

**REGULATION OF HEMATOPOIESIS: MOLECULAR AND
GENETIC STUDIES OF PROGRAMMED CELL DEATH IN
HUMAN DISEASES**

DUANGMANEE SANMUN

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE
OF DOCTOR OF PHILOSOPHY
(MEDICAL TECHNOLOGY)
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY
2006**

**ISBN 974-04-7662-7
COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY**

การควบคุมการสร้างเม็ดเลือด: การศึกษากลไกการตายของเซลล์ในโรคพันธุกรรม
(REGULATION OF HEMATOPOIESIS: MOLECULAR AND GENETIC STUDIES
OF PROGRAMMED CELL DEATH IN HUMAN DISEASES)

ดวงมณี แสนมัน 4536722 MTMT/D

ปร.ค. (เทคนิคการแพทย์)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์: ปราณี ฟูเจริญ, Ph.D., คลินา ดันหยง, Ph.D., สุทัศน์ ฟูเจริญ,
พ.บ., เสาวรศ สวัสดิวัฒน์, ปร.ค., โกวิท พัฒนาปัญญาสัตย์, Ph.D.

บทคัดย่อ

การตายของเซลล์แบบอะพอพโตซิสมีความจำเป็นต่อการรักษาสมดุลของการสร้างเซลล์ในร่างกาย การวิจัยครั้งนี้จึงได้ศึกษาบทบาทสำคัญของสารทีโมไคน์ต่อการเกิดอะพอพโตซิสในโรคทางพันธุกรรมชนิดที่มีความผิดปกติของเซลล์นิวโทรฟิล และทำการศึกษาภาวะการสร้างเม็ดเลือดแดงที่ไม่สมบูรณ์ในโรคธาลัสซีเมียด้วย

ผู้ป่วยที่มีการกลายพันธุ์ของยีน CXCR4 จะทำให้มีระดับเม็ดเลือดขาวในกระแสเลือดที่ต่ำมาก เนื่องจากมีความผิดปกติของเซลล์ต้นกำเนิด ลักษณะที่บ่งชี้ชัดเจนในกลุ่มของโรคนี้คือ การที่เซลล์นิวโทรฟิลตัวแก่ถูกเก็บกักเอาไว้ในไขกระดูก ด้วยปัจจัยนี้จึงทำให้มีนิวโทรฟิลไหลเวียนอยู่ในกระแสเลือดเพียงเล็กน้อย จึงได้ตั้งสมมติฐานว่าปฏิสัมพันธ์ระหว่าง SDF-1 และ CXCR4 น่าจะมีส่วนช่วยการมีชีวิตรอดหรือยับยั้งการตายของเซลล์นิวโทรฟิล ผลการศึกษาพบว่า SDF-1 สามารถป้องกันการตายของเซลล์นิวโทรฟิลได้ โดยเฉพาะในเซลล์นิวโทรฟิลของโรคธาลัสซีเมีย SDF-1 จะสามารถออกฤทธิ์ได้อย่างดีโดยกระตุ้นเซลล์ผ่านทาง MEK-1 และ PI-3K

การสร้างสายโกลบินอย่างไม่สมดุลเป็นลักษณะเฉพาะของโรคธาลัสซีเมีย จากผลการศึกษาที่ผ่านมาพบว่า ผู้ป่วยมีความบกพร่องในการสร้างและมีการตายของเซลล์เม็ดเลือดแดงตัวอ่อนในไขกระดูก จึงได้ทำการศึกษาหาสาเหตุและกลไกที่เกิดขึ้นในผู้ป่วยชนิดบีต้าธาลัสซีเมีย/ฮีโมโกลบินอีในกลุ่มที่มีอาการมาก กลุ่มที่มีอาการน้อย และคนปกติ อย่างละ 5 ราย จากผลการวิจัยโดยใช้วิธีการวัดระดับการแสดงออกของยีนด้วยไมโครอาร์เรย์ แสดงให้เห็นว่ามียีนหลายตัวที่ถูกแสดงออกมาในระดับที่สูงหรือต่ำแตกต่างกันไปเมื่อเปรียบเทียบกับคนปกติ เช่น ยีนในระบบภูมิคุ้มกัน ยีนต้านอนุมูลอิสระ ยีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการอักเสบ การตายแบบอะพอพโตซิส และการแบ่งตัวของเซลล์ เป็นที่สังเกตว่าเมื่อทำการวิเคราะห์ด้วยสถิติ มีการค้นพบยีน 158 ยีนที่ช่วยจำแนกผู้ป่วยทั้งสองกลุ่มออกจากกันได้ ข้อมูลที่ค้นพบเหล่านี้จะมีประโยชน์ต่อผู้ป่วยในแง่ของการรักษาต่อไป

132 หน้า ISBN 974-04-7662-7

**REGULATION OF HEMATOPOIESIS: MOLECULAR AND GENETIC STUDIES
OF PROGRAMMED CELL DEATH IN HUMAN DISEASES**

DUANGMANEE SANMUN 4536722 MTMT/D

Ph.D. (MEDICAL TECHNOLOGY)

THESIS ADVISORS: PRANEE FUCHAROEN, Ph.D., DALINA TANYONG, Ph.D.,
SUTHAT FUCHAROEN, M.D., SAOVAROS SVASTI, Ph.D., KOVIT
PATTANAPANYASAT, Ph.D.**ABSTRACT**

Programmed cell death (apoptosis) is crucial for the maintenance of tissue homeostasis. The present thesis deals with the role of chemokines in apoptosis signaling in a rare genetic disorder of neutrophil homeostasis, and the role of apoptosis in the ineffective erythropoiesis observed in thalassemia patients.

WHIM (warts, hypogammaglobulinemia, infections, myelokathexis) syndrome is an inherited hematopoietic disorder linked to mutations in the CXCR4 chemokine receptor gene. The hallmark of this syndrome is myelokathexis, (i.e. abnormal retention of mature neutrophils in the bone marrow), and, as a result, this leads to a remarkably low level of neutrophils in peripheral circulation. SDF-1 is the sole ligand for CXCR4. This research tested whether the SDF-1/CXCR4 axis can control the survival of peripheral neutrophils obtained from neutropenic patients and controls. Findings demonstrate for the first time that SDF-1 is a potent anti-apoptotic factor for WHIM neutrophils, but less effective in controls. Additionally, it was observed that MEK-1 and PI-3 kinase signal transduction was involved in mediating the effects of SDF-1.

Thalassemia is a group of genetic disorders resulting from an imbalance in globin synthesis. Previous studies have shown that ineffective erythropoiesis and accelerated apoptosis occur in erythroid precursor cells of β -thalassemia patients. To define the contribution of erythropoiesis and apoptosis to the phenotypic severity of β -thalassemia/HbE disease, global transcription analysis of erythroid cells from patients with mild and severe clinical course and controls was performed. These analyses demonstrated that many genes were differentially expressed in cells from thalassemia patients versus controls, particularly genes involved in immune response, oxidative stress, inflammatory response, apoptosis, and cell proliferation. Notably, hierarchical clustering of 158 reporter genes suggested that the patients with mild and severe disease could be discriminated based on gene expression. This novel information could yield candidates for biomarkers for disease severity in β -thalassemia/HbE diseases.

KEY WORDS: CHEMOKINE/MYELOKATHEXIS/APOPTOSIS/THALASSEMIA

132 pp. ISBN 974-04-7662-7