

**THE SUPPRESSION OF TGF- β EXPRESSION IN DENDRITIC
CELLS USING shRNA MODULATE Th1/ Th2 PATTERNS ON
CD4⁺ T CELLS**

NATTAPORN LOUSUWAN

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
(PHARMACOLOGY)
FUCULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY
2007**

COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY

การกวดการแสดงออกของ TGF- β ใน DENDRITIC CELLS โดยการใช้ shRNA เปลี่ยนรูปแบบของ Th1/ Th2 บน CD4⁺ T CELLS (THE SUPPRESSION OF TGF- β EXPRESSION IN DENDRITIC CELLS USING shRNA MODULATE Th1/ Th2 PATTERNS ON CD4⁺ T CELLS)

นัฐพร เหล่าสุวรรณ 4536331 SIPM/M

วท.ม. (เภสัชวิทยา)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ : อติศักดิ์ วงศ์จรศิลป์, M.D., Ph.D., กิตติพงษ์ มณีโชติสุวรรณ, M.D., Ph.D., ประวิทย์ อัครเสรินนท์, M.D., Ph.D., ชวัลชัย ศรีสวัสดิ์, M.D., Ph.D.

บทคัดย่อ

Transforming growth factor beta (TGF- β) เป็น cytokines สำคัญที่ควบคุมขบวนการต่าง ๆ ของเซลล์ในร่างกาย TGF- β ยังมีบทบาทสำคัญในการควบคุมระบบภูมิคุ้มกัน โดยยับยั้งการเพิ่มจำนวนและการเปลี่ยนแปลงของ T cell นอกจากนี้ ยังยับยั้งหน้าที่ของ antigen presenting cell ในการกระตุ้น T cell ด้วย ยิ่งไปกว่านั้น การแสดงออกของ TGF- β ยังสัมพันธ์กับความก้าวหน้าทางคลินิกของมะเร็ง โดยเซลล์มะเร็งมีแนวโน้มที่เพิ่มการสร้างของ TGF- β เพื่อช่วยให้เซลล์มะเร็งหลบหนีจากการเฝ้าระวังของระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย RNA interference เป็นกลไกที่ยับยั้งการแสดงออกของยีนส์อย่างเฉพาะเจาะจงต่อลำดับของยีนส์ ในระดับของ posttranscriptional และยังเป็นเครื่องมือที่มีประสิทธิภาพ ที่ใช้ในการศึกษาการแสดงออกของยีนส์ภายในเซลล์ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม.

การศึกษานี้แสดงให้เห็นถึง การสร้าง plasmid vector ตัวใหม่ที่เฉพาะต่อ TGF- β 1 จากผลการใช้ plasmid vector ตัวใหม่พบว่าเทคนิค RNAi สามารถกวดการแสดงของ TGF- β 1 ภายในเซลล์เป้าหมายได้ ผลจากการลดลงของ TGF- β ภายใน dendritic cells ทำให้ co-cultured CD4⁺ T cells โอนเอียงไปทาง Th2 ยิ่งไปกว่านั้นการลดลงของ TGF- β 1 ใน dendritic cells ที่ถูก pulsed ด้วย RNA ของ tumor จะเพิ่ม cytolytic activity ของ $\gamma\delta$ T cell ที่เลี้ยงร่วมกับ dendritic cells นั้น ต่อ cholangiocarcinoma cell

THE SUPPRESSION OF TGF- β EXPRESSION IN DENDRITIC CELLS USING shRNA MODULATE Th1/ Th2 PATTERNS ON CD4⁺ T CELLS

NATTAPORN LOUSUWAN 4536331 SIPM/M

M.Sc. (PHARMACOLOGY)

THESIS ADVISORS : ADISAK WONGKAJORN SILP, M.D., Ph.D., KITTIPONG MANEECHOTESUWAN, M.D., Ph.D., PRAVIT AKARASEREENONT, M.D., Ph.D., CHATCHAWAN SRISAWAT, M.D., Ph.D.

ABSTRACT

Transforming growth factor beta (TGF- β) is a pleiotropic cytokine with essential regulators of cellular and physiological processes. It plays an important role in immune regulation by inhibition of T cell proliferation, differentiation, and T cell stimulatory functions of antigen presenting cells (APCs). Furthermore, TGF- β expressions are correlated with advanced clinical stages of the tumor via cancer cells. These cancer cells tend to increase production of TGF- β and help cancer to escape from immunosurveillance. RNA interference (RNAi) is a mechanism for sequence-specific posttranscriptional inhibition of gene expression via double stranded RNA molecules. This technology provides a powerful tool for inhibiting endogenous gene and is now an established technique for experimental knockdown of gene expression in mammalian cells.

This thesis demonstrated the newly constructed plasmid vector specific for TGF- β 1 mRNA. The RNAi using short hairpin RNA (shRNA) succeeded in decreasing the intracellular expression of TGF- β 1 in targeted cells (cholangiocarcinoma and dendritic cells). The TGF- β 1 knockdown in dendritic cells biased the co-cultured CD4⁺ T cells toward the T helper 2 (Th2) phenotype. Furthermore, the TGF- β 1 knockdown in tumor's RNA pulsed-dendritic cells enhances the cytolytic activity of co-cultured $\gamma\delta$ T cell against the allogeneic cholangiocarcinoma cell.

**KEY WORDS : RNA INTERFERENCE / TRANSFORMING GROWTH
FACTOR- β / DENDRITIC CELLS**

107 P.