THE ROLE OF EPIDERMAL LANGERHANS CELLS IN IMMUNE RESPONSES TO DENGUE VIRUS TYPE 2

SUWIMOL TAWEECHAISUPAPONG

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF DOCTOR OF PHILOSOPHY (PATHOBIOLOGY)

With compliments
of
.....

IN

FACULTY OF GRADUATE STUDIES

MAHIDOL UNIVERSITY

1997

Copyright by Mahidol University

ชื่อวิทยานิพนธ์ บทบาทของเซลล์ลางเกอร์ฮานส์ในปฏิกริยาก่อเกิดภูมิคุ้มกันต่อไวรัสเด็งกี่

ผู้วิจัย สุวิมล ทวีชัยศุภพงษ์

ปริญญา ปรัชญาดุษฎีบัณฑิต (พยาธิชีววิทยา)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์

ศุภกิจ อังศุภากร สพ.บ., วท.ม. (พยาธิชีววิทยา), Ph.D.

ณัฐ ภมรประวัติ พ.บ., D.Sc.

สมพงศ์ สหพงศ์ พ.บ., Ph.D.

ศิริพร ศรีอุไรรัตนา ภ.บ., วท.ม. (พยาธิชีววิทยา)

สุธี ยกส้าน พ.บ., ปร.ด. (พยาธิชีววิทยา)

วันที่สำเร็จการศึกษา 24 มกราคม พ.ศ. 2540

บทคัดย่อ

การศึกษาบทบาทของเซลล์ลางเกอร์ฮานส์ที่มีต่อการเกิดภูมิคุ้มกันต่อไวรัสเด็งกี่ในหนูไมส์พบว่า เซลล์ลางเกอร์ฮานส์ที่ผิวหนังบริเวณที่ฉีดไวรัสมีจำนวนเพิ่มขึ้นภายใน 24 ชั่วโมง และหนูไมส์สามารถสร้างภูมิคุ้มกัน (antibody) ต่อไวรัสเด็งกี่ได้ดี. เมื่อฉีดไวรัสเด็งกี่เข้าในผิวหนัง (intradermal) ของเท้าหลังในหนูไมส์พบว่า หนูไมส์ให้ภูมิคุ้มกันต่อไวรัสได้เร็วกว่าและสูงกว่าหนูไมส์กลุ่มที่ฉีดไวรัสเข้ากล้ามเนื้อขาหลัง (intramuscular). นอกจากนี้พบว่า การฉีดไวรัสเข้าในผิวหนังในลิงก็ยังให้ภูมิคุ้มกันได้เร็วและสูงกว่าการฉีดไวรัสเข้าใต้ผิวหนัง (subcutaneous) เช่นกัน.

เมื่อฉีดไวรัสเข้าในผิวหนังในหนูไมส์ซ้ำในเท้าเดียวกับเท้าที่ฉีดครั้งแรก พบว่าหนูไมส์สามารถสร้างภูมิคุ้มกันได้สูงกว่าเมื่อฉีดไวรัสในเท้าหลังคนละข้างกับเท้าที่ฉีดครั้งแรก. หลังจากฉีดไวรัสเด็งกี่เข้าในผิวหนังหนูไมส์ในระยะแรกๆ จำนวนเซลล์ลาง

Copyright by Mahidol University

เกอร์ฮานส์ในผิวหนังจะลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ. พบว่าการลดลงของเซลล์ลางเกอร์ฮานส์มีความสัมพันธ์กับปริมาณที่เพิ่มขึ้นของ dendritic cells ในชั้นหนังแท้ส่วนบน (superficial dermis) และที่บริเวณ interfollicular sinuses ของต่อมน้ำเหลือง.

