

**DETERMINATION OF THE SIGNIFICANCE OF NITRIC OXIDE
DURING NATURAL DENGUE VIRUS INFECTION AND HOST
GENETIC RESPONSE TO NITRIC OXIDE SUSCEPTIBLE AND
NITRIC OXIDE RESISTANT DENGUE VIRUS INFECTION**

TAKOL CHAREONSIRISUTHIGUL

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF DOCTOR OF PHILOSOPHY
(MICROBIOLOGY)
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY
2007**

COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY

การศึกษาความสำคัญของสารไนตริกออกไซด์ระหว่างการติดเชื้อไวรัสเด็งกีในธรรมชาติ และการตอบสนองทางด้านยีนส์ของเซลล์เจ้าบ้านต่อการติดเชื้อไวรัสเด็งกีที่ทนทานและไม่ทนทานต่อสารไนตริกออกไซด์

(DETERMINATION OF THE SIGNIFICANCE OF NITRIC OXIDE DURING NATURAL DENGUE VIRUS INFECTION AND HOST GENETIC RESPONSE TO NITRIC OXIDE SUSCEPTIBLE AND NITRIC OXIDE RESISTANT DENGUE VIRUS INFECTION)

ถกถ จริญญาศิริสุททธิกุล 4637301 SCMI/D

ปร.ด. (จุลชีววิทยา)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ : สุขธิดา อุบล, Ph.D. (Virology). วิภาวี จำปาเงิน, Doctor of Medical Science. พงศ์ศักดิ์ อุทัยสินธุเจริญ, Ph.D. (Biochemistry).

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความสำคัญของสารไนตริกออกไซด์ ซึ่งเกิดขึ้นในร่างกายของผู้ป่วยโรคไข้เลือดออกเด็งกี ผลการวิจัยพบว่าสารไนตริกออกไซด์เป็นหนึ่งในปัจจัยทางภูมิคุ้มกันที่มีบทบาทในการควบคุมปริมาณไวรัสในผู้ป่วยโรคไข้เลือดออก นอกจากนี้ยังพบว่าการยับยั้งการผลิตสารไนตริกออกไซด์เกิดขึ้นเฉพาะในผู้ป่วย DHF ที่ได้รับเชื้อครั้งที่สองเท่านั้น คณะวิจัยจึงตั้งสมมติฐานว่า enhancing antibody เป็นโมเลกุลหนึ่งที่ควบคุมการผลิตสารไนตริกออกไซด์ เพื่อพิสูจน์สมมติฐานนี้คณะวิจัยจึงได้ทำการศึกษาการผลิตสารไนตริกออกไซด์ในเซลล์ THP-1 ที่ถูกทำให้มีการติดเชื้อโดยผ่านทาง ADE ผลการทดลองพบว่าการติดเชื้อผ่านทาง ADE ยับยั้งการผลิตสารไนตริกออกไซด์ โดยรบกวนการสร้าง IRF-1 และขัดขวางการกระตุ้น STAT-1 นอกจากนี้ยังพบว่าการติดเชื้อผ่านทาง ADE ยังสามารถยับยั้งการผลิต pro-inflammatory cytokines เช่น IL-12, IFN- γ และ TNF- α ในขณะที่เพิ่มการผลิต anti-inflammatory cytokines เช่น IL-6 และ IL-10 จากผลการศึกษาพบว่าการติดเชื้อผ่านทาง ADE ไม่เพียงแต่เพิ่มการเข้าสู่เซลล์ของไวรัส แต่ยังเปลี่ยนแปลงกลไกการต่อต้านไวรัสซึ่งนำไปสู่การเพิ่มจำนวนของไวรัสเด็งกีอย่างไม่จำกัด

