,
Siwaporn Nimit and Suwimon Jettanacheawchankit**

Session 2 Group 2

Chair Person: Asst.Prof. Dr.Yosananda Chantravekin

- OP21** Alveolar ridge preservation with Platelet-rich fibrin compared57
to epithelialized palatal free graft for implant site development:
an experimental study in minipigs.
Srisurang Suttapreyasri, Kantheera Buasod, Narit Leepong and Prisana Pripatnanont*
- OP22** Inoculation Injuries in Thammasat University Dental Students58
Yosananda Chantravekin, Narissaporn Chaiprakit and Siripatra Patchanee*
- OP23** Evaluation of Collagen from Pericoronal Tissue of Impacted Third Molar59
Sorasun Rungsiyanont, Marnisa Sricholpech and Siriwan Songwattana*
- OP24** Microbial decontamination of bone particles collected from osseous collector.....60
Krongporn Kongkrongtong and Srisurang Suttapreyasri*
- OP25** Evaluation for obstructive sleep apnea using upright CBCT and61
sleep questionnaire
Pongsatorn Kangvansurakit, Onanong Silkosessak,
Patita Bhuridej and Naricha Chirakalwasan*

Session 2 Group 3

Chair Person: Asst.Prof.Dr. Lertrit Sarinnaphakorn

- OP26** Comparison of Internal Gap between CAD/CAM Zirconia62
MTEC and Lava
Lertrit Sarinnaphakorn, Thitirat Chatchalermpanit,
Patarawin Arannart, Parichat Triwit and Nantawan Krajangta*
- OP27** A novel glass ionomer cement containing MgCO(3) apatite induced63
the increased proliferation and differentiation of human pulp cells in vitro.
Arunee Laiteerapong, Y Lochaiwatana and Suchit Poolthong*
- OP28** Satisfaction and Efficacy of a Novel Edible Gel-based Artificial Saliva.....64
Aroonwan Lamubol, Buakhao Hongsachum, Worawalun Hirunwidchayarat,
Worayut Kongkeaw, Panitnart Kanchanatiwat, Rudee Surarit,
Visit Chavasit, Piamkamon Vacharotayangul, Tanadej Sinthusek and
Dunyaporn Trachootham*
- OP29** Nutri-jelly improves QOL and decreases hospitalization in.....65
H&N cancer patients.
Dunyaporn Trachootham, Wasinee Songkaew, Buakhao Hongsachum,
Jandanee Karapoch, Wantanee Kriangsinyos, Chodchoi Wattana,
Tanadej Sinthusek and Aroonwan Lam-Ubol*
- OP30** Development of new dental ceramics66
*Pannapa Sinthuprasirt**

Poster Presentation**Group 1: Oral biology**

- PP01** Notch and Basic-Fibroblast-Growth-Factor Signaling in Mineralization of Mesenchymal Stem Cells67
*Thanaphum Osathanon**, *Nunthawan Nowwarote*, *Jeeranan Chamnannidiadha* and *Prasit Pavasant*
- PP02** RPS6 phosphorylation in oral epithelial dysplasia and squamous cell carcinoma68
*Risa Chaisuparat**, *S Rojanawatsirivej* and *S Yodsanga*
- PP03** Mechanical stress-induced IL-1 β expression via ATP/P2X7 receptor-dependent pathway in human periodontal ligament cells69
*Kavita Kanjanamekanant**, *Pimporn Luckprom* and *Prasit Pavasant*
- PP04** Identification of Potential Bacterial Effectors from *Tannerella forsythia* in a Yeast Model70
*Oranart Matangkasombut**, *Peeraporn Punchai*, *Ratiboot Salapan* and *Skorn Mongkolsuk*
- PP05** Antibacterial activity of crofton weed (*Eupatorium adenophorum* Spreng) oil against caries-related bacteria71
K Koolkaew, *J Brahmsakha Na Sakolnakorn* and *Panida Thanyasrisung**
- PP06** Effect of Zingiber cassumunar-extract on CCL20 production in LPS-induced THP-172
*Pantip Henprasert**, *Apisada Chanwattanachote*, *Sasi Chantaramanee* and *Kamolparn Pugdee*
- PP07** Overexpression and Post-translational Modification of Akt2 in Oral Cancer Cells73
*Prakasit Archewa**, *Supansa Pata*, *Chayarop Supanchart*, *Suttichai Krisanaprakornkit* and *Anak Iamaroon*
- PP08** Antibacterial effect of propolis against *Streptococcus mutans* in vitro.....74
*Sroisiri Thaweboon**, *Boonyanit Thaweboon*, *Rattiporn Kaypetch* and *Thaniya Muadcheingka*
- PP09** Antimicrobial activity of Thai medicinal plant extracts against oral microorganisms75
*Pajaree Kawsud**, *Jindaporn Puripattanavong* and *Rawee Teanpaisan*
- PP10** In vitro inhibition of oral yeasts by vanillin.....76
*Boonyanit Thaweboon** and *Sroisiri Thaweboon*

