

บทคัดย่อ

สาเหตุหลักที่ทำให้เกิดการเสียชีวิตในโรคไข้เลือดออกคือภาวะเลือดออกและการรั่วของพลาสมาจำนวนมากออกนอกหลอดเลือดแบบเฉียบพลัน ซึ่งในกลุ่มผู้ป่วยมีอาการดังกล่าวนี้จะพบว่าการกระตุ้นระบบคอมพลิเมนต์ที่รุนแรงเกิดขึ้นร่วมด้วย แต่พยาธิกำเนิดของโรครวมถึงสาเหตุที่ทำให้เกิดการกระตุ้นระบบคอมพลิเมนต์ยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัดจึงเป็นที่มาของงานวิจัยชิ้นนี้เพื่อศึกษาบทบาทของโปรตีน NS1 ต่อพยาธิกำเนิดของโรค โปรตีน NS1 เป็นโปรตีนที่มีขนาดโมเลกุลประมาณ 45 kDa ซึ่งเป็นโปรตีนที่ไม่เป็นส่วนประกอบของตัวไวรัสแต่เมื่อไวรัสเข้าสู่เซลล์จะมีการสร้างโปรตีนชนิดนี้ขึ้นภายในเซลล์ แล้วจะถูกปล่อยออกมานอกตัวเซลล์ที่ติดเชื้อเป็นจำนวนมาก จากการศึกษาพบว่า NS1 เป็นโปรตีนที่สามารถกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันให้สร้างแอนติบอดีได้ และยังพบว่าในพลาสมาของคนไข้ที่ติดเชื้อเด็งกีจะมีปริมาณ NS1 ที่ถูกสร้างและปล่อยออกมาจากเซลล์ที่ติดเชื้อมีความสัมพันธ์กับความรุนแรงของโรค ดังนั้น NS1 น่าจะเป็นโปรตีนที่สำคัญตัวหนึ่งที่มีบทบาทเกี่ยวข้องกับพยาธิกำเนิดของโรคไข้เลือดออก

ในงานวิจัยนี้เป็นครั้งแรกที่ศึกษา ความสามารถในการกระตุ้นระบบคอมพลิเมนต์ของมนุษย์โดยโปรตีน NS1 ของไวรัสเด็งกี ซึ่งจากการศึกษาพบว่า membrane associated NS1 บนผิวของเซลล์ที่ติดเชื้อเด็งกีมีความสามารถในการกระตุ้นระบบคอมพลิเมนต์ในสถานะที่มีแอนติบอดีที่จำเพาะต่อโปรตีน NS1 โดยผ่านทาง Classical และ Alternative pathway ซึ่งผลการทดลองได้ถูกยืนยันโดยใช้ cells stably expressing NS1 นอกจากนั้นในสถานะที่ไม่มีแอนติบอดีพบว่า purified soluble NS1 มีความสามารถกระตุ้นระบบคอมพลิเมนต์ได้ และพบว่าการกระตุ้นระบบคอมพลิเมนต์ของทั้ง membrane associated และ soluble NS1 สามารถเกิดขึ้นไปจนถึง terminal pathway คือสามารถตรวจพบ C5b-9 ที่เกิดขึ้นบนผิวเซลล์ และ SC5b-9 โดยวิธี ELISA นอกจากนั้นยังพบว่าระดับของโปรตีน NS1 และ SC5b-9 สูงในเลือดของผู้ป่วย และยังพบว่ามีความสัมพันธ์กับระดับความรุนแรงของโรค และสามารถตรวจพบทั้ง NS1, C5a และ SC5b-9 ปริมาณมากในน้ำจากช่องปอดของผู้ป่วยที่มีอาการรุนแรง ดังนั้นความสามารถในการกระตุ้นระบบคอมพลิเมนต์ของโปรตีน NS1 น่าจะมีผลต่อกระบวนการของพยาธิกำเนิดอันส่งผลทำให้เกิดภาวะช็อกและการรั่วของพลาสมาออกนอกหลอดเลือดซึ่งจะพบในคนไข้ที่มีอาการรุนแรง และ การตรวจวัดทั้งระดับ NS1 และ SC5b-9 อาจจะช่วยในการให้การวินิจฉัยและพยากรณ์ความรุนแรงของโรคได้

ABSTRACT

Severe vascular leakage and shock are the major causes of death in patients with dengue hemorrhagic fever and dengue shock syndrome (DHF/DSS). Complement activation was proposed to be a key underlying event 30 years ago, but the cause of complement activation has remained unknown to the present day. The major nonstructural-protein NS1 of dengue virus (DV) was tested for its capacity to activate human complement in its cell-bound and soluble form. Plasma samples from 163 patients with DV-infection and from 19 patients with other febrile illnesses (OFI) were prospectively analyzed for levels of viremia, NS1, and complement activation products. Blood and pleural fluids from 9 patients with DSS were also analyzed. We discovered that soluble NS1 activated complement to completion, and activation was enhanced by polyclonal and monoclonal antibodies against NS1. Complement was also activated by cell-associated NS1 in the presence of specific antibodies. Plasma levels of NS1 and terminal SC5b-9 complexes correlated with disease severity. Large amounts of NS1, complement anaphylatoxin C5a and the terminal complement complex SC5b-9 were present in pleural fluids of DSS patients. The present study provides the link between NS1 load, complement activation and plasma leakage in severe DV-infection. High concentrations of complement activation products may be directly responsible for vascular leakage occurring in DHF/DSS patients. Massive complement activation in DV infections is triggered by NS1 both on cell surfaces and in the circulation. Measurements of NS1 and SC5b-9 in plasma may render it possible to identify patients at risk of developing vascular leakage and shock.