

Abstract

Project Code : MRG5580152

**Project Title : Molecular Mechanism of CD137-mediated Apoptosis in Dengue Virus Infection
And Its Application**

Investigator : Dr.Janjuree Netsawang

E-mail Address : netsawangj@yahoo.com

Project Period : 2 years

Abstract:

Dengue virus-mediated hepatocellular apoptosis might be controlled by the interplay between Dengue virus capsid (DENV C) and human Daxx protein. Generally, Daxx performs its transcriptional regulation as a repressor protein, however, its apoptotic function still controversial. Little is known about its precise role in Dengue virus-mediated apoptosis. Nevertheless, molecular mechanism between DENV C and human Daxx interaction, which contributed to hepatocellular apoptosis, still remains questionable. Here, we clarified the anti-apoptotic property of human Daxx by using over-expression and knock-down models upon apoptotic-inducing agent, Dengue virus infection and drug-inducing apoptosis. During late stage of infection, apoptosis was regulated by the up-regulation of CD137 mRNA and proteins. To determine how DENV C regulates the expression of CD137 gene, we firstly discovered the competitive interaction between DENV C and human Daxx, which usually performs its anti-apoptotic function by interacting with NF κ B, thereby relieving NF κ B, not AP1, to CD137 promoter. Moreover, we also found that CD137 promoter region containing NF- κ B, not AP1, performed an important role in regulating the expression of CD137 gene. The scenario was initiated by the translocation of DENV C to nucleus, and interacts with C-terminal part of Daxx, which regularly bind to NF- κ B. These competitive interactions generated the releasing of NF- κ B to activate the expression of CD137 gene, finally leading to the induction of liver apoptosis. The effect of specific inhibitors was determined by using Tyrosine kinase and Phosphatase library upon DENV infection to screen downstream signaling molecules in DENV-mediated apoptosis. Lck confers one of the important candidates, which its inhibitor can reduce the apoptosis as well as in non-infected cells, and might be applied into therapeutic strategy, in order to decrease apoptotic induction and disease severity in DENV-infected patients.

Keywords : DENV C; APOPTOSIS; CD137 PROMOTER; DAXX; NF κ B

บทคัดย่อ

รหัสโครงการวิจัย : MRG5580152

ชื่อโครงการวิจัย : กลไกของ CD137 ที่เกี่ยวข้องในการตายแบบอะพอพโทซิสของการติดเชื้อไวรัสแดงก่ำ และการประยุกต์ใช้

หัวหน้าโครงการวิจัย : ดร.แจนจूरีย์ เนตรสว่าง

E-mail Address : netsawangj@yahoo.com

ระยะเวลาของโครงการวิจัย : 2 ปี

บทคัดย่อ :

การตายแบบอะพอพโทซิสของเซลล์ตับที่ติดเชื้อไวรัสแดงก่ำอาจจะถูกควบคุมด้วยปฏิสัมพันธ์โปรตีนแคพลิดของไวรัสแดงก่ำ และโปรตีน Daxx โดยทั่วไปแล้วโปรตีน Daxx จะทำหน้าที่ในการควบคุมกระบวนการ transcription โดยเป็นโปรตีนยับยั้ง แต่อย่างไรก็ตามหน้าที่ในด้านอะพอพโทซิสนั้นยังไม่มีข้อสรุปแน่ชัด และมีการศึกษาน้อยมากเกี่ยวกับบทบาทที่แน่ชัดของไวรัสแดงก่ำ และการเกิดอะพอพโทซิส นอกจากนี้กลไกที่เกิดขึ้นระหว่างปฏิสัมพันธ์โปรตีนแคพลิดของไวรัสแดงก่ำ และโปรตีน Daxx ซึ่งนำมาสู่การตายแบบอะพอพโทซิสของเซลล์ตับยังไม่ทราบแน่ชัด งานวิจัยนี้ค้นพบหน้าที่ของโปรตีน Daxx ในแง่ anti-apoptosis โดยใช้รูปแบบ over-expression และ knock-down โปรตีน Daxx เมื่อได้รับสิ่งกระตุ้นให้เกิดอะพอพโทซิสเช่น การติดเชื้อไวรัสแดงก่ำ และยาเหนี่ยวนำให้เกิดอะพอพโทซิส ในช่วงการติดเชื้อระยะสุดท้าย กระบวนการเกิดอะพอพโทซิสจะถูกควบคุมโดยการเพิ่มขึ้นของระดับ RNA และโปรตีนของ CD137 นอกจากนี้เพื่อที่จะศึกษาโปรตีนแคพลิดของไวรัสแดงก่ำควบคุมการแสดงออกของยีน CD137 คณะผู้วิจัยได้ค้นพบการแย่งจับโปรตีน Daxx ระหว่างปฏิสัมพันธ์ของโปรตีนแคพลิดของไวรัสแดงก่ำ และปฏิสัมพันธ์กับ NFκB เป็นครั้งแรก ซึ่งโดยปกติแล้วโปรตีน Daxx จะสามารถทำหน้าที่ด้าน anti-apoptosis โดยจับกับ NFκB จากการแย่งจับกันส่งผลให้มีการปลดปล่อย NFκB ไม่ใช่ AP-1 ไปสู่ CD137 promoter ที่สำคัญกว่านั้นคณะผู้วิจัยยังค้นพบว่า บริเวณการจับกับ NFκB ไม่ใช่ AP-1 บน CD137 promoter ทำหน้าที่สำคัญในการควบคุมการแสดงออกของยีน CD137 กล่าวโดยสรุปคือการเคลื่อนที่ของโปรตีนแคพลิดของไวรัสแดงก่ำเข้าสู่นิวเคลียส และมีปฏิสัมพันธ์กับด้าน C-terminal ของโปรตีน Daxx ซึ่งโดยปกติจับกับ NFκB และการแย่งจับกันในบริเวณดังกล่าว ส่งผลให้มีการปลดปล่อย NFκB เพื่อกระตุ้นการแสดงออกของยีน CD137 สุดท้ายนำมาซึ่งการเหนี่ยวนำให้เกิดอะพอพโทซิสของเซลล์ตับ นอกจากนี้คณะผู้วิจัยได้ทำการศึกษาผลของ inhibitor โดยใช้ Tyrosine kinase and Phosphatase library ในระหว่างติดเชื้อไวรัสแดงก่ำ เพื่อที่จะคัดกรองโมเลกุลปลายทางที่เกี่ยวข้องกับการเหนี่ยวนำให้เกิดอะพอพโทซิส Lck เป็นโมเลกุลที่น่าสนใจเป็นอย่างยิ่ง ซึ่ง inhibitor ต่อ Lck สามารถลดการเกิดอะพอพโทซิสได้ดีเทียบเท่ากับเซลล์ที่ไม่ติดเชื้อ และอาจจะประยุกต์ใช้ในการรักษาเพื่อที่จะลดการเหนี่ยวนำให้เกิดอะพอพโทซิส และความรุนแรงของโรคในผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสแดงก่ำ

คำสำคัญ : โปรตีนแคพลิดของไวรัสแดงก่ำ; อะพอพโทซิส; CD137 PROMOTER; โปรตีน DAXX; NFκB