- PP11** Aggregation and hydrophobicity properties of selected *Lactobacillus* spp.....77
Benchamat Sophatha and Rawee Teanpaisan*
- PP12** Antifungal and antibiofilm activity of *Artocarpus lakoocha* extract78
against *Candida* spp.
Sukunlaya Senapong, Jindaporn Puripattanavong and Rawee Teanpaisan*
- PP13** Characteristics of *Clinacanthus nutans* Based on Extraction Methods79
Moehamad Orliando Roeslan, Thaweephol Dechatiwongse Na Ayudhya and Sittichai Koontongkaew*
- PP14** Aggregation abilities and cell surface characteristics of oral *Lactobacillus*80
fermentum and *Lactobacillus salivarius*
Kamonchanok Pongpanit, Supatcharin Piwat, Rawee Teanpaisan and Nuchnaree Akkarachaneeyakorn*
- PP15** TLR2 and TLR4 expression in primary human hip and alveolar81
bone cells during an in vitro differentiation
Supalak Phongprasertsakul, Indra Wongyaofa, Jaruma Sakdee, Prasit Pavasant and Nirada Dhanesuan*
- PP16** In vitro Antifungal Effect of Crude Royal Jelly Extract on *Candida albicans*.....82
Peeraphorn Wanapirom, Noppanant Trakiattikul, Thanyaphon Leesomprasong and Duangporn Srisuparbh*
- PP17** *Kaempferia parviflora* extracts promotes proliferation of human83
dental pulp cells, in vitro.
Uthaiwan Arayatrakoollikit and Ariya Rattanathongkam*
- PP18** *Zingiber cassumunar* inhibits iNOS expression through suppression of NF- κ B.....84
Paopa-Nga Monthanapisut, Sittichai Koontongkaew and Orapan Poachanukoon*
- PP19** Cytotoxicity and wound healing property of85
clinacanthus nutans lindau extract on oral cells
Nitima Imerbsin and Rudee Surarit*

Group 2: Clinical study

- PP20** In vivo biocompatibility of porous BCP in two different ratios86
Pongsakorn Praserttham, Prisana Pripatnanont, Srisurang Suttapreyasri,
Narit Leepong, Naruporn Monmaturapoj*
- PP21** Single Nucleotide Polymorphism Study of Occlusal Relationship87
in a Group of Thai Population
*Narubhorn Ongprakobkul, Virunpat Nitipong and Jaijam Suwanwela**
- PP22** Tongue lesions: a retrospective study from Faculty of Dentistry,88
Prince of Songkla University
*Thanyaluk Saengtummakul, Tanchanok Bureesri, Pawinee Wiriyasatiankun,
Ravivan Iemsaengchairat, Sureerat Tanwatana and Sompid Kintarak**
- PP23** Reduced LL-37 Levels in GCF of Patients with Aggressive Periodontitis.....89
Samakorn Kulpawaropas, Anupong Makeudom,
Pattanin Montreekachon, Sakornrat Khongkhunthian,
Thanapat Sastraruji and Suttichai Krisanaprakornkit*
- PP24** One visit subgingival ultrasonic debridement for periodontitis-diabetes patients.....90
Supanee Damrongkosit, Serena Sakulnamanka and Narongsak Laosrisin*
- PP25** Laboratory evaluation of alpha-mangostin when used as root canal irrigant.....91
Ruchadaporn Kaomongkolgit, Kusuma Jamdee, Jittima Pumklin and Prasit Pavasant*
- PP26** Genetic association study of dental caries in a group of Thai population.....92
*Soranun Chantarangsu**
- PP27** Physical factors associated to the occurrence of dental caries in child-patients.....93
Nathawut Kaewsutha, Konvuth Laungrungrong, Chavarot Mapaisansin,
Thananat Boon-In and Jarinya Chaiwiriya*
- PP28** Acemannan sponges stimulate alveolar bone, cementum, and94
periodontal ligament regeneration in a canine class II furcation defect model
Pintu-On Chantarawatit, Pasutha Thunyakitpisal, Wijit Banlunara,
Kumpanart Soontornvipart and Polkit Sangvanich*
- PP29** Openbite severity in a group of Thai skeletal Class III.....95
Pornnaree Suktongchaikul, Phanpaporn Piriyayothin and Phawika Rungtamrat*
- PP30** The comparison of bacterial contamination ratio on examination96
gloves from freshly opened boxes versus 14-day opened boxes in a dental clinic
*Chaivut Prunkngarmpun**
- PP31** Success and Failure of endodontic treatment by undergraduate97
dental students
Wisakarn Boonpaisanseree, Pim Kokanutaporn,
Wannamart Srivichien and Panit Preeyaphat*

