

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ: RSA5880014

ชื่อโครงการ: การศึกษาการส่งสัญญาณอินเตอร์เฟียร์รอนในเซลล์มะเร็งตับที่ได้รับการติดเชื้อตับอักเสบชนิดบีด้วยวิธีโปรตีโอมิกส์

ชื่อนักวิจัย: อาจารย์ นายแพทย์ไทรรักษ์ พิสิษฐ์กุล, คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

E-mail Address: trairak@gmail.com

เมื่อไม่นานมานี้ ได้มีการนำอินเตอร์เฟียร์รอนแลมบ์ดามาศึกษาในการทดลองทางคลินิกในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบบีแบบเรื้อรัง เนื่องจากว่ายาชนิดนี้มีฤทธิ์ในการต้านไวรัสและมีผลข้างเคียงน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับอินเตอร์เฟียร์รอนแอลฟา ทั้งนี้เพราะตัวรับสัญญาณของอินเตอร์เฟียร์รอนแลมบ์ดานั้นพบเฉพาะในเซลล์เยื่อบุผิวเท่านั้น ในปัจจุบันวิธีสัญญาณต่างๆ ที่ถูกควบคุมด้วยอินเตอร์เฟียร์รอนแลมบ์ดา ยังมีการศึกษาไม่มากนัก โดยเฉพาะอย่างยิ่งการศึกษาด้วยวิธีทางโปรตีโอมิกส์ โดยในงานวิจัยนี้คณะผู้วิจัยพบว่าอินเตอร์เฟียร์รอนแลมบ์ดา 3 สามารถยับยั้งการเพิ่มจำนวนของไวรัสตับอักเสบบี โดยยาชนิดนี้ลดการแสดงออกของยีนของไวรัส และลดปริมาณสารพันธุกรรมของไวรัสภายในเซลล์ การศึกษาโปรตีโอมิกส์เชิงปริมาณได้ถูกนำมาใช้เพื่อหาไกลโคที่เกี่ยวกับการลดลงของไวรัสในเซลล์ HepG2.2.15 ที่ถูกกระตุ้นด้วยยาชนิดนี้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง อีกทั้งผู้วิจัยยังได้กระตุ้นเซลล์ชนิดนี้ด้วยอินเตอร์เฟียร์รอนแอลฟาทูเอและพีบีเอส (ตัวควบคุม) เพื่อเปรียบเทียบผลการกระตุ้นของตัวกระตุ้นทั้ง 3 ชนิด โดยใช้เทคนิคการติดฉลากด้วยไอโซโทปที่แตกต่างกันของไดเมทิล ด้วยเทคนิคและวิธีการวิจัยที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ทำให้ได้ข้อมูลในเชิงลึกที่สามารถสร้างแผนภาพที่ระบุโปรตีนที่มีฤทธิ์ในการต้านไวรัสกับขั้นตอนที่โปรตีนนั้นๆ มีผลต่อวงจรชีวิตของไวรัสตับอักเสบบี นอกจากนี้คณะผู้วิจัยยังพบว่าโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการนำเสนอแอนติเจนให้กับที่เซลล์มีการแสดงออกที่เพิ่มมากขึ้น ซึ่งให้เห็นว่าอินเตอร์เฟียร์รอนแลมบ์ดา 3 มีฤทธิ์ในการกระตุ้นภูมิคุ้มกัน นอกจากนี้อินเตอร์เฟียร์รอนแลมบ์ดา 3 ยังมีผลทำให้โปรตีน RIG-I มีการแสดงออกเพิ่มมากขึ้น ซึ่งเคยมีรายงานมาว่าการแสดงออกของโปรตีนชนิดนี้จะถูกยับยั้งโดยไวรัสตับอักเสบบี ในงานวิจัยนี้ยังแสดงให้เห็นว่ากระบวนการทางชีวภาพหลายๆ กระบวนการที่ตอบสนองต่อการถูกกระตุ้นด้วยอินเตอร์เฟียร์รอนแลมบ์ดา 3 และอาจจะเกี่ยวข้องกับการจำกัดการเพิ่มจำนวนของไวรัสตับอักเสบบี ในการศึกษาในอนาคตคณะผู้วิจัยอยากศึกษาต่อยодฤทธิ์ของอินเตอร์เฟียร์รอนแลมบ์ดา 3 ที่สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันได้ในมุมของภูมิคุ้มกันบำบัดโรคมะเร็ง โดยยาชนิดนี้สามารถใช้เป็นยาเสริมร่วมกับการให้ไนโอแอนติเจนวัคซีน เพื่อกระตุ้นที่เซลล์ที่มีความจำเพาะกับไนโอแอนติเจนนั้นๆ ทำให้เกิดการกำจัดมะเร็งต่อไป

คำหลัก: โปรตีโอมิกส์เชิงปริมาณ, การติดฉลากด้วยไดเมทิล, อินเตอร์เฟียร์รอนชนิดที่ 3, ไวรัสตับอักเสบบี

ABSTRACT

Project Code: RSA5880014

Project Title: Proteomic analysis of interferon signaling in HBV-transfected hepatoblastoma cell line

Investigator: Trairak Pisitkun, MD., Faculty of Medicine, Chulalongkorn University

E-mail Address: trairak@gmail.com

Project Period: 3 years (1 July 2015 – 30 June 2018)

IFN- λ is a relatively unexplored, yet promising anti-viral agent. IFN- λ has recently been tested in clinical trials of CHB, with the advantage that side effects may be limited compared with IFN- α , as IFN- λ receptors are found only in epithelial cells. To date, IFN- λ 's downstream signaling pathway remains largely unelucidated, particularly via proteomics methods. Here, we report that IFN- λ_3 inhibits HBV replication in HepG2.2.15 cells, reducing levels of both HBV transcripts and intracellular HBV DNA. Quantitative proteomic analysis of HBV-transfected cells was performed following 24-hour IFN- λ_3 treatment, with parallel IFN- α_2a and PBS treatments for comparison using a dimethyl labeling method. The depth of the study allowed us to map the induction of anti-viral proteins to multiple points of the viral life cycle, as well as facilitating the identification of anti-viral proteins not previously known to be elicited upon HBV infection. This study also shows up-regulation of many effectors involved in antigen processing/presentation indicating that this cytokine exerted immunomodulatory effects through a number of essential molecules for these processes. Interestingly, immunoproteasome caps were up-regulated while cap components of the constitutive proteasome were down-regulated upon both IFN treatments, suggesting coordinated modulation towards the antigen processing/presentation mode. Furthermore, we reveal that IFN- λ_3 restored levels of RIG-I and RIG-G, proteins known to be suppressed by HBV. Enrichment analysis demonstrated that several biological processes including RNA metabolism, translation, and ER-targeting were differentially regulated upon treatment with IFN- λ_3 vs. IFN- α_2a . Our proteomic data suggests that IFN- λ_3 regulates an array of cellular processes to control HBV replication. We would like to further explore the effects of IFN- λ_3 on the cancer immunotherapy aspect. IFN- λ_3 could be used in adjuction with the neoantigen-based cancer vaccine in order to activate neoantigen specific T cells for anti-tumor effects. In addition, since IFN- λ_3 has less side effects compared with type-I IFNs, this treatment could provide a promising strategy to maximize benefits of immunotherapy while reducing their potential harm.

Keywords: Quantitative proteomics, Dimethyl labeling, Type III IFN, Hepatitis B virus