

Abstract

Project Code : MRG5080350

Project Title : Serotype specific of Dengue viruses affected to the endothelial integrity trigger through the Protease enzyme over production by infected Dendritic cells

Investigator : Natthanej Luplertlop
Lecturer in Department of Tropical Hygiene
Faculty of Tropical Medicine, Mahidol University

E-mail Address : tmnll@mahidol.ac.th

Project Period : 2 years

Dengue virus (DENV) is one of the most important high morbidity and mortality mosquito-borne diseases especially in tropical and subtropical countries., more than 2.5 billion people are at risk of dengue infection, and approximately 100 million cases of dengue fever annually. Up to 500,000 develop dengue hemorrhagic fever (DHF) or dengue shock syndrome (DSS), the life-threatening forms of the infection which are the consequence of increasing vascular permeability. Unfortunately, there is neither a vaccine for all four dengue serotypes nor specific antiviral drugs to treat the infection. This study aims to evaluate the relationship between matrix metalloproteinase enzymes(MMPs) and vascular leakage, the major cause severity in dengue infected patient. The expression of MMPs in all experiments identified by zymography and used specific inhibitor (SB-3CT) to confirm their expression. After that, we study the vascular integrity by immunofluorescence to the specific cytoskeletons. From this study demonstrated that all four dengue infected cells expressed the overproduction of MMP-2 trigger loss of vascular endothelial cell-cell interaction. This overproduction was associated with serotype specific and time dependent manner that MMP-2 response to DV virus type 2 infection is strikingly different between other serotypes and that DV-induced MMP-2 overproduction are highly at 6 hours post infection for all C6/36, LLC-MK2 and THP-1 cells. These experiments define the surrogate markers that provide an opportunity for DHF/DSS pathogenesis, as well as alternative molecular determinant on the treatment and vaccine development.

Keywords : Dengue, Matrix metalloproteinase, Vascular permeability, Dengue hemorrhagic fever, Endothelial cells

รหัสโครงการ : MRG5080350
ชื่อโครงการ : ความจำเพาะของไวรัสไข้เลือดออกมีผลกระทบต่อการเปลี่ยนแปลงของ
เยื่อผนังเส้นเลือดส่งผลกระทบต่อความรุนแรงของโรคไข้เลือดออก
ชื่อนักวิจัย : นายณัฐเนศวร์ ลับเลิศลบ
อาจารย์ประจำภาควิชาสุขวิทยาเขตร้อน
คณะเวชศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดล
E-mail Address : tmnll@mahidol.ac.th
ระยะเวลาโครงการ : 2 ปี

เชื้อไวรัสเดงกีจัดเป็นไวรัสที่เป็นสาเหตุหลักที่ก่อให้เกิดความสูญเสียชีวิตลำดับต้นๆ ในกลุ่มโรคติดต่อที่มีเยื่อเป็นพาหะโดยเฉพาะอย่างยิ่งในประเทศแถบเขตร้อน โดยพบว่ามีประชาชนมากกว่า 2.5 พันล้านคน ที่อยู่ในประเทศกลุ่มเสี่ยงต่อการติดเชื้อไวรัสเดงกี และประมาณ 100 ล้านคนทั่วโลกที่จะพบการเจ็บป่วยด้วยโรคไข้เดงกีในแต่ละปี โดยพบว่ามีประมาณ 500,000 คนที่จะพัฒนาเป็นไข้เลือดออกเดงกี ซึ่งจัดเป็นที่ชนิตรุนแรงถึงขั้นเสียชีวิตจากการรั่วของพลาสมาออกนอกเส้นเลือดซ้ำร้ายไปกว่านั้นโรคนี้ยังไม่มีการรักษาที่จำเพาะ และยังไม่มียาที่สามารถป้องกันการติดเชื้อไวรัสเดงกีทั้งสี่ชนิดได้ การศึกษาวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อที่จะศึกษาหาความสัมพันธ์ของเอนไซม์ matrix metalloproteinase (MMPs) ต่อพยาธิกำเนิดของการรั่วของพลาสมาออกนอกเส้นเลือด ซึ่งเป็นพยาธิกำเนิดหลักของโรคไข้เลือดออกเดงกีชนิตรุนแรง โดยการศึกษาในครั้งนี้ จะศึกษาหาเอนไซม์ MMPs โดยใช้วิธี Zymography ร่วมกับการใช้สารยับยั้งที่สามารถยับยั้งการสร้าง MMPs ได้คือ SB-3CT เพื่อเป็นการยืนยันการสร้าง MMPs นอกจากนั้นการศึกษานี้ยังศึกษาผลของ MMPs ต่อการยึดเกาะของเซลล์เยื่อผนังเส้นเลือดโดยใช้วิธี immunofluorescence เพื่อดูการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างพื้นฐานของการยึดเกาะระหว่างเซลล์เยื่อผนังเส้นเลือด ซึ่งจากการศึกษาครั้งนี้พบว่าการแสดงออกของ MMP-2 ในปริมาณที่สูงและส่งผลกระทบต่อการทำงานของเซลล์เยื่อผนังเส้นเลือด และยังพบว่าการแสดงออกของ MMP-2 นั้นมีความสัมพันธ์กับซีโรทัยป์ของไวรัสเดงกี และระยะเวลา โดยพบว่าจะมีการแสดงออกของ MMP-2 สูงสุดในเวลา 6 ชั่วโมงภายหลังการกระตุ้นด้วยไวรัสลงในเซลล์เป้าหมายและมีการแสดงออกของ MMP-2 สูงสุดในกลุ่มทดลองที่ใช้ไวรัสเดงกีซีโรทัยป์สองในทุกเซลล์เป้าหมายที่นำมาทำการทดลองคือ เซลล์ C6/36, LLC-MK2 และ THP-1

คำหลัก : Dengue, Matrix metalloproteinase, Vascular permeability, Dengue hemorrhagic fever, Endothelial cells