- PP32** Cortical bone thickness of posterior maxilla for orthodontic miniscrews.....98
*K Nimcharoensuk, C Wongwittayapanit,
N Chamnannidiadha and Soontra Panmekiate**
- PP33** Effect of periosteal distraction by a new design of hyrax99
device on bone formation in rabbit's model
Faisal Balabid, Prisana Pripatnanont, Settakorn Pongpanich and
Surapong Vongvatcharanon*
- PP34** Effectiveness of a light sensor for distraction force measurement.....100
Lili Yang, Eduardo Yugo Suzuki and Boonsiva Suzuki*
- Group 3: Dental materials, Techniques** _____
- PP035** In vitro microleakage evaluation of a new two-step self-etch adhesive.....101
Nantawan Krajangta, Tongjai Chotitanmapong,
Thipradi Phattharasophachai and Pear Bangsuwan*
- PP36** Physical properties of GIC containing monocalcium silicate102
compared with MTA
Sirijit Pothiraksanont, Jaruma Sakdee and Punnama Siriphannon*
- PP37** Biocompatibility of monocalcium silicate – glass ionomer cement compound.....103
Wiroj Sangsawatpong, Jaruma Sakdee, Punnama Siriphannon and Suwit Wimonchit*
- PP38** Comparisons of wear resistance on acrylic denture teeth.....104
Hathairat Lekatana, Aphiwat Sedtasuppana, Lam Dorji,
Yosatorn Ruenmarkkeo, Chatchawal Nedpokeaw and Sumet Korgpradit*
- PP39** Shaping Ability of Single-File Nickel-Titanium instruments in105
Reciprocating Motion.
*Paweenthas Wongsuwan and Chinalai Piyachon**
- PP40** Microtensile bond strength of Vertise flow® composite; Use as pits106
and fissures sealant.
Pongsiri Jaikumpun, Keerati Kiattang, Tawan Sangsue and
Tuangrat Lertbusayanukul*
- PP41** Effect of surface treatments on bond strength of repaired107
nanocomposite
*Pavinee Padipatvuthikul Didron**
- PP42** Effect of acidic drinks on erosive resistance of artificial white spot108
enamel lesions infiltrated with resin
*J Pornchottaweewsup, Lochaiwatana Y and Suchit Poolthong**

Group 4: Public health, education, etc.

- PP43** Musculoskeletal disorders in clinical dental students, Khon Kaen University.....109
*Suwadee Aerarunchot**, *Konpacha Sianglam*, *Thanapat Sripontong*,
Thanaporn Thonglert, *Chananya Tangsirivoragarn* and *Subin Puasiri*
- PP44** A two-step flow model to stop bottle feeding among pre-schoolers.....110
*Serena S Sakoolnamarka**, *Phatanaphongse Chatiketu*,
Orasa Krittayapipong, *Vasavat Soontornvatin*,
Panchaluk Chatkaewboonruang, *Chollathid Sukrakarn*,
Rungwarin Laohakanchanasiri, *Jukkrapun Thongmalee*,
Chayanee Prakongsantikul, *Attaporn La-Aithuk*,
Patamaporn Boonkleing and *Chatchana Dedhome*
- PP45** Evaluation of reliability and validity of Professionalism111
mini-evaluation exercise – Thai version
*Chompunut Auisui**, *Nomjit Vidhyaphum*, *Nantararat Winij* and *Chanchai Hosanguan*
- PP46** The evaluation of graduates of elective in dentistry subject of112
oral surgery, Faculty of Dentistry, Naresuan University
*Siras Sungkapreecha**, *Phiangfah Kongkiatkool*,
Parissara Sortrakul and *Peeraya Warasit*
- PP47** A system for predicting musculoskeletal disorders among dental students.....113
*Bhornsawan Thanathornwong**, *Siriwan Suebnukarn* and *Kan Ouivirach*
- PP48** Health-oriented Electronic Oral Health Record for Health Surveillance.....114
*Mansuang Wongsapai**, *Siriwan Suebnukarn* and *Sunsanee Rajchagool*
- PP49** Study of Health Literacy Level in Food - Venders at Bangluang115
Market, Banglen, Nakhon Pathom
*Pornpon Sanpanyawai**, *Jessada Nuchpuang*,
Tossaporn Rodchueajeen and *Piya Siriphant*
- PP50** Health-oriented Electronic Oral Health Record: Evaluation using116
Cognitive Task Analysis
*Kwanwong Boonpitak**, *Pawornwan Rittipakorn*,
Budsara Thongyoi and *Siriwan Suebnukarn*

9 May 2013

09.00 - 09.30

- IS08** Interventions for Treating Oral Lichen Planus.....34
Professor Dr. Kobkan Thongprasom

09.30 - 10.00

- IS09** Force Magnitudes for
Orthodontic Tooth Movement: Clinical Research@CMU.....35
Professor Dr. Dhirawat Jotikasthira

10.00 - 10.30

- IS10** Virtual Reality Dental Simulator36
Associate Professor Dr. Siriwan Suebnukarn

