



3736802 SCMI/M : MAJOR: MICROBIOLOGY; M.Sc. (MICROBIOLOGY)

KEY WORDS : APOPTOSIS, RABIES

SOMPONE THEERASURAKARN: INDUCTION OF APOPTOSIS IN SUCKLING MOUSE NEURAL CELLS DURING FIXED STRAIN OF RABIES VIRUS INFECTION. THESIS ADVISORS: SUKAATHIDA UBOL, Ph.D., MOLVIBHA VONGSAKUL, Ph.D., WITAYA THAMAVIT, Ph.D. 115 p. ISBN 974-662-933-6

Viruses such as HIV, influenza, picornavirus, and others are known as stimulators of apoptosis. This individual cellular elimination is a preferential host defense in regenerative tissues. In contrast, if this death occurs in nonregenerating cells, such as neurons of the central nervous system, the result may be disease.

The pathogenesis of rabies is still unknown. Many reports indicate that there are no necrosis and neuronophagia in rabies virus infected brain. This result suggests that the viral replication does not destroy neurons directly but damage may be caused by the host immune mechanisms. The target cells for rabies virus are the neural tissues. Here, we studied the outcome of the interaction between rabies virus (CVS-11) and mouse brain cells. Replication of rabies virus in suckling mouse brain cells resulted in brain cell apoptosis, detected by DNA fragmentation and *in situ* apoptosis within 25 hours after infection and before evidence of intracerebral immune activation. There were several clinical signs of illness in infected newborn mice within 25 hours after the appearance of DNA fragmentation and before infiltration of lymphocytes, which suggested that onset of illness started independently of the immune function. This conclusion was supported by the occurrence of massive apoptosis followed by paralysis in rabies virus-infected immunosuppressed mice.

Direct, viral-induced, neuronal apoptosis was the earliest death mechanism detected in these mice. We propose that the pathogenesis of this fixed strain of rabies virus in mice begins with the induction of apoptosis by rabies virus replication. Cerebral damage may then be amplified by immunological mechanisms plus an additional unidentified factor.

The caspase family of protease, such as ICE and Nedd-2, plays a role in activation of apoptotic death of neuronal cells infected with rabies virus. Both ICE and Nedd-2 gene were activated after the cells were infected with rabies virus. However Bcl-2 gene which plays a significant role in apoptosis in other cell systems was not changed during the course of infection.

3736802 SCMI/M : สาขาวิชา: จุลชีววิทยา; วท.ม. (จุลชีววิทยา)

สมพล วีระสุรการ: การเกิด apoptosis ในสมองลูกหนูถีบจักรระหว่างการติดเชื้อโรคพิษสุนัขบ้าสายพันธุ์ fixed strain (INDUCTION OF APOPTOSIS IN SUCKLING MOUSE NEURAL CELLS DURING FIXED STRAIN OF RABIES VIRUS INFECTION). คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์: ศุขธิดา อุบล Ph.D., มลวิภา วงษ์สกุล Ph.D., วิชา ธรรมาวิทย์ Ph.D., 115 หน้า. ISBN 974-662-933-6

เป็นที่รู้กันว่าไวรัสบางชนิด เช่น HIV, influenza, picornavirus และอื่นๆ สามารถกระตุ้นการตายของเซลล์แบบ apoptosis ได้ ซึ่งเป็นกลไกการรักษาตัวเองของเนื้อเยื่อชนิด regenerative tissues ในทางตรงกันข้ามถ้าการตายของเซลล์แบบ apoptosis เกิดขึ้นในเนื้อเยื่อชนิด nonregenerating tissues เช่น เซลล์ประสาทในระบบประสาทส่วนกลาง ก็จะก่อให้เกิดพยาธิสภาพได้

พยาธิสภาพของโรคพิษสุนัขบ้า นั้นยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด จากรายงานของนักวิจัยหลายกลุ่มพอสรุปได้ว่า ไม่พบ necrosis และ neurophagia ในสมองที่ติดเชื้อ จึงสันนิษฐานว่า การเจริญเติบโตของไวรัสไม่ได้ทำให้เกิดความเสียหายต่อเซลล์ประสาทโดยตรง แต่เกิดจากกลไกทางระบบภูมิคุ้มกัน เซลล์เป้าหมายของไวรัสโรคพิษสุนัขบ้าคือเซลล์ประสาท เราจึงศึกษาผลการนำไวรัสโรคพิษสุนัขบ้าสายพันธุ์ CVS-11 เข้าสู่เซลล์สมองหนู จากการตรวจสอบการแตกหักของชิ้นส่วน DNA ทำให้ทราบว่า การเพิ่มจำนวนของไวรัสโรคพิษสุนัขบ้าก่อให้เกิดโปรแกรม apoptosis ภายในเวลา 25 ชั่วโมงหลังติดเชื้อ โดยเหตุการณ์ดังกล่าวเกิดขึ้นก่อนที่จะมีการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน ลูกหนูที่ได้รับเชื้อไวรัสแสดงอาการป่วยอย่างเด่นชัดหลังจากเกิด apoptosis (ภายหลังการติดเชื้อ 25 ชั่วโมงขึ้นไป) และอาการป่วยของลูกหนูเกิดขึ้นก่อนที่จะพบ lymphocytes infiltration ในสมอง จากข้อมูลดังกล่าวสรุปได้คือ การติดเชื้อไวรัสโรคพิษสุนัขบ้าทำให้เกิดการตายของเซลล์ประสาทด้วยขบวนการ apoptosis และการตายแบบ apoptosis นี้เป็นตัวกำหนดอาการพยาธิสภาพโดยไม่ขึ้นกับการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน ซึ่งข้อสรุปดังกล่าวถูกยืนยันด้วยผลการทดลองในหนูถีบจักรเต็มวัยที่ถูกกระตุ้นภูมิคุ้มกันที่ได้รับเชื้อไวรัสนี้ แล้วพบการเกิด apoptosis ตามด้วยอาการป่วยเช่นกัน ดังนั้นการเกิด apoptosis จากการเพิ่มจำนวนของไวรัสจึงเป็นสาเหตุหลักของการเกิดพยาธิสภาพ โดยความเสียหายที่เกิดขึ้นจากระบบภูมิคุ้มกันนั้น จะเป็นเพียงตัวเสริมให้อาการของโรคเกิดรุนแรงขึ้นแต่ไม่ใช่สาเหตุเบื้องต้นของการโรค

เมื่อเราศึกษา genes ที่เกี่ยวข้องกับกลไกของ apoptosis เราพบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงของ Bcl-2 ในลูกหนูถีบจักรที่ติดเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้า แต่พบว่า ICE จะเพิ่มขึ้นในระหว่างการเกิด apoptosis และ Nedd-2 เพิ่มขึ้นภายหลังการเกิด apoptosis จากการทดลองเราพอสรุปได้ว่า Bcl-2 ไม่สามารถยับยั้ง apoptosis จากไวรัสพิษสุนัขบ้าได้ และไวรัสกระตุ้นการเกิด apoptosis ของเซลล์ประสาททาง Caspase pathway โดยมี ICE (Caspase 1) เป็นตัวหลัก และ Nedd-2 (Caspase 2) เป็นตัวเสริมการตาย