

**DURATION OF THE ANTIBODY RESPONSE TO THE 19
KILODALTON FRAGMENT OF *PLASMODIUM YOELII*
MEROZOITE SURFACE PROTEIN-1 (MSP1₁₉) FOLLOWING
IMMUNIZATION USING CpG OLIGODEOXYNUCLEOTIDE
AND MONTANIDE ISA51 AS ADJUVANT IN MICE**

PIMMADA JEAMWATTANALERT

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE (PUBLIC HEALTH)
MAJOR IN INFECTIOUS DISEASES AND EPIDEMIOLOGY
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY**

2005

ISBN 974-04-6342-8

COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY

ระยะเวลาการตอบสนองของแอนติบอดีต่อโปรตีนน้ำหนักโมเลกุล 19 กิโลดาลตัน บนส่วนผิวของเมอโรซอइट (MSP1₁₉) ของเชื้อพลาสโมเดียม โยอีเลียหลังจากฉีดกระตุ้นภูมิคุ้มกันโดยใช้ CpG oligodeoxynucleotide และ Montanide ISA51 เป็น Adjuvant ในหนูทดลอง
(DURATION OF THE ANTIBODY RESPONSE TO THE 19 KILODALTON FRAGMENT OF *PLASMODIUM YOELII* MEROZOITE SURFACE PROTEIN-1 (MSP1₁₉) FOLLOWING IMMUNIZATION USING CpG OLIGODEOXYNUCLEOTIDE AND MONTANIDE ISA51 AS ADJUVANT IN MICE)

พิมพ์มาดา เจียมวัฒนาเลิศ 4536339 PHPH/M

วท.ม. (สาธารณสุขศาสตร์) สาขาวิชาเอกโรคติดเชื้อและวิทยาการระบาด

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์: จักรกริช หิรัญเพชรรัตน์, Ph.D. (Tropical Health), พักตร์พิมล มหรรณพ, Ph.D. (Tropical Medicine), ลีรา กิตติกุล, Ph.D. (Microbiology), ยวดี มหาคุณกิจเจริญ, Ph.D. (Pathology, Microbiology and Immunology)

บทคัดย่อ

โปรตีนบนผิวเมอโรซอइट-1 (MSP1) เป็นโปรตีนที่อยู่ระดับแนวหน้าที่จะพัฒนาเป็นวัคซีนมาลาเรีย การศึกษาในหนูทดลองและลิงพบว่า โปรตีนชนิดนี้สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันในการป้องกันการติดเชื้อมาลาเรียได้ อย่างไรก็ตามการตอบสนองของแอนติบอดีที่จำเพาะต่อ MSP1 มีระยะเวลานานเท่าใดยังไม่ทราบแน่ชัด ดังนั้นการศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาระยะเวลาการตอบสนองของภูมิคุ้มกันดังกล่าว โดยการฉีดกระตุ้นภูมิคุ้มกันในกลุ่มหนูทดลองสายพันธุ์ BALB/c ด้วย MSP1₁₉ ผสมกับ CpG ODN/Montanide ISA51 หรือ CFA/IFA จำนวน 4 ครั้ง หรือ 1 ครั้ง ผลการทดลองพบว่าการฉีดกระตุ้นหนู 4 ครั้งด้วยโปรตีน MSP1₁₉ ผสมกับ CpG ODN/Montanide ISA51 มีระดับแอนติบอดีที่จำเพาะต่อ MSP1₁₉ สูงคงที่ นานถึง 12 เดือน ในขณะที่หนูทดลองที่ถูกกระตุ้นด้วยโปรตีน MSP1₁₉ ผสมกับ CFA/IFA มีระดับแอนติบอดีที่ลดลงอย่างช้าๆและต่อเนื่องตลอดเวลา 12 เดือน และเมื่อเปรียบเทียบระดับแอนติบอดีของเดือนที่ 12 และเดือนที่ 1 พบว่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ หนูทั้งสองกลุ่มยังคงสามารถป้องกันการติดเชื้อ *P. yoelii* ได้ แต่ในกลุ่มที่ได้รับโปรตีน MSP1₁₉ ผสมกับ CpG ODN/Montanide ISA51 ป้องกันได้ดีกว่ากลุ่มที่ได้รับโปรตีน MSP1₁₉ ผสมกับ CFA/IFA ซึ่งสังเกตได้จากปริมาณเชื้อในเลือดต่ำกว่าในช่วงติดเชื้อ การศึกษาชนิดของแอนติบอดีที่จำเพาะต่อโปรตีน MSP1₁₉ พบว่า การใช้ CpG ODN/Montanide ISA51 ให้ผลในการกระตุ้นการสร้างแอนติบอดีทั้งชนิด IgG1 และ IgG2a ได้ดีกว่าการใช้ CFA/IFA แต่ CpG ODN/Montanide ISA51 ส่งเสริมการสร้าง IgG2a เพิ่มมากกว่ามากกว่า IgG1 ที่น่าสนใจอย่างหนึ่งในการศึกษานี้ พบว่า การฉีดกระตุ้นภูมิคุ้มกันด้วย MSP1₁₉ เพียงครั้งเดียวมีประสิทธิภาพเทียบเคียงกับการฉีดกระตุ้น 4 ครั้งโดยเปรียบเทียบระดับแอนติบอดีและการป้องกันการติดเชื้อ *P. yoelii* การตอบสนองของระดับแอนติบอดีเพิ่มขึ้นถึงระดับสูงสุดภายใน 4 สัปดาห์ และระดับแอนติบอดีนี้เท่าเทียมกับระดับแอนติบอดีที่ได้จากวิธีการฉีดกระตุ้น 4 ครั้ง อย่างไรก็ตามระดับแอนติบอดีค่อยๆลดลงภายใน 22 สัปดาห์ที่ศึกษา ดังนั้นผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าภูมิคุ้มกันต่อ MSP1₁₉ ในป้องกันการติดเชื้อมาลาเรียสามารถอยู่ได้ยาวนานหลังการฉีดกระตุ้นด้วยโปรตีน MSP1₁₉ และฉีดกระตุ้นซ้ำๆ