Full Paper **117**

- FP01** In vivo biocompatibility of porous BCP in two different ratios.....118
Pongsakorn Praserttham, Prisana Pripatnanont, Srisurang Suttapreyasri,
Narit Leepong, Naruporn Monmaturapoj
- FP02** Antimicrobial activity of Thai medicinal plant extracts against124
oral microorganisms
Pajaree Kawsud, Jindaporn Puripattanavong and Rawee Teanpaisan
- FP03** One visit subgingival ultrasonic debridement for127
periodontitis-diabetes patients
Supanee Damrongkosit, Serena Sakulnamanka and Narongsak Laosrisin
- FP04** Reduced LL-37 Levels in GCF of Patients with Aggressive Periodontitis.....132
Samakorn Kulpawaropas, Anupong Makeudom, Pattanin Montreekachon,
Sakornrat Khongkhunthian, Thanapat Sastraruji and Suttichai Krisanaprakornkit
- FP05** Antifungal and antibiofilm activity of Artocarpus lakoocha138
extract against Candida spp.
Sukunlaya Senapong, Jindaporn Puripattanavong and Rawee Teanpaisan
- FP06** Evaluation for obstructive sleep apnea using upright CBCT142
and sleep questionnaire
Pongsatorn Kangvansurakit, Onanong Silkosessak,
Patita Bhuridej and Naricha Chirakalwasan

FP07	Overexpression and Post-translational Modification of Akt2 in Oral Cancer Cells Prakasit Archewa, Supansa Pata, Chayarop Supanchart, Suttichai Krisanaprakornkit and Anak Iamaroon	146
FP08	Biocompatibility of monocalcium silicate – glass ionomer cement compound Wiroj Sangsawatpong, Jaruma Sakdee, Punnama Siriphannon and Suwit Wimonchit	150
FP09	Root resorption after palatal expansion: a pilot study Syrina Tantidhnazet and Peerapong Santiwong	154
FP10	Microbial decontamination of bone particles collected from osseous collector Krongporn Kongkrongtong and Srisurang Suttapreyasri	157
FP11	Aggregation abilities and cell surface characteristics of oral Lactobacillus fermentum and Lactobacillus salivarius Kamonchanok Pongpanit, Supatcharin Piwat, Rawee Teanpaisan and Nuchnaree Akkarachaneeyakorn	161
FP12	Physical properties of GIC containing monocalcium silicate compared with MTA Sirijit Pothiraksanont, Jaruma Sakdee and Punnama Siriphannon	165
FP13	Effect of periosteal distraction by a new design of hyrax device on bone formation in rabbit's model Faisal Balabid, Prisana Pripatnanont, Settakorn Pongpanich and Surapong Vongvatcharanon	169
FP14	TLR2 and TLR4 expression in primary human hip and alveolar bone cells during an in vitro differentiation Supalak Phongprasertsakul, Indra Wongyaofa, Jaruma Sakdee, Prasit Pavasant and Nirada Dhanesuan	174
FP15	Effectiveness of a light sensor for distraction force measurement Lili Yang, Eduardo Yugo Suzuki and Boonsiva Suzuki	178
FP16	Health-oriented Electronic Oral Health Record for Health Surveillance Mansuang Wongsapai, Siriwan Suebnukarn and Sunsanee Rajchagool	183

TLR2 and TLR4 expression in primary human hip and alveolar bone cells during an *in vitro* differentiation

Supalak Phongprasertsakul^a, Indra Wongyaofa^a, Jaruma Sakdee^a, Prasit Pavasant^b, Nirada Dhanesuan^a

^a Faculty of Dentistry, Srinakharinwirot University, Bangkok, Thailand

^b Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand

Abstract

Bone loss is an important issue in oral diseases. Understanding in basic bone biology is crucial for developing prevention and treatment of bone loss. Bone cells contain many receptors responding to various stimulation including TLR2 and 4 which react to bacterial challenges. Objectives: To compare *in vitro* behavior of alveolar bone and hip bone cells. Methods: Expression of OPN, OPG and RANKL was determined by RT-PCR. Proliferation rate was assessed by growing the cells for 16, 24 and 48 hours and cell counted by MTT technique. Cell differentiation was induced by culturing both cells in osteogenic media and staining the mineralization nodule. RNA extraction was performed on day 0, 5, 10 14 and 18. TLR2 and 4 expressions were determined by real-time PCR. Results: Hip bone cells had higher expression of OPN and higher proliferation rate than alveolar bone cells. However, both cells had the same differentiation rate as shown by mineralization nodule staining at day 14. Hip and alveolar bone cells expressed TLR2 and 4 which were upregulated during differentiation process. Hip bone cells showed the highest expression of TLR2 and 4 at day 5 whereas alveolar bone cells also had TLR upregulation but the dates varied for each lines. Conclusion: The two cell types differed in basic biology including OPN expression, proliferation rate and TLR2, 4 expressions. These data are important basic knowledge and further studies in its mechanism is required.

