EXPRESSION PROFILING AND IDENTIFICATION OF HOST RESPONSE GENES IN PATIENTS WITH SCRUB TYPHUS

THANAVADEE PRACHASON

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF
DOCTOR OF PHILOSOPHY (IMMUNOLOGY)
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY
2012

COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY

Copyright by Mahidol University

EXPRESSION PROFILING AND IDENTIFICATION OF HOST RESPONSE GENES IN PATIENTS WITH SCRUB TYPHUS

THANAVADEE PRACHASON 4601052 SIIM/D

Ph.D. (IMMUNOLOGY)

THESIS ADVISORY COMMITTEE: CHANIN LIMWONGSE, M.D., YUPIN SUPUTTAMONGKOL, M.D., SONTANA SIRITANTIKORN, Dr.rer.nat.

ABSTRACT

Scrub typhus, an infectious disease caused by *Orientia tsutsugamushi* (OT), is a potentially life-threatening illness that is a major cause of acute undifferentiated fever in the Asia-Pacific region. Early diagnosis of the disease is still a challenging clinical problem, and the molecular bases of the infection remain largely uncharacterized. Thus, genome-wide expression analyses were performed in patients with scrub typhus to assess the diagnostic potential of mRNA profiling for the disease and to investigate transcriptional responses of the host during the infection. As compared to other common infections with overlapping clinical features, 65 gene transcripts possessed a distinctive expression pattern for scrub typhus, which perfectly discriminated all the patients with scrub typhus from the rest. Using the profile of only five selected scrub-specific genes, the specified cases could still be grouped together. When a healthy control group was compared, 613 transcripts with ≥ 2-fold up-regulation in scrub typhus patients appeared to be enriched in cell cycle, cell division and immune response. The presence of IFN-γ and its related genes, such as *GBP1*, *IDO1*, and *FASLG*, in the list suggest that type 1 immune response was induced. Surprisingly, particular enrichment of 517 down-regulated transcripts was observed in immune system process, defense response and inflammation, and chemotaxis.

Among the scrub typhus-responsive genes being identified, *IDO1*, a tryptophan-catabolizing enzyme, which was previously reported for its role in host defense against various infectious pathogens, was selected for further study. An induction of IDO1 activity was first confirmed in patients with scrub typhus at both transcriptional and functional levels. Subsequent experiments in a human macrophage cell line THP-1 revealed that OT growth was limited by IFN-γ-mediated IDO1 activation and could be partly restored by 1-MT, an inhibitor of IDO1 enzyme. Excessive amount of tryptophan supplement did not only prevent the depression of OT growth but also dramatically increased the number of OT per host cell in and IDO1-active culture. Altogether, these data suggest that the induction of IDO1 upon scrub typhus infection might help restrict intracellular growth of OT via tryptophan deprivation.

KEY WORDS: SCRUB TYPHUS/ EXPRESSION PROFILING/ HOST RESPONSE/ INDOLEAMINE 2,3-DIOXYGENASE (IDO1)/ ORIENTIA TSUTSUGAMUSHI

117 pages

Copyright by Mahidol University

การศึกษารูปแบบการแสดงออกของยีนและการค้นหายีนที่ตอบสนองต่อการติดเชื้อในผู้ป่วยโรคไข้รากสาดใหญ่

EXPRESSION PROFILING AND IDENTIFICATION OF HOST RESPONSE GENES IN PATIENTS WITH SCRUB TYPHUS

ธนาวดี ประชาสันติ์ 4601052 SIIM/D

ปร.ด. (วิทยาภูมิคุ้มกัน)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์: ชนินทร์ ลิ่มวงศ์, M.D., ยุพิน ศุพุทธมงคล, M.D., สนทนา ศิริตันติกร, Dr.rer.nat.