DURATION OF THE ANTIBODY RESPONSE TO THE 19 KILODALTON FRAGMENT OF *PLASMODIUM YOELII* MEROZOITE SURFACE PROTEIN-1 (MSP1₁₉) FOLLOWING IMMUNIZATION USING CpG OLIGODEOXYNUCLEOTIDE AND MONTANIDE ISA51 AS ADJUVANT IN MICE

PIMMADA JEAMWATTANALERT 4536339 PPH/M

M.Sc. (PUBLIC HEALTH) MAJOR IN INFECTIOUS DISEASES AND EPIDEMIOLOGY

THESIS ADVISORS: CHAKRIT HIRUNPETCHARAT, Ph.D. (TROPICAL HEALTH), PAKPIMOL MAHANNOP, Ph.D. (TROPICAL MEDICINE), LEERA KITTIGUL, Ph.D. (MICROBIOLOGY), Ph.D., YUVADEE MAHAKUNKIJAROEN, Ph.D. (PATHOLOGY, MICROBIOLOGY AND IMMUNOLOGY)

ABSTRACT

Merozoite surface protein-1 (MSP1) is a leading malaria vaccine candidate and can induce protective immunity in mice and monkeys. However, how long the MSP1-specific antibody response lasts is not known. This study aimed to investigate the duration of this immune response. Groups of BALB/c mice were immunized for four doses or one dose with MSP1₁₉ mixed with CpG oligonucleotide (ODN) and Montanide ISA51 or with Complete/Incomplete Freund's adjuvants (CFA/IFA). By four-dose immunization, MSP1₁₉-specific antibody levels in mice immunized with MSP1₁₉ in CpG ODN/Montanide ISA51 persisted at a high level over 12 months after the last immunization while those in mice immunized with MSP1₁₉ in CFA/IFA decreased gradually and were lower significantly at the 12th month than those at the first month after the last immunization. Both groups were still protected against *P. yoelii* infection after challenge at month 12 but the protection of the former group was better than that of the latter one as observed by lower patent parasitemia. The isotype of MSP1₁₉-specific antibody was investigated and found that CpG ODN/Montanide ISA51 enhanced both IgG1 and IgG2a antibody levels, but it promoted the increase of IgG2a antibody titer much more than that of IgG1 antibody titer compared to CFA/IFA. More interestingly, a single-dose immunization was as efficient as the four-dose immunization in induction of protective MSP1₁₉-specific antibody response, as demonstrated by antibody titer and protection against *P. yoelii* challenge infection. The peak of antibody response was maximum by 4 weeks and comparable to that of antibody response induced by four-dose immunization. However, the antibody level declined gradually over 22 weeks of observation. Taken together, these findings indicate that protective immunity to MSP1₁₉ lasts long following immunization with its repeats.

KEY WORDS: MSP1₁₉/ MALARIA/ ANTIBODY/ CpG
OLIGODEOXYNUCLEOTIDE / MONTANIDE ISA51

79 P. ISBN 974-04-6342-8