Keywords: TLR2, TLR4, alveolar bone, hip bone, differentiation

Introduction

Toll-like receptors (TLRs) are transmembrane receptors that play important roles in recognition of pathogen associated molecules and corresponding signals in cell proliferation, differentiation and cell apoptosis [1]. To date, 13 members of TLRs have been identified [2]. TLR are present in many cell types such as neutrophil, macrophage, epithelial cell, liver cell and osteoblast. Peptidoglycan of gram positive bacteria, lipoprotein and lipopeptide of bacteria, *Porphyromonas gingivalis* and yeast cell wall are ligands of TLR2 ENREF 3 [3] whereas lipopolysaccharide (LPS) is a ligand of TLR4. All these ligands are pathogenic in periapical lesion [4]. Many studies of TLRs response to pathogen had been performed; however there were not as many studies of TLRs roles in differentiation [5,6].

Osteoblast is differentiated from mesenchymal cells. The function of osteoblast is to produce the components of the bone matrix, respond to stimuli by release of pro-inflammatory cytokines and also to control the activity of os-

teoclast [7]. Many studies about osteoblast were performed in cell lines, primary skeletal bone mostly hip bones [8-13] but not as many studies were done in alveolar bone. On the other hands, evidences showed skeletal site might have an impact on function of osteoblast. Skeletal site-specific osteogenesis study indicated that maxilla and mandible bone marrow stromal cells (BMSCs) were highly proliferative and exhibited osteogenic properties superior to iliac crest BMSCs [11]. Malpe *et al* 1997 showed that there were skeletal site-dependent differences in the production of insulin-like growth factor (IGF) system components and suggested that the regulation of bone metabolism might vary in various skeletal sites [12]. In agreement, Matsubara *et al* showed that BMSCs had distinctive features depending on their *in vivo* location [13].

In this study, we investigated primary hip bone cells (HIP) as well as alveolar bone cells (ALV) their proliferation rates, expression of TLR2 and TLR4 during an *in vitro* differentiation and mineralization nodules production. A better understanding of alveolar bone biology would lead to a more efficient treatment of periapical lesions in the future.

Materials and Methods

Samples and cell culture

Human alveolar bone samples were prepared from patients undergone surgery. Informed consents were obtained and the whole research protocol was approved by Faculty of Dentistry, Srinakharinwirot's ethics Committee. The explants were placed in sterile tubes that contained Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) then washed with phosphate buffer saline (PBS) to remove blood clot and soft tissue. The samples were placed in a 35-mm culture dish supplemented with 15% fetal calf serum (15% FCS-DMEM), 2 mM L-glutamine, 100 IU/ml penicillin G and 100 IU/ml streptomycin. Cultures were maintained at 37°C, 5% CO₂. When cells reached confluency, the cells were detached by trypsinization (0.2% trypsin and 0.02% ethylenediaminetetraacetic acid; Gibco) and subcultured into a new culture dish in 1:3 ratio. After passage 3, media were changed to 10%FCS-DMEM. Hip bone cells were from Chulalongkorn University and cultured by the same protocol. The cells in passage 3-8 were used in this study.

Proliferation determination by MTT assay

To assess proliferation, cells was examined by a colorimetric [3-(4, 5-dimethyl-thiazol-2-yl)-2, 5-diphenyltetrazolium bromide] (MTT) assay, a method based on the mitochondrial succinic dehydrogenase of proliferating cells that reduces MTT to insoluble purple formazan reaction product, which can be determined quantitatively by colorimetric assay. Cells were seeded into a 96 wells plate (3,000 cells/well) and maintained

in 10%FCS-DMEM. After 16, 24 and 48 hours of cultivation, the cells were treated with 5 mg/mL MTT reagent and incubated at 37°C for 40 minutes. The medium was then discarded, followed by adding 100 μ l of DMSO and gently shaken for 10 minutes. The absorbance was read at 550 nm with an ELISA plate reader. Total cell numbers were obtained by standard curve previously performed. Cell numbers at 16 hours were regarded as 1 and cell numbers at 24 and 48 hours were calculated accordingly. The experiments were performed in 5 replicates in 3 separate experiments. The result was shown in mean \pm standard deviation and statistic analysis with Student's T-test.

In vitro differentiation experiment and TLR2 and 4 determination by real-time PCR

Cells were seeded into 35-mm culture dishes (2×10^5 cells/dish) and incubated until they reached 80% confluency (24-48 hours). After that, the culture media were replaced with either non-osteogenic (10%FCS-DMEM) or osteogenic media (10%FCS-DMEM containing 5 mM β -glycerolphosphate, 50 μ g/mL ascorbic acid, and 250 nM dexamethasone). Culture media were changed 3 times a week. At day 0, 5, 10, 14, 18 RNA extraction was performed by Trizol Plus RNA purification kit (Invitrogen, Carlsbad, CA) according to the manufacturer's instructions. The complementary DNA was obtained by reverse transcription with a ImProm-II™ reverse transcriptase system, according to the manufacturer's instructions. Real-time polymerase chain reaction (PCR) amplifications were performed with a SYBR green realtime PCR master mix. The expression level of TLR2 and TLR4 mRNA was evaluated by the number of cycles by real-time PCR, which was normalized to GAPDH. Primers sequences are as follows.

