

23 JUL 2002



**PROLIFERATIVE RESPONSE AND EXPRESSION OF  
ACTIVATION ANTIGEN CD69 ON LYMPHOCYTES  
FROM NORMAL AND HIV-INFECTED  
INDIVIDUALS**

**KASAMA SUKAPIROM**

**อภิรักษ์นภาการ**

**จาก**

**บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยมหิดล**

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT  
OF THE REQUIREMENTS FOR  
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE (IMMUNOLOGY)  
FACULTY OF GRADUATE STUDIES  
MAHIDOL UNIVERSITY**

**2002**

**ISBN 974-04-1686-1**

**COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY**

TH  
K19p  
2002  
C.2

Copyright by Mahidol University

4037614 SIIM/M : MAJOR : IMMUNOLOGY ; M.Sc. (IMMUNOLOGY)

KEY WORD : CD69/HIV/ACTIVATION

KASAMA SUKAPIROM : PROLIFERATIVE RESPONSE AND EXPRESSION OF ACTIVATION ANTIGEN CD69 ON LYMPHOCYTES FROM NORMAL AND HIV-INFECTED INDIVIDUALS. THESIS ADVISORS : KOVIT PATTANAPANYASAT, Ph.D., MARK DeSOUZA, Ph.D., WANNEE KANTAKAMALAKUL, Ph.D. 120 P. ISBN 974-04-1686-1

A whole-blood flow cytometric-based assay was performed to determine the expression of the early activation antigen CD69 on lymphocytes from HIV-uninfected and HIV-infected individuals. Whole blood samples from 21 HIV-uninfected and 9 HIV-infected individuals (<500 absolute CD4 count per  $\mu$ l) were stimulated with various stimuli for 4 hours. The stimuli included mitogenic lectins (phytohemagglutinin (PHA), pokeweed mitogen (PWM) and concanavalin A (con A)), monoclonal antibodies (anti-CD3 mAb OKT3) and recall antigens (*Candida albicans* and tetanus toxoid). The baseline expression of CD69 on CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T lymphocytes from HIV-uninfected individuals were low but significant differences were observed in both lymphocyte subsets from HIV-infected individuals. The unstimulated CD56<sup>+</sup> lymphocytes from HIV-infected individuals showed high CD69 expression but no significant difference was observed when compared to HIV-uninfected individuals. PHA and PWM induced a significantly increase in the percentage of CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup> and CD56<sup>+</sup> lymphocyte that expressed CD69 from both HIV-uninfected and HIV-infected individuals, while con A, OKT3, *Candida albicans* and tetanus toxoid did not induce a significant increase in the percentage of CD69-expressing lymphocytes. The proportion of CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup> and CD56<sup>+</sup> lymphocyte expressing CD69 from HIV-infected individuals tends to decrease after PHA and PWM stimulation. Interestingly, CD56<sup>+</sup> lymphocytes from HIV-uninfected individuals that were stimulated with *Candida albicans* showed a significant increase in the percentage of CD69<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup> cells. This observation requires further study to confirm. Comparison of CD69 expression with [<sup>3</sup>H]thymidine lymphoproliferation assay demonstrated that all of the stimuli could induce proliferation of lymphocytes except PWM, which differ from the expression of CD69. This study demonstrates the utility of the measurement of CD69 to determine lymphocyte responsiveness in HIV-uninfected and HIV-infected individuals lymphocytes.

4037614 SIIM/M : สาขาวิชา : วิทยานิพนธ์ : วท.ม. (วิทยานิพนธ์)

กษมา สุขาภิรมย์ : การตอบสนองและการเกิดของ ซีดี69 บนเซลล์ลิมโฟซัยต์ของคนปกติและผู้  
ป่วยโรคติดเชื้อเอชไอวี (PROLIFERATIVE RESPONSE AND EXPRESSION OF ACTIVATION  
ANTIGEN CD69 ON LYMPHOCYTES FROM NORMAL AND HIV-INFECTED  
INDIVIDUALS). คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ : โกวิท พัฒนาปัญญาสัตย์, Ph.D., Mark  
DeSouza, Ph.D., วรณี กัณฐกมาลากุล, Ph.D. 120 หน้า. ISBN 974-04-1686-1

การศึกษาการเกิดของแอนติเจน CD69 บนเซลล์ลิมโฟซัยต์ของคนปกติและผู้ป่วยโรคติดเชื้อ  
เอชไอวีสามารถกระทำได้โดยใช้โฟลไซโทมิเตอร์ ตัวอย่างเลือดจากคนปกติจำนวน 21 รายและจาก  
ผู้ป่วยโรคติดเชื้อเอชไอวีจำนวน 9 ราย (จำนวนเซลล์ CD4 น้อยกว่า 500 เซลล์/ไมโครลิตร) ถูกนำมา  
กระตุ้นด้วย stimuli ต่างๆ เป็นเวลา 4 ชั่วโมง stimuli ที่ใช้ในการศึกษานี้ประกอบด้วย ไมโตเจนิก  
เล็กทิน (PHA, PWM และ con A) โมโนโคลนัล แอนติบอดีต่อ CD3 (OKT3) และรีคอล แอนติเจน  
(*Candida albicans* และ tetanus toxoid) จากการทดลองพบว่า การปรากฏของ CD69 บน CD4<sup>+</sup> และ  
CD8<sup>+</sup> ลิมโฟซัยต์ที่ไม่ถูกกระตุ้นของคนปกติมีค่าต่ำและมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับ  
ผู้ป่วยโรคติดเชื้อเอชไอวี เซลล์ CD56<sup>+</sup> ลิมโฟซัยต์ที่ไม่ถูกกระตุ้นของผู้ป่วยโรคติดเชื้อเอชไอวีมี  
การปรากฏของ CD69 สูงแต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับคนปกติ การกระตุ้น  
ด้วย PHA และ PWM สามารถทำให้การเกิดของ CD69 บนเซลล์ CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup> และ CD56<sup>+</sup>  
ลิมโฟซัยต์ทั้งจากคนปกติและผู้ป่วยโรคติดเชื้อเอชไอวีเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่ con A,  
OKT3, *Candida albicans* และ tetanus toxoid ไม่สามารถกระตุ้นให้มีการเกิดของ CD69 อย่างมี  
นัยสำคัญได้ และสัดส่วนของการเกิดของ CD69 บนเซลล์ CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup> และ CD56<sup>+</sup> ลิมโฟซัยต์จาก  
ผู้ป่วยโรคติดเชื้อเอชไอวีมีหลังจากถูกกระตุ้นด้วย PHA และ PWM มีแนวโน้มลดลง เป็นที่น่าสนใจ  
ว่าเซลล์ CD56<sup>+</sup> ลิมโฟซัยต์ของคนปกติที่ถูกกระตุ้นด้วยแอนติเจน *Candida albicans* มีการเพิ่มขึ้น  
อย่างมีนัยสำคัญของ CD69 อย่างไรก็ตาม ผลการทดลองนี้ต้องการการศึกษาเพิ่มเติมต่อไป เมื่อ  
เปรียบเทียบการเกิดของ CD69 กับ [<sup>3</sup>H]thymidine lymphoproliferation assay แล้วพบว่า stimuli  
ทั้งหมดที่ใช้ยกเว้น PWM สามารถกระตุ้นให้เกิดการ proliferate ของลิมโฟซัยต์ของคนปกติได้ ซึ่ง  
ผลการทดลองมีความแตกต่างจากการเกิดของ CD69 บนเซลล์ลิมโฟซัยต์ของคนปกติ