

**NEUTRALIZATION AND ENHANCEMENT ACTIVITIES OF
MONOCLONAL ANTIBODIES SPECIFIC TO THE ENVELOPE
PROTEIN OF DENGUE VIRUSES**

KRIANGKRAI CHAWANSUNTATI

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

2006

ISBN 974-04-7519-1

COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY

คุณสมบัติในการยับยั้งและการเพิ่มความสามารถในการเพิ่มจำนวนไวรัสของโมโนโคลนอล

แอนติบอดีที่จำเพาะต่อโปรตีนส่วนเปลือกหุ้มของไวรัสเด็งกี

(NEUTRALIZATION AND ENHANCEMENT ACTIVITIES OF
MONOCLONAL ANTIBODIES SPECIFIC TO THE ENVELOPE PROTEIN OF
DENGUE VIRUSES)

เกรียงไกร ชวาลสันตติ 4636410 SIIM/M

วท.ม. (วิทยานิพนธ์)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์: ปรีดา มาลาสิทธิ์, M.D., F.R.C.P., ชาญญา พุทธิจันทร์,
Ph.D., ปณิษฐา อวิรุทธ์นันท์, M.D., Ph.D., พูนสุข กีฬาเปง, Ph.D.

บทคัดย่อ

โปรตีนส่วนเปลือกหุ้มของเชื้อไวรัสเด็งกีมีความสำคัญในกลไกการจับและเข้าสู่เซลล์เจ้าบ้าน เมื่อมีการติดเชื้อไวรัสเด็งกี กลไกหนึ่งที่สำคัญในการยับยั้งประสิทธิภาพของการเข้าสู่เซลล์เจ้าบ้านของเชื้อไวรัสคือการผลิตแอนติบอดี อย่างไรก็ตาม แอนติบอดีที่จำเพาะต่อโปรตีนส่วนเปลือกหุ้มที่ไม่มีคุณสมบัติของการยับยั้ง หรือ แอนติบอดีที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งแต่ในปริมาณต่ำ กลับมีส่วนเกี่ยวข้องต่อการเพิ่มการติดเชื้อในเซลล์เจ้าบ้านที่มีตัวรับส่วนเอฟซีของแอนติบอดี ในการศึกษาี้ ได้ทำการตรวจสอบคุณสมบัติของโมโนโคลนอลแอนติบอดีที่จำเพาะต่อส่วนเปลือกหุ้มจำนวน 12 โคลน ในการยับยั้งไวรัสเข้าสู่เซลล์ที่มีความไวต่อการติดเชื้อไวรัส และการเพิ่มความสามารถในการเพิ่มจำนวนของไวรัสในเซลล์ที่มีตัวรับส่วนเอฟซีของแอนติบอดี ต่อเชื้อไวรัสเด็งกีสายพันธุ์ต้นแบบทั้ง 4 ซีโรทัยป์ และเชื้อไวรัสใช้สมองอักเสบ สายพันธุ์นากาฮามา ผลการศึกษาพบว่า มีโมโนโคลนอลแอนติบอดีจำนวน 7 โคลน (4G2, 2B7, 1D10, 2C8, 8A1, 1H10 และ J93) ที่มีคุณสมบัติทั้งยับยั้งและเพิ่มการติดเชื้อของไวรัสที่จำเพาะต่อแอนติบอดีในซีโรทัยป์ที่เหมือนกัน มีโมโนโคลนอลแอนติบอดีจำนวน 2 โคลน ที่มีความสามารถในการยับยั้งการติดเชื้อแต่ไม่มีคุณสมบัติในการเพิ่มการติดเชื้อต่อไวรัสที่จำเพาะ (3H5) หรือ ต่อไวรัสบางสายพันธุ์ (1D3) และมีโมโนโคลนอลแอนติบอดีจำนวน 2 โคลน (1C2 และ 5A1) ที่สามารถยับยั้งการติดเชื้อเฉพาะไวรัสเด็งกีสายพันธุ์ที่ 2 แต่มีความสามารถในการเพิ่มการติดเชื้อทั้งไวรัสเด็งกีสายพันธุ์ที่ 2 และสายพันธุ์อื่นๆที่แอนติบอดีสามารถจับได้ และยังพบว่ามีโมโนโคลนอลแอนติบอดีอีก 1 โคลน (1F4) ที่จับกับโปรตีนส่วนเปลือกหุ้มของไวรัสเด็งกีสายพันธุ์ที่ 2 แต่ไม่มีคุณสมบัติทั้งยับยั้งและเพิ่มจำนวนของเชื้อไวรัสเด็งกี อย่างไรก็ตาม ยังพบว่าความสามารถในการเพิ่มจำนวนเชื้อไวรัสของโมโนโคลนอลแอนติบอดีโคลน 3H5 นั้นขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของไวรัส ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้านี้ ผลที่ได้จากการศึกษาความสามารถของโมโนโคลนอลแอนติบอดีนี้จะเป็นข้อมูลสำคัญที่จะใช้ในการศึกษาหาตำแหน่งใหม่บนโปรตีนส่วนเปลือกหุ้มซึ่งอาจนำไปสู่การพัฒนาเป็นวัคซีนหรือยาด้านไวรัสได้ในอนาคต