TLR2 [14]

Forward 5'-GTGCCCATGCTCTTTACA-3'

Reverse 5'-CATTGGATGTCAGCACCAGA-3'

TLR4 [14]

Forward 5'-TTCTCAACCAAGAACCTGGAC-3'

Reverse 5'-CAGGGCTAAACTCTGGATGG-3'

GAPDH [15]

Forward 5'-ATCCCATCACCATCTTCCAG-3'

Reverse 5'-CCATCAGCCACAGTTTC-3'

PCR determination of OPN, OPG and RANKL

cDNA from HIP and ALV on day 0 were assessed for expression of osteopontin (OPN), osteoprotegerin (OPG) and receptor activator of nuclear factor kappa- β ligand (RANKL) by PCR. The PCR reaction was carried out in a thermocycler (icycler, Biorad, USA) at 95 °C for 2 minutes for 1 cycle, then 94 °C (45 s), 60 °C (1 min), 72 °C (90 s) for 24 cycles (OPG), 32 cycles (OPN and RANKL) and 35 cycles (GAPDH). Final extension was done at 72 °C for 7 minutes. Products were separated on 1% agarose gel, stained with ethidium bromide and visualized under Electronic UV, transilluminator (ULTRA.LUM inc, USA) Primer sequences are as follows.

OPN [16]

Forward 5'-AGTACCCTGATGCTACAGACG-3'

Reverse 5'-CAACCAGCATATCTTCATGGCTG-3'

OPG [17]

Forward 5'-TCAAGCAGGAGTGCAATCG-3'

Reverse 5'-AGAATGCCTCCTCACACAGG-3'

RANKL [17]

Forward 5'-CCAGCATCAAAATCCAAAGT-3'

Reverse 5'-CCCCTTCAGATGATCCTTC-3'

Mineralization nodules staining by Alizarin red S

Cells were seeded as previously described. At day 14, 18, cells were washed with PBS, fixed with cold methanol for 10 min-

utes then washed twice with distilled water. Fixed cell were stained with 500 μ l of alizarin red S for 3 minutes and washed by distilled water. The wells were then air-dried.

Results

Expression of OPN, OPG and RANKL in HIP and ALV

Both HIP and ALV showed expression of OPN, OPG and RANKL as determined by RT-PCR (fig 1). Interestingly, HIP showed stronger OPN expression than ALV.

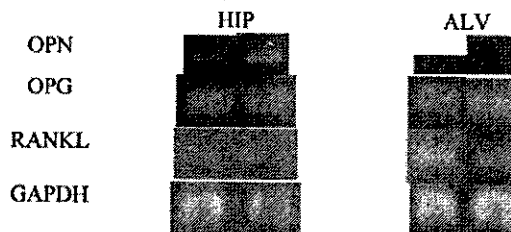


Figure 1- HIP and ALV were seeded (2×10^5 cells/well) into 35- mm culture dishes and incubated until they reached 80% confluency. Total RNA was isolated and OPN, OPG and RANKL levels were analyzed by RT-PCR. GAPDH was used as an internal control.

Proliferation rate of HIP and ALV

Attached HIP and ALV on cultured plate showed similar morphology (data not shown). Proliferation determination by MTT assay revealed that HIP had higher proliferation rate than ALV. As shown in figure 2, at 24 hour slightly higher proliferation was seen but statistically detected only at 48 hr. ($P < 0.05$).

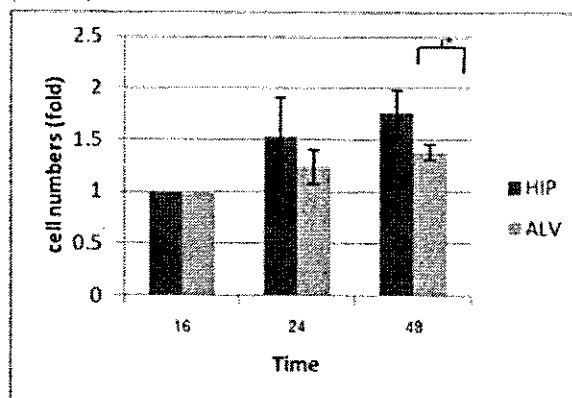


Figure 2- HIP and ALV were seeded (3,000 cells/well) in 96-well-plates. After 16, 24 and 48 hours of cultivation, cell numbers were examined by MTT assay. (* $P < 0.05$).

