

**INVESTIGATION OF HOST-PATHOGEN INTERACTIONS IN
HUMAN PHAGOCYtic AND NON-PHAGOCYtic CELLS
AGAINST *BURKHOLDERIA PSEUDOMALLEI* PP844
AND ITS *RPOS* MUTANT INFECTION**



SUCHARAT SANONGKIET

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

2016

COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY

INVESTIGATION OF HOST-PATHOGEN INTERACTIONS IN HUMAN PHAGOCYtic AND NON-PHAGOCYtic CELLS AGAINST *BURKHOLDERIA PSEUDOMALLEI* PP844 AND ITS *RPOS* MUTANT INFECTION

SUCHARAT SANONGKIET 5237295 SCBC/D

Ph.D. (BIOCHEMISTRY)

THESIS ADVISORY COMMITTEE: SUMALEE TUNGPRADABKUL, Ph.D.;
LARAN THARAN JENSEN, Ph.D.; KITTISAK YOKTHONGWATTANA, Ph.D.

ABSTRACT

B. pseudomallei is a Gram negative which is the causative agent of melioidosis, the third cause of death among the Thai population below AIDs and tuberculosis. Clinical cases reported that the patients have chance for disease recurrence via relapse, if those patients belong to diabetes mellitus or immunodeficiency, and, knowledge about intracellular survival of *B. pseudomallei* in human cells is still imprecise. In this experiment, the researcher investigated the interaction between host and pathogen by determining the behaviors of the bacteria including invasion and replication inside the human hepatocyte cells and the human monocyte cells which were distinctly different in terms of phagocytosis. Moreover, the defense mechanism in both kinds of cells against *B. pseudomallei* infection was also verified by considering the expression of nitric oxide (NO) synthase. The cellular autophagy induction when infected with *B. pseudomallei* was determined and, the *rpoS* roles in the intracellular survival of *B. pseudomallei* validated. The results showed that *B. pseudomallei* could invade and replicate within the human hepatocyte cells and the human monocyte cells under these abilities that depended on the *rpoS* gene. Furthermore, the *rpoS* gene was also relevant to the suppression of NO in human hepatocyte cell and the cellular autophagy was induced when infected with bacteria in both kinds of cells. Finally, the behavior of *B. pseudomallei* inside human monocyte cell was characterized using transmission electron microscope (TEM), together, the data may led to the understanding about host-pathogen interaction and could contribute to the fundamental knowledge which convey new assumption about relapse in melioidosis patients.

KEY WORDS: *BURKHOLDERIA PSEUDOMALLEI* / INDUCIBLE NITRIC OXIDE SYNTHASE / AUTOPHAGY / LC3-ASSOCIATED PHAGOCYTOSIS

การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างผู้บุกรุกและเจ้าบ้านในเซลล์แบบฟาโกไซโตซิส และไม่ฟาโกไซโตซิสของคนที่ต่อการติดเชื้อ *BURKHOLDERIA PSEUDOMALLEI*

INVESTIGATION OF HOST-PATHOGEN INTERACTIONS IN HUMAN PHAGOCYTTIC AND NON-PHAGOCYTTIC CELLS AGAINST *BURKHOLDERIA PSEUDOMALLEI* PP844 AND ITS *RPOS* MUTANT INFECTION

สุชารัตน์ สนองเกียรติ 5237295 SCBC/D

ปร.ด. (ชีวเคมี)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์: สุมาลี ตั้งประดับกุล, Ph.D.; LARAN THARAN JENSEN, Ph.D.; กิตติศักดิ์ หยกทองวัฒนา, Ph.D.

บทคัดย่อ

B. pseudomallei เป็นแบคทีเรียแกรมลบซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดโรคmelioidosis โรคติดเชื้อชนิดนี้ทำให้คนไทยเสียชีวิตเป็นอันดับที่สาม รองลงมาจากเอดส์ และ วัณโรค จากผลการสำรวจเชิงคลินิก พบว่าผู้ป่วยมีโอกาสที่จะกลับมาเป็นโรคนี้ได้อีกครั้งหนึ่ง หากเกิดสภาวะเบาหวาน หรือภูมิคุ้มกันอ่อนแอ ความเข้าใจในกลไกการอยู่รอดของเชื้อ *B. pseudomallei* ภายในร่างกายของผู้ได้รับเชื้อยังไม่ทราบชัด ในการทดลองนี้ ผู้วิจัยได้ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างแบคทีเรียก่อเชื้อและผู้ติดเชื้อ โดยศึกษาพฤติกรรมของแบคทีเรียประกอบด้วย การบุกรุก และการเพิ่มจำนวนภายในเซลล์ตับของคน และในเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดโมโนไซท์ ซึ่งเป็นเซลล์ต่างชนิดกันในแง่ของกระบวนการฟาโกไซโตซิส นอกจากนี้ ผู้วิจัยศึกษาการตอบสนองของเซลล์ทั้งสองชนิดดังกล่าวต่อการติดเชื้อ โดยพิจารณาการแสดงออกของไนตริกออกไซด์ซินเทส และยังศึกษาการเกิดกระบวนการออโตฟาจี ในการทดลองนี้ ผู้วิจัยได้พิสูจน์ถึงความเกี่ยวข้องของยีน *rpoS* กับการอยู่รอดของ *B. pseudomallei* ภายในเซลล์ ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า *B. pseudomallei* สามารถบุกรุก และเพิ่มจำนวนได้ในเซลล์ตับของคน และในเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดโมโนไซท์ ความสามารถเหล่านี้เกี่ยวข้องกับยีน *rpoS* นอกจากนี้ ยีน *rpoS* ยังเกี่ยวข้องกับความสามารถในการยับยั้งการแสดงออกของไนตริกออกไซด์ ในเซลล์ตับของคน อย่างไรก็ตามกระบวนการออโตฟาจียังถูกกระตุ้นเมื่อเซลล์ติดเชื้อแบคทีเรีย ทั้งในเซลล์ตับของคนและเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดโมโนไซท์ ในตอนท้าย ผู้วิจัยศึกษาถึงรายละเอียดของพฤติกรรมของเชื้อ *B. pseudomallei* ภายในเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดโมโนไซท์โดยศึกษาผ่านกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่าน ข้อมูลทั้งหมดที่ได้จากการทำงานวิจัยครั้งนี้ จะทำให้เข้าใจความสัมพันธ์ระหว่างแบคทีเรียก่อเชื้อและผู้ติดเชื้อ โดยอาจเป็นพื้นฐานไปสู่การตั้งสมมติฐานเกี่ยวกับการเกิดสภาวะการกำเริบใหม่ของผู้ป่วยmelioidosis

Copyright by Mahidol University