

บทคัดย่อ

rabies virus เป็นจุลชีพที่ก่อให้เกิดโรคกลัวน้ำ (hydrophobia) ซึ่งเป็นที่รู้จักกันมานานกว่าศวรรษ แต่ยังไม่ปรากฏวิธีการรักษา ผู้ป่วยเมื่อเริ่มแสดงอาการจะต้องเสียชีวิตทุกราย การป้องกันสามารถกระทำได้โดยการรับวัคซีนภายหลังจากถูกสัตว์ที่เป็นบ้ากัด ปัจจัยที่ทำให้การรักษาไม่ประสบผลสำเร็จนั้นประกอบไปด้วยหลายประการ ปัจจัยหลักประการหนึ่งคือ กลไกในการเกิดโรคยังไม่เป็นที่ทราบอย่างถ่องแท้ โครงการวิจัยนี้จึงได้ทำการศึกษากลไกการตายของเซลล์ประสาทภายหลังการติดเชื้อ rabies virus โดยทำการศึกษาในสัตว์ทดลองควบคู่ไปกับการศึกษาการตายของเซลล์ประสาท (neuroblastoma cell time) ในหลอดทดลอง

การติดเชื้อ rabies virus ใน mouse neuroblastoma cells ก่อให้เกิดการตายของเซลล์ดังกล่าวด้วยกลไก apoptosis ซึ่งพิสูจน์ได้จากลักษณะ chromatin condensation และ DNA laddering ของเซลล์ที่ติดเชื้อ และเมื่อตรวจ DNA repairing system ของเซลล์ที่ติดเชื้อพบว่า การ degrade ของสาย DNA นั้น เกิดควบคู่ไปกับการเสื่อมสลายของ poly ADP-ribose polymerase (PARP) ซึ่งเป็น marker ตัวหนึ่งของ DNA repairing system การเสื่อมสลายของ PARP นั้น พบว่าเกิดขึ้นเนื่องมาจาก upregulation และ activation ของเอนไซม์ในกลุ่ม cysteine protease (ICE, CPP-32) โดยที่ PARP นั้นจัดว่าเป็น substrate ตัวหนึ่งของเอนไซม์ในกลุ่มนี้ นอกจากนี้ยังพบว่า apoptosis ใน neuroblastoma cells ที่ติดเชื้อมันถูกควบคุมโดยอัตราส่วนระหว่าง bcl-2 (apoptotic negative regulatory gene) และ Bax (apoptotic positive regulatory gene) พบ expression ของ bax เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่ bcl-2 ไม่เปลี่ยนแปลง การที่มี Bax เพิ่มมากขึ้นจึงเป็นการกระตุ้น apoptosis ผลสรุปจากการศึกษาในหลอดทดลองคือ เมื่อ infect เซลล์ neuroblastoma ด้วย rabies virus จะมีการกระตุ้นการแสดงออกของ Bax ซึ่งเป็นสัญญาณให้เซลล์ตัดสินใจเข้าสู่ programmed cell death การตายที่เกิดขึ้นนั้นผ่านทางกระตุ้น ICE gene และ/หรือ protease ตัวอื่น ๆ ส่งผลให้เกิดการทำลายของ DNA repairing system ดังนั้นเมื่อเกิดการทำลาย DNA โดยการทำงานของ endonuclease จึงไม่มีการซ่อมแซมและเซลล์ตายในที่สุด

การตายของเซลล์ในหลอดทดลองข้างต้นได้นำมาศึกษาเปรียบเทียบกับตายของสัตว์ทดลองที่ได้รับเชื้อ rabies virus พบว่าเซลล์ประสาทของหนูที่ได้รับ fixed strain of rabies virus (CVS) และ street rabies virus (dog, bat strain) ตายโดยกลไก apoptosis เช่นเดียวกับเซลล์ในหลอดทดลอง การเกิด apoptosis ในหนูทดลองนี้ไม่เกี่ยวข้องกับบทบาทของ immunological mediators ทั้งนี้เพราะหนูที่ได้รับยากดภูมิคุ้มกัน (T & B cells ไม่ทำงาน) เซลล์ประสาทที่ติดเชื้อมีตายด้วยขบวนการเดียวกัน นอกจากนี้ยังพบว่า apoptosis ของเซลล์ประสาทนั้นเกิดขึ้นก่อนที่หนูจะแสดงอาการป่วย การตรวจสอบ gene ที่เข้ามาเกี่ยวข้องพบในลักษณะเดียวกับเซลล์ในหลอดทดลอง กล่าวคือ bcl-2 gene ไม่เปลี่ยนแปลง มีการ upregulate การแสดงออกของ ICE gene และนอกจากนี้ยังมีการแสดงออกของ Nedd-2 gene

ผลการศึกษาจากโครงการวิจัยนี้และจากรายงานของนักวิจัยอื่นๆ พอที่จะสรุปพยาธิสภาพของโรคพิษสุนัขบ้าได้อย่างกว้างๆ คือ เมื่อสัตว์ได้รับ rabies virus ไวรัสจากบาดแผลเดินทางเข้าสู่ระบบประสาทเจริญเติบโตใน neuron และการเจริญเติบโตของไวรัสนั้นก็ทำให้เกิดการกระตุ้นกระบวนการ apoptosis ภายในเซลล์ที่ติดเชื้อ และเชื่อว่าในขณะที่ neuron เข้าสู่ apoptosis โดยที่เซลล์ยังไม่ dissociate นั้น neuron ดังกล่าวจะต้องปล่อย factors ต่างๆ ออกมาอย่างผิดปกติ ผลของ factors ต่างๆ เหล่านี้บวกกับกระบวนการที่ยังไม่ทราบส่งผลให้เกิด leakage ของ blood brain barrier ติดตามด้วย influx ของ activated immune cells เข้าไปใน brain ซึ่งจะเป็นการขยายการตายของ brain cells ให้เกิดมากขึ้น อนึ่งการเกิด apoptosis ไม่สามารถอธิบาย clinical manifestation ของโรคได้ แต่คาดว่า factors ต่างๆ ที่ปล่อยมาจาก apoptotic neuron และบทบาทของ activated immune cells จะเป็นตัวกำหนด paralytic หรือ encephalitic type of rabies