จากผลงานวิจัยที่ผ่านมาสารไนตริกออกไซด์ถูกใช้เป็นตัวชี้วัดในการจัดกลุ่มไวรัสเด็งกีออกเป็นไวรัสที่ทนทานและไม่ทนทานต่อสารไนตริกออกไซด์ เพื่อที่จะบอกความแตกต่างในการแสดงออกของไวรัสทั้งสองกลุ่ม เซลล์ THP-1 ที่ติดเชื้อไวรัสทั้งสองกลุ่มนี้ได้ถูกนำมาศึกษาการตอบสนองของยีนส์ด้วยวิธี cDNA array analysis ผลการศึกษาพบว่าไวรัสที่ทนทานต่อสารไนตริกออกไซด์กระตุ้นให้เกิดการเปลี่ยนแปลงการแสดงออกของยีนส์ได้มากกว่าไวรัสที่ไม่ทนทานต่อสารไนตริกออกไซด์ ยีนส์ที่มีการแสดงออกเพิ่มมากขึ้นอาจจะแสดงให้เห็นถึงการตอบสนองของเซลล์เจ้าบ้านต่อไวรัส และ/หรือการที่ไวรัสกระตุ้นกลไกการก่อให้เกิดพยาธิสภาพ ในทางตรงกันข้ามยีนส์ที่มีการแสดงออกลดลง อาจจะนำไปสู่การยับยั้งกลไกการป้องกันของเซลล์เจ้าบ้านในบางส่วน ซึ่งจะส่งผลต่อการเพิ่มปริมาณของไวรัส

DETERMINATION OF THE SIGNIFICANCE OF NITRIC OXIDE DURING NATURAL DENGUE VIRUS INFECTION AND HOST GENETIC RESPONSE TO NITRIC OXIDE SUSCEPTIBLE AND NITRIC OXIDE RESISTANT DENGUE VIRUS INFECTION

TAKOL CHAREONSIRISUTHIGUL 4637301 SCMI/D

Ph.D. (MICROBIOLOGY)

THESIS ADVISOR: SUKATHIDA UBOL, Ph.D. (VIROLOGY), WIPAWEE JAMPANGERN, DOCTOR OF MEDICAL SCIENCE. PONGSAK UTAISINCHAROEN, Ph.D. (BIOCHEMISTRY)

ABSTRACT

In this study, the impact of nitric oxide on natural dengue virus infection was investigated. It was found that nitric oxide serves as one immunological factor which regulate viremia in dengue patients. Moreover, suppression of nitric oxide production occurred in secondary DHF patients only. It was hypothesized that an enhancing antibody is one of the key molecules regulating nitric oxide production. To prove this hypothesis, nitric oxide production in ADE-infected THP-1 was studied. ADE-infection pathway suppressed nitric oxide production by disrupting the transcription of IRF-1, and blocking the activation of STAT-1. Moreover, it was found that ADE-infection suppressed the production of pro-inflammatory cytokines; IL-12, IFN- γ and TNF- α while facilitating production of anti-inflammatory cytokines; IL-6 and IL-10. These data suggested that ADE-infection not only facilitates the entry process, but also modifies the anti-viral mechanisms resulting in unrestricted dengue virus replication.

Nitric oxide has been used as a marker to group dengue virus isolated from patients into nitric oxide susceptible and nitric oxide resistant virus. To differentiate the phenotype of these virus groups, genetic responses of nitric oxide susceptible or nitric oxide resistant infected THP-1 cells were investigated at the transcriptional levels using cDNA array analysis. The results indicated that nitric oxide resistant virus induced more changes in the gene expression than nitric oxide susceptible virus did. Up-regulated genes may represent host responses to virus and/or viral induced mechanisms of pathogenesis. On the other hand, the down-regulation of other cellular transcripts may be partially attributed to shut off host defense mechanisms in favor of viral replication.

KEY WORDS: DENGUE VIRUS/ NITRIC OXIDE/ HOST GENETIC RESPONSE/ ANTIBODY-DEPENDENT ENHANCEMENT (ADE)/ cDNA ARRAY ANALYSIS

107 P.