การย้อมด้วยวิธีอิมมิวโนฟลูโอเรสเซนต์ (immunofluorescence) พบแอนติเจน (antigen) ของไวรัสทั้งที่ผิวหนังและที่ต่อมน้ำเหลืองในหนูไมส์. ทั้งนี้ยังพบแอนติเจนของไวรัสที่ผิวหนังในลิงหลังจากฉีดไวรัสเด็งกี่เข้าในผิวหนังด้วย นอกจากนี้การย้อมด้วยวิธีอิมมิวโนฟลูโอเรสเซนต์ ยังสามารถพบแอนติเจนของไวรัสในผิวหนังของลิงและของคนซึ่งนำมาเพาะเลี้ยงกับเชื้อไวรัสนอกร่างกายได้อีก การศึกษาโดยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน พบไวรัสเกาะที่ผนังของเซลล์ลางเกอร์ฮานส์และพบผนังเซลล์ของ lymphocytes แนบติดกับ dendritic cell ที่บริเวณ interfollicular sinuses ของต่อมน้ำเหลืองในหนูไมส์ด้วย. การศึกษาในลิงยังสามารถแสดง antigen pathway ใน dendritic cell ของลิงได้อีก นอกจากนี้การศึกษา dendritic cell ในผิวหนังของคนซึ่งนำมาเพาะเลี้ยงกับเชื้อไวรัสนอกร่างกายยังสามารถพบการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของ dendritic cell อย่างเด่นชัดโดยเฉพาะบริเวณผนังของเซลล์

การศึกษาทั้งหมดนี้ สรุปได้ว่า การฉีดไวรัสเด็งกี่เข้าในผิวหนังให้ผลทางภูมิคุ้มกันได้ดีกว่าให้ทางใต้ผิวหนังหรือเข้ากล้าม. แสดงว่า เซลล์ลางเกอร์ฮานส์มีบทบาทสำคัญต่อปฏิกิริยาก่อเกิดภูมิคุ้มกันต่อไวรัสเด็งกี่หลังจากฉีดไวรัสเข้าในผิวหนัง โดยสามารถจับไวรัสไว้และย่อยสลายไวรัสเป็นชิ้นส่วนเล็กๆ. จากนั้นจะส่งสัญญาณให้แก่ T-lymphocyte กระตุ้นให้เกิดการสร้างภูมิคุ้มกันต่อไวรัสได้อย่างมีประสิทธิภาพ ความรู้จากการศึกษานี้จึงน่าจะดัดแปลงนำไปใช้ประโยชน์ ในการให้วัคซีนไข้เลือดออกในอนาคต.

Copyright by Mahidol University

Thesis Title The Role of Epidermal Langerhans Cells in Immune Responses to Dengue Virus Type 2

Name Suwimol Taweechaisupapong

Degree Doctor of Philosophy (Pathobiology)

Thesis Supervisory Committee

Subhkij Angsubhakorn, D.V.M., M.Sc., Ph.D.

Natth Bhamarapravati, M.D., D.Sc.

Somphong Sahaphong, M.D., Ph.D.

Siriporn Sriurairatana, B.Sc. (Pharmacy), M.Sc.

Sutee Yoksan, M.D., Ph.D.

Date of Graduation 24 January B.E. 2540 (1997)

ABSTRACT

Langerhans cells (LCs) increased in numbers within 24 h at the site of intradermal (i.d.) injection of dengue-2 (DEN-2) virus as well as increased in neutralizing antibody in mice. Antibody production was more rapid and higher when mice were injected by i.d. route than intramuscular (i.m.) route. The more rapid and higher antibody production also occurred when monkeys were injected by i.d. route than subcutaneous (s.c.) route.

In mice given i.d. injection of DEN-2 virus, antibody production was more intense when mice were given repeat i.d. injection at the same footpad. A significant sharp drop in LC densities in the early phase after i.d. injection directly correlated with the increased

Copyright by Mahidol University

numbers of dendritic cells (DC) in the superficial dermis and interfollicular sinuses of draining lymph nodes (LN). Immunofluorescence finding showed the presence of antigen within the footpad epidermis and draining LN in the early minutes and 2 h after i.d. injection respectively. In monkey and human skin which were co-cultured with DEN-2 virus, the presence of antigen within the epidermis were also noted. Ultrastructural studies revealed adhesion of dengue virions on the plasma membrane of LC in the epidermis of mouse footpad, and tight adhesion of rosetting lymphocytes on the surface membrane of LN interfollicular DC. Moreover, antigen pathway in monkey DC was demonstrated at ultrastructural level. No complete virions could be seen in the endosomes of LC or DC of both mice and monkeys. In human skin co-culture with DEN-2 virus for 2 h, the scattered focal glycoprotein deposit were found on the surface membrane of DC.

Evidence from both murine and monkey model indicated clearly that the LCs fully exercise the role of potent antigen-presenting cell after i.d. injection with DEN-2 virus. Ultrastructural events together with serological assays in this study supports the current knowledge on antigen pathway and cellular antigen processing. This may encouraging our group for developing effective route of vaccination which would derive a maximal immune response to the vaccine.

Copyright by Mahidol University