TLR2 and TLR4 mRNA expression during osteogenic differentiation

HIP had the highest expression of TLR2 mRNA on day 5 whereas ALV had the highest expression of TLR2 mRNA on day 5 and 14 as shown in table 1. For TLR4, again the highest expression in HIP was on day 5 whereas in ALV the highest expression was on day 5, 10 and 18 as shown in table 2.

Table 1 - TLR2 mRNA expression

Day/cells	0	5	10	14	18
Hip1	1	<u>192.7</u>	30.29	20	23.17
Hip2	1	<u>39.98</u>	33.02	7.447	7.426
Hip3	1	<u>111.1</u>	9.853	14.32	33.76
Alv1	1	6.37	2.056	<u>17.01</u>	11.39
Alv2	1	2.18	20.81	<u>36.98</u>	9.991
Alv3	1	<u>23.86</u>	1.163	6.3	1.649

Table 2 - TLR4 mRNA expression

Day/cells	0	5	10	14	18
Hip1	1	<u>4713</u>	0.0061	1.327	0.0122
Hip2	1	<u>16.36</u>	10.72	9.1	6.519
Hip3	1	<u>3.79</u>	0.2	0.33	0.36
Alv1	1	<u>30.37</u>	2.045	14.16	6.953
Alv2	1	10.82	26.15	14.54	<u>92.57</u>
Alv3	1	23.88	<u>42.39</u>	0.0296	1.123

Alizarin red S staining of mineralized nodules

The formation of mineral nodules was observed in osteogenic media group by Alizarin red staining on days 14 both HIP and ALV as shown in figure 3 and 4 for HIP and ALV, respectively.



Figure 3- Staining of Alizarin red s on day 14 of the 3 HIP lines (non = non-osteogenic, os = osteogenic).



Figure 4- Staining of Alizarin red s on day 14 of the 3 ALV lines (non = non-osteogenic, os = osteogenic).

Discussion

The primary roles of osteoblasts involve synthesis the components of bone matrix and regulating the activity of bone-resorbing osteoclasts [7]. Bacterial infection is an important factor in bone loss under inflammatory conditions. Bacterial-infected osteoblasts secrete chemokines and cytokines to combat localized infection through inflammation [18]. In dentistry, bone loss from periodontitis, periapical diseases and oral cancer are the major problems. Understanding in basic bone biology especially alveolar bone is important for prevention and improvement of treatment strategies in the future.

In this study, we compared some basic characters between hip and alveolar bone cells, the 2 cell types which differ in their sites and embryological origin [19]. It was found that HIP had higher proliferation rate than ALV. This result disagreed with

Kasperk *et al*, 1995 who showed that mandibular bone had higher proliferation rates than iliac bone [20]. The reason behind this discrepancy is still unclear. Up to our knowledge, there is no other study on comparison of growth rate between hip and alveolar bone. More studies and samples are required to confirm this point.

OPN is a component of the mineralized extracellular matrix found in many cell types, including osteoblast. It regulates cell proliferation, cell migration as well as phagocytic activity. OPN is produced early in the differentiation of bone cells [21]. In this study we founded HIP had stronger expression of OPN than ALV.

TLR2 and TLR4 are transmembrane receptors found in many cells including osteoblasts. Mo IF *et al* 2008 reported that prolonged challenged by lipoteichoic acid (LTA) and LPS, ligands for TLR2 and TLR4, in mesenchymal stromal cells (MSC) resulted in upregulating osteogenic differentiation [22]. In this study, HIP and ALV had ability for osteogenic differentiation induction. The 2 cells formed *in vitro* mineralized nodules and both required the same duration. Expression of TLR2 and TLR4 was observed along the process with differences in peak of expression pattern. All HIP lines showed earlier peak expression of TLR2 and TLR4 on day 5 whereas ALV peak of TLR2 and TLR4 expression varied in each lines from 5, 10 and 14 days. The upregulating pattern of TLR2 and TLR4 is interesting and suggesting possible roles in cells differentiation.

In conclusion, the results reported here suggested some basic characteristic differences between hip and alveolar bone cells. It also suggested possible roles of TLR2 and TLR4 in differentiation process. Further studies on detail mechanism are required and ongoing in our laboratory.

Acknowledgments

This work is supported by Srinakharinwirot university.