NEUTRALIZATION AND ENHANCEMENT ACTIVITIES OF
MONOCLONAL ANTIBODIES SPECIFIC TO THE ENVELOPE PROTEIN OF
DENGUE VIRUSES

KRIANGKRAI CHAWANSUNTATI 4636410 SIIM/M
M.Sc.(IMMUNOLOGY)

THESIS ADVISORS: PRIDA MALASIT, M.D., F.R.C.P., CHUNYA
PUTTIKHUNT, Ph.D., PANISADEE AVIRUTNAN, M.D., Ph.D., POONSOOK
KEELAPANG, Ph.D.

ABSTRACT

Envelope (E) protein is one of the most important antigens responsible for dengue virus attachment and mediates virus-specific membrane fusion. Infection by dengue virus induces anti-E neutralizing antibody production, one of the defensive mechanisms to neutralize the virus. In the presence of non-neutralizing or sub-neutralizing concentrations, anti-E antibodies are, in turn, involved in the antibody-dependent enhancement (ADE) of virus infection via Fc receptor bearing cells. In this study, the *in vitro* neutralizing as well as enhancement activity of twelve anti-E monoclonal antibodies (Mabs) to 4 prototype strains of each dengue serotype and Japanese encephalitis virus Nakayama strain were determined. The dengue virus-susceptible cells, Ps clone D were used to determine the neutralizing activity of Mab, while Fc receptor-bearing cells, U937 were used for ADE assay. The results indicated that seven anti-E Mabs (4G2, 2B7, 1D10, 2C8, 8A1, 1H10, and J93) exhibited both neutralizing and enhancement activity to each virus serotype correlating to their binding properties. Two Mabs neutralized dengue virus infection, but enhanced none (for 3H5) or some serotypes (for 1D3) of dengue virus infection. The other two Mabs neutralized only dengue-2 virus infection, but enhanced both dengue-1 and 2 (for 1C2) or dengue-2 and 3 (for 5A1). One Mab (1F4), specific to dengue-2 virus, could not neutralize or enhance dengue virus infection. It was also found that infection enhancement by 3H5 anti-E Mab is dependent on the strain of virus, which is consistent with previous results. The identified functional activities of anti-E Mabs would be additional information to identify new epitopes contributing to dengue vaccine design.

KEY WORDS: NEUTRALIZING ANTIBODIES/ ENHANCEMENT
ANTIBODIES/ MONOCLONAL ANTIBODIES/
DENGUE VIRUSES/ENVELOPE PROTEIN

97 p. ISBN 974-04-7519-1