

รหัสโครงการ : RMU5180046

ชื่อโครงการ : ความเกี่ยวข้องของ NADPH oxidase ในการตายของเซลล์แมคโครฟาจที่ได้รับเชื้อ *Burkholderia pseudomallei*

ชื่อนักวิจัยและสถาบัน : ดร.อิษฏา มุ่งสันติสุข

ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

E-mail address : scilw@mahidol.ac.th

ระยะเวลาโครงการ : 15 พฤษภาคม 2551 ถึงวันที่ 14 พฤษภาคม 2554

บทคัดย่อ

เบอร์โคเดอเรีย สูดมาเลียย เป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมลบที่ทำให้เกิดโรคเมลิออยโดสิส โดยสามารถเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนได้ทั้งในเซลล์ประเภทกลืนกินและไม่กลืนกิน และมีความสามารถในการหลบหลีกจากระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายได้ งานวิจัยนี้ได้ศึกษาการทำงานและบทบาทของ NADPH oxidase (NOX2) ในเซลล์แมคโครฟาจของหนู (RAW 264.7) ต่อความอยู่รอดของเชื้อเบอร์โคเดอเรีย สูดมาเลียย สายพันธุ์ดั้งเดิม และเชื้อที่บกพร่องต่อการสร้าง LPS ของมัน โดยพบว่าเชื้อทั้งสองสามารถกระตุ้นให้เกิดการทำงานของ NADPH oxidase ได้ในช่วงแรกของการได้รับเชื้อ แต่การทำงานของ NADPH oxidase ไม่มีผลต่อปริมาณเชื้อแบคทีเรียภายในเซลล์ นอกจากนี้ ยังพบการสะสมของโปรตีน LC3-II ในเซลล์แมคโครฟาจที่ได้รับเชื้อภายใน 15 นาที ซึ่งเป็นตัวบ่งบอกถึงการเกิด autophagy ในระยะแรกๆของการได้รับเชื้อ จากการศึกษาในเซลล์แมคโครฟาจที่มีความบกพร่องของ p40^{phox} (subunit หนึ่งของ NOX2) ที่ได้รับเชื้อที่บกพร่องต่อการสร้าง LPS พบว่า NADPH oxidase มีความเกี่ยวข้องต่อกระบวนการ autophagy ในแมคโครฟาจ ซึ่งเป็นไปได้ที่เชื้อนี้จะมีสัญญาณที่แตกต่างจากเชื้อสายพันธุ์ปกติในการที่จะไปกระตุ้น autophagy จากผลที่ได้รับยังแสดงให้เห็นว่าแม้การทำงานของ NADPH oxidase และการเกิด autophagy ในเซลล์หลังการได้รับเชื้อนั้นเป็นกลไกที่จำเป็นและสำคัญ ก็อาจไม่เพียงพอต่อการทำลายเชื้อแบคทีเรียในเซลล์แมคโครฟาจ การตอบสนองของเซลล์ต่อเชื้อเบอร์โคเดอเรีย สูดมาเลียย อาจจะขึ้นอยู่กับชนิดของเซลล์ ดังนั้นการศึกษการทำงานของ NADPH oxidase ในเซลล์ชนิดอื่นๆจะทำให้ได้รับข้อมูลเพิ่มเติมเกี่ยวกับกลไกการตอบสนองของเซลล์ต่อเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ และการศึกษาโดยใช้แบคทีเรียที่มีความบกพร่องต่อปัจจัยที่ก่อให้เกิดโรคจะช่วยให้เข้าใจกลไกการก่อให้เกิดโรคของเชื้อชนิดนี้ได้ดียิ่งขึ้น

คำสำคัญ: เบอร์โคเดอเรีย สูดมาเลียย, แมคโครฟาจของหนู, autophagy, LPS, NADPH oxidase

Project Code : RMU5180046

Project Title : Involvement of NADPH oxidase in the cell death of macrophages infected with *Burkholderia pseudomallei*

Investigators : Dr. Idsada Mungsantisuk
Department of Biotechnology, Faculty of Science, Mahidol University

E-mail address : scilw@mahidol.ac.th

Project Period : 15 May 2008 – 14 May 2011

Abstract

Burkholderia pseudomallei is gram-negative bacterium causing melioidosis. This bacterium can survive and replicate in both phagocytic and non-phagocytic cells and has the ability to escape the host defense. This research focused on function and the role of NADPH oxidase (NOX2) in mouse macrophage (RAW264.7) on intracellular survival of *B. pseudomallei* and its LPS mutant. Both bacteria could induce the activity of NADPH oxidase in the early phase of infection. However, NOX2 activation did not alter the number of intracellular bacteria. Furthermore, the accumulation of LC3-II protein in macrophages was detected within 15 min after infection indicating the activation of autophagy in the early phase of infection. The study in p40^{phox} knockdown cells reveals the contribution of NADPH oxidase to regulating autophagy only in the macrophages infected with LPS mutant suggesting that LPS mutant uses different signals from the wild type to activate autophagy. Although the induction of NADPH oxidase and autophagy are necessary in host defense against bacteria, these may not be sufficient to kill the bacteria in macrophages. The responses of host cells against *B. pseudomallei* are cell-type dependent; therefore, study of NOX2 function in other cell types may help to gain more information of cellular mechanisms in response to this bacterium. Furthermore, use of bacterial mutants to study virulence factors may help to understand the pathogenesis of *B. pseudomallei*.

Keywords: autophagy, *Burkholderia pseudomallei*, mouse macrophage, LPS, NADPH oxidase