References

- [1] Hedayat M, Takeda K, and Rezaei N. Prophylactic and therapeutic implications of Toll-like receptor ligands. *Med Res Rev*. 2012;32(2):294-325.
- [2] Gerold Gisa, Zychlinsky Arturo, and Diego JLD. What is the role of Toll-like receptors in bacterial infections? *Seminars in Immunology*. 2007;19:41-7.
- [3] Akira S. Mammalian toll-like receptors. *Current opinion in immunology*. 2003;15:5-11.
- [4] Nair PN. Apical periodontitis: a dynamic encounter between root canal infection and host response. *Periodontol 2000*. 1997 Feb;13:121-48.
- [5] Wang YH, Jiang J, Zhu Q, AlAnezi AZ, Clark RB, Jiang X, et al. Porphyromonas gingivalis lipids inhibit osteoblastic differentiation and function. *Infect Immun*. 2010 Sep;78(9):3726-35.
- [6] Bandow K, Aya M, Kyoko K, Joji K, Mitsuo S, Tomokazu O; et al. Molecular mechanisms of the inhibitory effect of lipopolysaccharide (LPS) on osteoblast differentiation. *Biochemical and Biophysical Research communications*. 2010;402:755-61.
- [7] Cate ART. *Oral histology : Development, Structure, and Function*. St. Louis: Mosby; 1994. p. 120-46.
- [8] Czekanska EM, Stoddart MJ, Richards RG, Hayes JS. In search of an osteoblast cell model for in vitro research. *Eur Cell Mater*. 2012;24:1-17.

- [9] Martínez ME, Medina S, Sanchez M, Del Campo MT, Esbrit P, Rodrigo A, et al. Influence of skeletal site of origin and donor age on 1,25(OH)₂D₃-induced response of various osteoblastic markers in human osteoblastic cells. *Bone*. 1999 Mar;24(3):203-9.
- [10] Martínez ME, del Campo MT, Medina S, Sanchez M, Sanchez-Cabezudo MJ, Esbrit P, et al. Influence of skeletal site of origin and donor age on osteoblastic cell growth and differentiation. *Calcif Tissue Int*. 1999 Apr;64(4):280-6.
- [11] Akintoye SO, Giavis P, Stefanik D, Levin L, and Mante FK. Comparative osteogenesis of maxilla and iliac crest human bone marrow stromal cells attached to oxidized titanium: a pilot study. *Clin Oral Implants Res*. 2008 Nov;19(11):1197-201.
- [12] Malpe R, Baylink DJ, Linkhart TA, Wergedal JE, and Mohan S. Insulin-like growth factor (IGF)-I, -II, IGF binding proteins (IGFBP)-3, -4, and -5 levels in the conditioned media of normal human bone cells are skeletal site-dependent. *J Bone Miner Res*. 1997 Mar;12(3):423-30.
- [13] Matsubara T, Suardita K, Ishii M, Sugiyama M, Igarashi A, Oda R, et al. Alveolar bone marrow as a cell source for regenerative medicine: differences between alveolar and iliac bone marrow stromal cells. *J Bone Miner Res*. 2005 Mar;20(3):399-409.
- [14] Narita M, Watanabe N, Yamahira A, Hashimoto S, Tochiki N, Saitoh A, et al. A leukemic plasmacytoid dendritic cell line, PMDC05, with the ability to secrete IFN-alpha by stimulation via Toll-like receptors and present antigens to naive T cells. *Leuk Res*. 2009 Sep;33(9):1224-32.
- [15] Zhang Y, Ba Y, Liu C, Sun G, Ding L, Gao S, et al. PGC-1alpha induces apoptosis in human epithelial ovarian cancer cells through a PPARgamma-dependent pathway. *Cell Res*. 2007 Apr;17(4):363-73.
- [16] T. Yongchaitrakul, J. Manokawinchoke, and P. Pavasant. Osteoprotegerin induces osteopontin via syndecan-1 and phosphoinositol 3-kinase/Akt in human periodontal ligament cells. *J Periodont Res* 2009; 44: 776-783.
- [17] S. Soompon, J. Manokawinchoke, and P. Pavasant. Transient receptor potential vanilloid-1 regulates osteoprotegerin/RANKL homeostasis in human periodontal ligament cells. *J Periodont Res* 2013; 48: 22-29.
- [18] Nair SP, Meghji S, Wilson M, Reddi K, White P, Henderson B. Bacterially induced bone destruction: mechanisms and misconceptions. *Infect Immun*. 1996 Jul;64(7):2371-80.
- [19] Karaplis AC. Chapter 3 - Embryonic Development of Bone and Regulation of Intramembranous and Endochondral Bone Formation. In: John PB, Lawrence GR, T. John Martin A2 - John P. Bilezikian LGR, Martin TJ, editors. *Principles of Bone Biology* (Third Edition). San Diego: Academic Press; 2008. p. 53-84.
- [20] Kasperk C, Wergedal J, Strong D, Farley J, Wangerin K, Gropp H, et al. Human bone cell phenotypes differ depending on their skeletal site of origin. *J Clin Endocrinol Metab*. 1995 Aug;80(8):2511-7.
- [21] Sodek J, Ganss B, McKee MD. Osteopontin. *Crit Rev Oral Biol Med*. 2000;11(3):279-303.
- [22] Mo IF, Yip KH, Chan WK, Law HK, Lau YL, Chan GC. Prolonged exposure to bacterial toxins downregulated expression of toll-like receptors in mesenchymal stromal cell-derived osteoprogenitors. *BMC Cell Biol*. 2008;9:52.