

Abstract

Project Code : MRG5280132

Project Title : Role of Toll-like receptor 2 (TLR2) expressing on human dendritic cells activated by *P. falciparum* antigen

Investigator : Dr. Somying Loharungsikul Department of Microbiology, Faculty of Medical Technology, Mahidol University

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

Project Period : 2 years

Human immature dendritic cells (immature DCs) express several pattern-recognition receptors (PRRs) including Toll-like receptors whose functions are recognized pathogen-associated molecular patterns (PAMPs). The activation of TLRs signaling pathways induces the regulation of genes encoding cytokines, costimulatory molecules and major histocompatibility complex (MHC) molecules which highly co-upregulate on mature DCs for mediating T cell response. In *P. falciparum* infection, we have previously demonstrated the increasing of TLR2 on monocytes and myeloid DCs in patients with mild and severe forms of malaria which was significantly correlated with IL-12p70 and IFN- γ , compared to those of healthy controls. However, information so far regarding the activation of blood myeloid dendritic cells (MDCs) by *P. falciparum* antigen through TLR2 signaling pathway is limited in human malaria infection. Therefore, the activation of TLR2 signaling pathway on human peripheral blood MDCs stimulated by *P. falciparum* antigen was investigated in this study. We found that blood stimulated with lysate of *P. falciparum*-infected erythrocytes (pRBCs) either from severe or mild malaria could induce MDCs maturation *in vitro* by increasing the expression of maturation marker (CD83) on their surfaces as a dose dependent manner, compared to those of unstimulated blood. After blocking the TLR2 expression on MDCs, their maturation was decreased only in blood stimulated with pRBCs lysate from severe malaria. A trend in decreasing of costimulatory molecules (CD80) on mature MDCs was found in stimulated blood with pRBCs lysate from both severe and mild malaria, compared to those of unstimulated blood. However, no significant expression of CD80 molecule on mature MDCs after TLR2 blocking was noted. There were no significant differences in MHC molecule expression on mature MDCs in stimulated blood with pRBCs lysate from both severe and mild form. These preliminary results will lead to better understanding the mechanism of immunoregulation in human *falciparum* malaria.

Keywords: Malaria, *P. falciparum*, Dendritic cells (DC), DC maturation, Toll-like receptor 2 (TLR2)

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ: MRG5280132

ชื่อโครงการ: บทบาทการแสดงออกของตัวรับชนิด Toll-like receptor 2 บนเซลล์เดนไดรติกของคนที่ถูกกระตุ้นโดยแอนติเจนของเชื้อมาลาเรียชนิดพลาซิม

ชื่อนักวิจัย: ดร. สมหญิง โลหะรังสิกุล ภาควิชาจุลชีววิทยาคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยมหิดล

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

ระยะเวลาโครงการ: 2 ปี

Immature dendritic cells (DCs) ของคน มีการแสดงออกของตัวรับรู้สิ่งแปลกปลอมหลายชนิดบนผิวเซลล์ เช่น Toll-like receptor (TLR) ซึ่งทำหน้าที่รับรู้โครงสร้างแปลกปลอมของเชื้อจุลชีพ การกระตุ้นสัญญาณของ TLR จะเหนี่ยวนำให้เกิดการปรับการควบคุมของยีนที่เกี่ยวข้องกับการสร้างไซโตไคน์ (cytokines), costimulatory molecule และ MHC molecule ซึ่งโมเลกุลเหล่านี้มีการแสดงออกที่มากขึ้นบนผิว mature DCs เพื่อช่วยกระตุ้นการตอบสนองของ T cells ต่อการติดเชื้อมาลาเรียชนิดพลาซิม ผู้วิจัยได้แสดงให้เห็นในการศึกษาก่อนหน้านี้ว่าพบการแสดงออกที่เพิ่มขึ้นของ TLR2 บนผิวของ monocytes และ myeloid DCs (MDCs) ในผู้ป่วยมาลาเรียชนิดไม่รุนแรงและรุนแรง ซึ่งมีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญกับระดับของไซโตไคน์ IL-12p70 และ IFN- γ ในซีรัมของผู้ป่วยมาลาเรียเทียบกับซีรัมควบคุมจากคนสุขภาพแข็งแรง อย่างไรก็ตาม ข้อมูลเกี่ยวกับการกระตุ้น MDCs ในเลือดด้วยแอนติเจนของเชื้อมาลาเรียชนิดพลาซิมไม่เพียงพอที่จะอธิบายการกระตุ้น TLR2 ของการติดเชื้อมาลาเรียในคนนั้นได้อย่างจำกัด ดังนั้น การศึกษาครั้งนี้ต้องการตรวจสอบการกระตุ้นสัญญาณของตัวรับรู้ TLR2 ที่แสดงออกบนผิวของ MDCs ในเลือดคนเมื่อถูกกระตุ้นด้วยแอนติเจนของเชื้อมาลาเรียชนิดพลาซิม โดยพบว่าเลือดที่ถูกกระตุ้นด้วย lysate ของ *P. falciparum*-infected erythrocytes (pRBCs lysate) ที่แยกได้จากเลือดของผู้ป่วยมาลาเรียชนิดรุนแรงและไม่รุนแรง สามารถเหนี่ยวนำให้เกิด maturation ของ MDCs ในหลอดทดลอง โดยสามารถตรวจตัวชี้วัดของการเกิด maturation (CD83) ที่เพิ่มขึ้นบนผิวเซลล์ชนิดนี้ได้แบบ dose dependent เทียบกับเลือดที่ไม่ถูกกระตุ้น เมื่อยับยั้งการแสดงออกของตัวรับรู้ TLR2 บนผิว MDCs พบว่าการเกิด maturation ของเซลล์จะลดลงเฉพาะในเลือดที่ถูกกระตุ้นด้วย pRBCs lysate ที่แยกได้จากเลือดของผู้ป่วยมาลาเรียชนิดรุนแรงเท่านั้น และพบแนวโน้มลดลงของการแสดงออก costimulatory molecules (CD80) บนผิว mature MDCs ในเลือดที่ถูกกระตุ้นด้วย pRBCs lysate ที่แยกได้จากเลือดของผู้ป่วยมาลาเรียชนิดรุนแรงและไม่รุนแรงเมื่อเทียบกับเลือดที่ไม่ถูกกระตุ้น อย่างไรก็ตาม ไม่พบการแสดงออกอย่างมีนัยสำคัญของ CD80 บนผิว mature MDCs หลังจากตัวรับรู้ TLR2 ถูกยับยั้ง และไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของการแสดงออกของ MHC molecules บนผิว mature MDCs ในเลือดที่ถูกกระตุ้นด้วย pRBCs lysate ที่แยกได้จากเลือดของผู้ป่วยมาลาเรียชนิดรุนแรงและไม่รุนแรง ผลการศึกษาเบื้องต้นนี้ ทำให้เข้าใจกลไกของ immunoregulation การติดเชื้อมาลาเรียในคนมากยิ่งขึ้น

คำหลัก: มาลาเรีย, พลาซิม, เซลล์เดนไดรติก, DC maturation, ตัวรับชนิด Toll-like receptor 2