

**REGULATION OF SUPPRESSOR OF CYTOKINE SIGNALING
(SOCS) IN MOUSE MACROPHAGE (RAW264.7) INFECTED WITH
*BURKHOLDERIA PSEUDOMALLEI***

PEERAYA EKCHARIYAWAT

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE (MICROBIOLOGY)
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY
2005**

**ISBN 974-04-6771-7
COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY**

การควบคุมการแสดงออกของโปรตีนซ็อกส์ในเซลล์แมโครฟาจของหนูที่ได้รับเชื้อแบคทีเรีย
ซูโดมาลลิโอ (REGULATION OF SUPPRESSOR OF CYTOKINE SIGNALING
(SOCS) IN MOUSE MACROPHAGE (RAW264.7) INFECTED WITH
BURKHOLDERIA PSEUDOMALLEI)

พรียา เอกจริยาวัฒน์ 4536216 SCMI/M

วท.ม.(จุลชีววิทยา)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์: พงศ์ศักดิ์ อุทัยสินธุเจริญ, Ph.D., สถิตย์ สิริสิงห, D.M.D.,
Ph. D., สุขธิดา อูบล, Ph. D.

บทคัดย่อ

เชื้อแบคทีเรีย ซูโดมาลลิโอ (*Burkholderia pseudomallei*) เป็นเชื้อแบคทีเรียชนิด
แกรมลบซึ่งเป็นสาเหตุของโรคโรคมะลิออยโดซิส เชื้อ *B. pseudomallei* เป็นแบคทีเรียชนิด
facultative intracellular ที่สามารถเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนได้ทั้งในเซลล์ phagocytic และ
non-phagocytic เชื้อนี้มีความสามารถในการหลบหนีจากการทำลายโดยเซลล์แมโครฟาจโดยเมื่อ
เชื้อนี้ถูกเซลล์ phagocytosed จะไม่กระตุ้นให้เซลล์สร้างเอนไซม์ inducible nitric oxide
synthase (iNOS) ซึ่งทำหน้าที่สำคัญในการสร้าง reactive nitrogen intermediate (RNI) ที่มี
คุณสมบัติในการทำลายจุลชีพทั่วไป ในการศึกษาพบว่าเชื้อ *B. pseudomallei* ทั้งมีชีวิตและไม่มี
ชีวิตสามารถกระตุ้นเซลล์แมโครฟาจของหนู (RAW264.7 cell line) ให้สร้างโปรตีน suppressor
of cytokine signaling (SOCS) 3 และ cytokine-inducible Src-homology 2 (CIS) แต่ไม่
สามารถกระตุ้นให้เกิดการสร้าง SOCS1 ได้ การแสดงออกของ SOCS3 และ CIS จะเกิดขึ้นได้
ต่อเมื่อเชื้อ *B. pseudomallei* สามารถเข้าสู่เซลล์แมโครฟาจแล้ว ระดับการแสดงออกของ SOCS3
และ CIS ในเซลล์แมโครฟาจที่ได้รับเชื้อ *B. pseudomallei* สัมพันธ์กับการลดลงของระดับ
phosphorylation ของ signal transducer and activator of transcription (STAT)-1
(pY701-STAT-1) ซึ่งบ่งชี้ถึงการส่งสัญญาณที่ลดลงของ IFN- γ เมื่อระดับการส่งสัญญาณของ
IFN- γ ลดลงจึงทำให้เซลล์แมโครฟาจไม่สามารถสร้างโปรตีนที่มีความสำคัญต่อกระบวนการ
ทำลายจุลชีพได้ อาทิเช่น interferon regulatory factor (IRF)-1 และ iNOS จึงทำให้เชื้อ
B. pseudomallei สามารถเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนในเซลล์แมโครฟาจได้

REGULATION OF SUPPRESSOR OF CYTOKINE SIGNALING (SOCS) IN MOUSE MACROPHAGE (RAW264.7) INFECTED WITH *BURKHOLDERIA PSEUDOMALLEI*

PEERAYA EKCHARIYAWAT 4536216 SCMI/M

M.Sc.(MICROBIOLOGY)

THESIS ADVISORS: PONGSAK UTAISINCHAROEN, Ph.D., STITAYA SIRISINHA, D.M.D, Ph.D., SUKATHIDA UBOL, Ph.D.

ABSTRACT

Burkholderia pseudomallei, the causative agent of melioidosis, is a facultative intracellular gram-negative bacterium that is able to survive and multiply in macrophages. It has been reported that *B. pseudomallei* was able to escape macrophage killing by interfering with the expression of inducible Nitric Oxide Synthase (iNOS). The results from this study demonstrated that both viable or killed *B. pseudomallei* was able to activate the expression of suppressor of cytokine signal-3 (SOCS3) and cytokine-inducible Src homology 2-containing protein (CIS) but not SOCS1 in a mouse macrophage cell line (RAW 264.7). This bacterium could directly induce the expression of these negative regulators. However, the presence of cytochalasin D was able to prevent SOCS3 and CIS expression indicating that the signaling for SOCS3 and CIS expression may be initiated inside the macrophages. The expression of SOCS3 and CIS in *B. pseudomallei*-infected macrophages directly correlated with a decreased IFN- γ signaling response, as indicated by a reduction in Y701-STAT-1 phosphorylation (pY701-STAT-1). Moreover, a reduction in the expression of IFN- γ -induced proteins, such as Interferon Regulatory Factor-1 (IRF-1), was noted in *B. pseudomallei*-infected macrophages that were treated with IFN- γ . Since pY701- STAT-1 and IRF-1 are essential transcription factors for regulating iNOS expression, the failure to activate these factors could also result in depression of iNOS expression and a loss of macrophage killing capacity. Taken together, the data indicate that the activation of SOCS3 and CIS expression in *B. pseudomallei*-infected macrophages interfered with IFN- γ signaling, thus allowing the bacteria to escape killing by these phagocytic cells.

KEY WORDS: SOCS/ *BURKHOLDERIA PSEUDOMALLEI*/ MELIOIDOSIS/ IFN- γ /
STAT-1

94 P. ISBN 974-04-6771-7