บทคัดย่อ

โรคไข้รากสาดใหญ่เป็นโรคที่อาจมีความรุนแรงถึงขั้นเสียชีวิตและเป็นสาเหตุหลักอย่างหนึ่งของอาการไข้ไม่ทราบสาเหตุในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก การให้การวินิจฉัยโรคตั้งแต่เนิ่นๆยังคงเป็นปัญหาทางคลินิกที่ท้าทาย พื้นฐานความรู้ในระดับโมเลกุลที่เกี่ยวกับการติดเชื้อชนิดนี้ส่วนใหญ่ก็ยังไม่เป็นที่กระจ่างนัก คณะผู้วิจัยจึงได้ทำการศึกษาวิเคราะห์รูปแบบการแสดงออกของยีนทั้งจีโนมในผู้ป่วยโรคไข้รากสาดใหญ่เพื่อประเมินความเป็นไปได้ของการใช้รูปแบบของ mRNA ในการวินิจฉัยโรค และเพื่อสำรวจการตอบสนองในระดับ transcription ของผู้ป่วยในระหว่างการติดเชื้อนี้ เมื่อเปรียบเทียบกับการติดเชื้อชนิดอื่นๆที่มีลักษณะทางคลินิกที่คล้ายคลึงกัน พบว่า transcript จำนวน 65 transcripts มีรูปแบบการแสดงออกของยีนที่แตกต่างออกไปเมื่อเปรียบเทียบกับโรคไข้รากสาดใหญ่ ซึ่งลักษณะการแสดงออกดังกล่าวสามารถแยกแยะผู้ป่วยโรคนี้จากผู้ป่วยติดเชื้อกลุ่มอื่นๆได้ เมื่อใช้รูปแบบการแสดงออกของยีนที่จำเพาะกับโรคนี้พียงแค่ 5 ยีน ผู้ป่วยโรคไข้รากสาดใหญ่ก็ยังสามารถถูกจัดให้อยู่รวมกลุ่มกันได้ จากการศึกษาเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่เจ็บป่วย พบว่าในกลุ่มผู้ป่วยโรคไข้รากสาดใหญ่ มี transcript จำนวน 613 transcripts ที่มีระดับการแสดงออกสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างน้อยสองเท่า ซึ่งส่วนใหญ่เป็นยีนที่มีบทบาทในระบวนการวัฏจักรของเซลล์ การแบ่งเซลล์ และการตอบสนองของภูมิคุ้มกัน โดยมียีน IFNG และยีนที่เกี่ยวข้องกันกับยีนนี้ เช่น *GBP1*, *IDO1* และ *FASLG* รวมอยู่ในรายการดังกล่าวด้วย สิ่งที่น่าประหลาดใจ คือ การสังเกตพบว่า transcript ที่มีการแสดงออกลดลงในผู้ป่วยโรคไข้รากสาดใหญ่จำนวน 517 transcripts เป็นยีนเกี่ยวกับกระบวนการในระบบภูมิคุ้มกัน กระบวนการตอบสนองเพื่อป้องกันตนเองและการอักเสบ และกระบวนการ chemotaxis เป็นหลัก

ในบรรดายีนที่ตอบสนองต่อการติดเชื้อไข้รากสาดใหญ่ที่ถูกค้นพบในการศึกษานี้ ยีน IDO1 ซึ่งผลิตเอ็นไซม์ที่สลายกรดอะมิโน tryptophan และมีบทบาทในการป้องกันเจ้าบ้านจากการติดเชื้อหลายชนิด เป็นยีนได้รับการคัดเลือกในการนำไปศึกษาในขั้นต่อไป คณะผู้วิจัยจึงได้ทำการศึกษาและยืนยันว่าระดับการทำงานของยีน IDO1 เพิ่มสูงขึ้นจริงในผู้ป่วยโรคไข้รากสาดใหญ่ทั้งในขั้น trancription และการทำหน้าที่ของเอ็นไซม์ การทดลองต่อมาในเซลล์ THP-1 ซึ่งเป็น macrophage cell line ของมนุษย์ พบว่าการเพิ่มจำนวนของเชื้อ OT ถูกจำกัดเมื่อกระตุ้นการทำงานของยีน IDO1 ด้วย IFN-γ และสามารถได้รับการฟื้นคืนบางส่วนเมื่อยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์นี้ด้วยสาร 1-MT การให้กรดอะมิโน tryptophan เสริมในปริมาณที่มากเกินพอไม่เพียงป้องกันการลดลงของจำนวนเชื้อ OT ในเซลล์ที่ได้รับการกระตุ้นการทำงานของยีน IDO1 แต่ยังเพิ่มสัดส่วนจำนวนเชื้อต่อเซลล์เจ้าบ้านอย่างมีนัยสำคัญ โดยรวมแล้วผลงานวิจัยชิ้นสนับสนุนว่าการทำงานของยีน IDO1 ที่เพิ่มขึ้นในระหว่างการติดเชื้อไข้รากสาดใหญ่น่าจะช่วยจำกัดการเพิ่มจำนวนของเชื้อ OT ภายในเซลล์ผ่านการพรากกรดอะมิโน tryptophan

117 หน้า

Copyright by Mahidol University