โรคอัลไซเมอร์ เป็นโรคที่เกิดจากการเสื่อมของเซลล์ประสาท ชนิดที่พบได้มากที่สุดในบรรดาโรคสมองเสื่อม พยาธิสภาพที่สำคัญของโรคอัลไซเมอร์คือ มีการสะสมของอะไมลอยด์ เบต้า (amyoid beta; Aβ) เป็น plaques เกิดขึ้นในสมอง การศึกษาที่ผ่านมาพบว่าเมื่อมีการ ฉีด Aβ peptides ให้กับหนูที่เป็น model ของโรคอัลไซเมอร์จะเหนี่ยวนำให้หนูสร้างแอนติบอดีต่อ Aβ ขึ้น แต่เมื่อนำมาศึกษาในมนุษย์พบว่ามีผลข้างเคียงโดยมีการอักเสบเกิดขึ้น มีงานวิจัยหลายงานเกี่ยวกับอินเตอร์ลิวคิน-13 (interlukin-13; IL-13) พบว่าเป็นไซโตไคน์ที่ช่วยลดการอักเสบและเหนี่ยวนำให้มีการผลิตแอนติบอดีได้ดีในระบบภูมิคุ้มกัน ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงสนใจที่จะผลิตรีคอมบิแนนท์ Aβ IL-13 และ fusion protein โดยทำการสร้างรีคอมบิแนนท์ Aβ IL-13 และ fusion protein ใน pBAD vector และทำการ ผลิตโปรตีนใน *E. coli* จากนั้นทดสอบการแสดงออกของ proinflammatory cytokine และ cyclooxygenase ของรีคอมบิแนนท์โปรตีน ต่อเซลล์เพาะเลี้ยง human neuroblastoma cells (SK-N-SH) โดยเปรียบเทียบกับ commercial protein จากการทดลอง สามารถผลิตโปรตีน Aβ IL-13 และ fusion protein จากนั้นทำให้บริสุทธิ์และทดสอบคุณสมบัติทางภูมิคุ้มกันโดยเทคนิค Western Blot พบว่า fusion protein มีคุณสมบัติไม่แตกต่างจาก IL-13 แต่สูญเสียการกระตุ้นภูมิคุ้มกันของ Aβ จึงนำเฉพาะโปรตีน Aβ และ IL-13 มาดูการแสดงออกของจีนพบว่าการแสดงออกของ reccombinat protein ที่ผลิตได้และ commercial โปรตีนมีการแสดงออกของจีน proinflammatory cytokine และ cyclooxygenase ไม่แตกต่างกัน และจากการศึกษาผลของ recombinant IL-13 ต่อการป้องกันการตายของเซลล์ SK-N-SH ที่ถูกกระตุ้นด้วย beta-amyloid ด้วยวิธี MTT assay พบว่า IL-13 ที่ความเข้มข้น 100 ng /ml สามารถป้องกันการตายของเซลล์ได้อย่างชัดเจนและผลการศึกษาการแสดงออกของจีน proinflammatory cytokine และ cyclooxygenase จากเซลล์เพาะเลี้ยง SK-N-SH ที่ถูกกระตุ้นด้วย beta-amyloid 10 μM โดยการเติม IL-13 ที่ความเข้มข้นต่างๆ พบว่า IL-13 ที่ความเข้มข้น 100 ng /ml ของ inflammatory cytokine และ cox-2 จากการทดลองที่ได้พบว่า IL-13 100 ng /ml มีแนวโน้มที่จะนำมาใช้ศึกษาในการป้องกันการอักเสบของเซลล์ ในผู้ป่วยอัลไซเมอร์ต่อไป ดังนั้น Aβ และ IL-13 recombinant proteins ที่ผลิตได้สามารถนำไปใช้ในการศึกษาโรคอัลไซเมอร์ได้ต่อไป

ABSTRACT

241710

Alzheimer's disease (AD) is a progressive age related neurodegenerative disorder that is the most common form of dementia. The most renowned hallmark of AD is accumulation of extracellular senile plaques in the brain that are composed mostly of aggregated amyloid-beta (Aβ) peptides. The previous reported that active immunization with Aβ peptides decrease brain Aβ deposition and improve cognitive performance in transgenic mouse model of AD. However, some studies found that inflammatory was observed in human. There are many studies that report about interleukin-13 (IL-13) which is cytokine related to reduce inflammation. So, the purpose of this study is production of Aβ IL-13 and fusion recombinant protein. The Aβ and IL-13 gene were amplified and then ligated into pBAD expression vector. The selected clone was determined the optimal expression level and analyzed after induction by SDS-PAGE. Aβ , IL-13 and IL – 13 / Aβ fusion recombinant proteins were purified from the crude protein extracted and the immunological properties of recombinant proteins were analyzed by western blot analysis. Monoclonal anti- $A\beta_{42}$ protein did not react with the IL – 13 / Aβ fusion protein. The result showed that IL – 13 / Aβ fusion protein could not induce protective immunity against Aβ. Neurotoxicity of recombinant proteins were tested in neuroblastoma cells (SK-N-SH) by MTT assay. The neurotoxicity analysis was not significant difference between Aβ and IL-13 recombinant proteins compare to Aβ and IL-13 commercial proteins (Sigma). Pretreatment with IL-13 100 ng/ml before exposure to 10 μM Aβ can increase cell viability. Effect of recombinant IL-13 on proinflammatory cytokine and cyclooxygenase in 10 μM Aβ - induced SK-N-SH were determined by RT-PCR. These results suggest that, 100 ng/ml of IL-13 decrease –10 μM Aβ induced proinflammatory cytokine and cyclooxygenase. In this study, IL-13 100 ng/ml may possess the ability to protect against inflammation in AD patients. Thus, the Aβ and IL-13 recombinant proteins could lead to the more understanding of AD in the future.