

บทคัดย่อ

Enterovirus 71 เป็นไวรัสที่มักติดเชื้อในเซลล์ประสาท เป็นสาเหตุของโรคมือเท้าปาก (HFMD) ที่มีภาวะแทรกซ้อนของระบบประสาทส่วนกลาง เชื้อ EV71 เป็นเชื้อสาเหตุของการแพร่ระบาดของโรคมือเท้าปากในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก รวมทั้งประเทศไทยด้วย เป็นเพราะยังขาดสัตว์ทดลองขนาดเล็กที่เหมาะสมไว้ศึกษาโรคมือเท้า ส่งผลให้ความคืบหน้าในทางชีววิทยาของการติดเชื้อ EV71 จึงยังไม่ก้าวหน้ามากนัก เป็นผลให้มีความล่าช้าในการพัฒนารักษาและการฉีดวัคซีนที่มีประสิทธิภาพในปัจจุบัน ดังนั้นโครงการวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการแสดงออกของยีน (transcriptome) ที่เกิดขึ้นในเนื้อเยื่อสมองของหนูทดลองอันเป็นผลมาจากการตอบสนองต่อการติดเชื้อ EV71 เพื่อทำความเข้าใจกลไกการเกิดโรค การทดลองเบื้องต้นคือการสร้างเชื้อ EV71 สายพันธุ์ที่ก่อโรคในหนูทดลองโดยการติดเชื้อ EV71 เข้าไปในร่างกายของหนูทดลองเพื่อให้เชื้อไวรัสคนปรับตัวเข้ากับสมองของหนูแล้วเพิ่มจำนวน จากนั้นสกัดไวรัสออกมาจากสมองแล้วนำฉีดกลับไปให้หนูทดลองอีกตัวถัดไป ทำเช่นนี้ไปเรื่อยๆ (serially brain passage) จนกระทั่งได้สายพันธุ์ที่ก่อโรคในหนู แต่ก็พบว่าเชื้อยังคงไม่สามารถปรับตัวเข้ากับหนูได้ อย่างไรก็ตามผู้วิจัยปรับแผนการทดลองโดยเปลี่ยนมาใช้เซลล์ประสาทเพาะเลี้ยงของมนุษย์ซึ่งไวต่อการติดเชื้อ EV71 สำหรับการศึกษา transcriptome โดยวิธี RNA next-generation sequencing (RNA-Seq) พบว่าในบรรดาชนิดของเซลล์ที่เลือกใช้ เซลล์ SK-M-NC แสดงให้เห็นถึงรูปแบบปฏิสัมพันธ์ระหว่างไวรัสและเซลล์เจ้าบ้านที่เป็นเอกลักษณ์กล่าวคือสามารถยับยั้งการแบ่งจำนวนของเชื้อ EV71 ได้ และผล RNA-Seq แสดงให้เห็นว่ามีการแสดงออกของยีนในระดับที่แตกต่างกันระหว่างเซลล์ SK-N-MC ที่ติดเชื้อ EV71 กับเซลล์ที่ไม่ติดเชื้อ โดยพบว่าชุดของยีนที่มีระดับการแสดงออกที่สูงขึ้นมีจำนวน 4,533 ยีน และที่มีระดับการแสดงออกลดลงมีจำนวน 4,916 ยีน ในจำนวนนี้มี 2,028 ยีนที่เป็นยีนใหม่ยังไม่เคยถูกกำหนดชื่อและหน้าที่มาก่อน รายการชื่อของยีนเหล่านี้ได้นำไปวิเคราะห์เพื่อจัดหมวดหมู่และหาความสัมพันธ์ที่เกี่ยวข้องกันในกระบวนการต่างๆ ทางชีววิทยา ข้อมูลที่ได้จากการศึกษานี้อาจเปิดเผยชีววิทยาของการติดเชื้อ EV71 ในเซลล์ประสาทซึ่งต้องการการยืนยันด้วยผลการทดลองต่อไป ความรู้ที่ได้รับจากงานวิจัยชิ้นนี้ได้จุดประกายการศึกษาวิจัยกลไกในก่อพยาธิสภาพต่อเซลล์ประสาทระดับโมเลกุลของเชื้อ EV71 ต่อไปในอนาคต ซึ่งจะนำไปสู่การพัฒนาต่อยอดวิธีการรักษาและวัคซีนที่มีประสิทธิภาพรวมทั้งนำไปสู่การค้นพบตัวบ่งชี้ชีวภาพสำหรับการวินิจฉัยหรือการติดตามโรคดังกล่าวได้

คำสำคัญ: ไวรัสเอนเทอโร ๗๑ โรคมือเท้าปาก การแสดงออกยีนในร่างกาย ภาวะแทรกซ้อนทางระบบประสาท ทรานสคริปโตมิกส์

Abstract

Enterovirus 71 is a neurotropic virus that causing hand, foot, and mouth disease (HFMD) with occasional complications of central nervous system. The EV71 have been responsible for several HFMD outbreaks in Asia-Pacific region including Thailand. Because lacking of a suitable small animal model, the progress in infection biology of EV71 is still limited. This leads to dampening of the development of effective drugs and vaccines. Therefore, this research project has been aimed to study gene expression profile; transcriptome, in brain tissue of mouse model in response to EV71 infection to gain insight the pathogenesis mechanism. Preliminary, there were several attempts to generate mouse-adapted EV71 strain by serially mouse brain passage but they were found to fail. However; instead of the mouse model, it had been shifted to employ human neuronal cell lines which susceptible to EV71 infection for studying transcriptome using RNA next-generation sequencing (RNA-Seq). Among the selected cell lines, SK-M-NC showed a distinct virus-host interaction by suppressing EV71 replication. The RNA-Seq results demonstrated differentially expressed genes between EV71-infected SK-N-MC transcriptome and non-infected SK-N-MC transcriptome. There were up-expressed 4,533 genes/transcripts and down-expressed 4,916 genes/transcripts. Among these, 2,028 transcripts were novel. The gene lists were subjected to gene ontology analysis in order to categorize and correlate them into the involving biological pathways. The data obtained from this study potentially reveal the infection biology of EV71 in a neuronal cell which needs experimental validation. The gained knowledge shed light on the study of molecular mechanism of EV71 neuropathogenesis which leading to the development of effective treatments and vaccine as well as the discovery of a biomarker for diagnosis or monitoring.

Keywords: enterovirus: 71 (EV71), hand, foot, and mouth disease (HFMD), in vivo gene expression, neurological complications, transcriptomics