ชื่อเรื่อง	: การแสดงออกของ Interleukin-1beta (IL-1β) ของ peripheral blood mononuclear cell (PBMC) ต่อการติดเชื้อ *Burkholderia* spp.
ผู้วิจัย	: นางสาวปุณฑรีก์ บุตรคำโชติ
ประธานที่ปรึกษา	: แพทย์หญิง ดร. สุธาทิพย์ พงษ์เจริญ
กรรมการที่ปรึกษา	: ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พรรณนิกา เนียมทรัพย์ ดร.ดลฤดี สงวนเสริมศรี
ประเภทสารนิพนธ์	: วิทยานิพนธ์ วท.ม.(จุลชีววิทยา) มหาวิทยาลัยนเรศวร, 2548

บทคัดย่อ

T167362

Burkholderia pseudomallei เป็นแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคเมลิออยโดสิส (melioidosis) ในปัจจุบันโรคนี้ยังเป็นปัญหาอยู่ในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ และทางตอนเหนือของประเทศออสเตรเลีย เป็นโรคร้ายแรงที่ทำให้ผู้ป่วยเสียชีวิตจากอาการ septicemia และ pneumonia สูงถึง 70 % ในปัจจุบันการเกิดโรคและการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายยังไม่เป็นที่เข้าใจกันดี ซัยโตไคน์ถือเป็น regulatory protein ที่สำคัญและเกี่ยวข้องกับการตอบสนองของร่างกายต่อการติดเชื้อ โดยเฉพาะ IL-1β ซึ่งเป็น proinflammatory cytokine ที่กระตุ้นการทำหน้าที่ของ macrophage และเป็น mediator ในกระบวนการเกิด endotoxic shock ด้วย การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อให้ทราบถึงการทำหน้าที่และการตอบสนองของเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งการทำหน้าที่กำจัดเชื้อ intracellular pathogen และการสร้าง IL-1β โดย mononuclear phagocyte หลังจากถูกกระตุ้นด้วย *B. pseudomallei* เปรียบเทียบกับ *B. thailandensis* ในช่วงเวลาต่าง ๆ แล้ววัดปริมาณ IL-1β mRNA โดยใช้เทคนิค Real-time Quantitative polymerase chain reaction (Real-time Quantitative PCR) และวัดปริมาณ IL-1β โปรตีนโดยใช้เทคนิค enzyme linked immunosorbent assay (ELISA)

ผลการศึกษาในครั้งนี้ เมื่อกระตุ้น PBMC และ macrophage ด้วย live *B. pseudomallei* (virulent strain) และ live *B. thailandensis* (non-virulent strain) ที่ MOI 10:1 พบว่าในช่วง 3-18 ชั่วโมง PBMC และ macrophage มีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อใกล้เคียงกัน แต่เมื่อเวลาเพิ่มขึ้นเป็น 24 ชั่วโมง PBMC มีประสิทธิภาพในการทำหน้าที่กำจัดเชื้อลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เมื่อวัดปริมาณ IL-1β mRNA พบว่าที่เวลา 3 ,18 และ 24 ชั่วโมง PBMC ที่ถูกกระตุ้นด้วย *B. pseudomallei* และ *B.thailandensis* มีปริมาณมากกว่า macrophage อย่างมี

นัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) แต่ที่เวลา 6 ชั่วโมง macrophage ที่ถูกกระตุ้นด้วยเชื้อ *B. pseudomallei* จะมีปริมาณมากกว่า PBMC อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) จากการวัดปริมาณ IL-1β โปรตีน พบว่า macrophage ที่ถูกกระตุ้นด้วยเชื้อทั้งสองสปีชีส์มีปริมาณ IL-1β โปรตีน ใกล้เคียงกัน ส่วน PBMC ที่ถูกกระตุ้นด้วยเชื้อทั้งสองสปีชีส์ ในช่วง 3-18 ชั่วโมง มีปริมาณไม่แตกต่างกัน แต่เมื่อเวลาเพิ่มขึ้นเป็น 24 ชั่วโมง เชื้อ *B. thailandensis* สามารถกระตุ้นให้ PBMC สร้างและหลั่ง IL-1β โปรตีน มากกว่า *B. pseudomallei* อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ผลจากการศึกษาในครั้งนี้ทำให้ทราบว่า macrophage มีบทบาทในการกำจัดเชื้อ *Burkholderia* spp. แต่การทำหน้าที่ของเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันต่อการกำจัดเชื้อ *Burkholderia* spp. นั้นต้องการการทำหน้าที่ร่วมกันระหว่างเซลล์ macrophage และ lymphocyte ชนิดต่าง ๆ รวมทั้งการสร้างและหลั่งซัยโตไคน์ IL-1β โดย mononuclear phagocyte ก็ต้องอาศัยการทำหน้าที่ร่วมกันระหว่างเซลล์ macrophage และ lymphocyte ด้วยเช่นกัน เชื้อ *B. pseudomallei* ที่มีความรุนแรงในการก่อโรคสูง สามารถกระตุ้นให้ร่างกายตอบสนองต่อเชื้อในระดับ mRNA ได้มากและเร็วกว่า *B. thailandensis* ที่มีความรุนแรงในการก่อโรคต่ำ และ IL-1β อาจมีบทบาทในกลไกการเกิดโรคจากการติดเชื้อ *B. pseudomallei*

Title	: EXPRESSION OF INTERLEUKIN-1BETA(IL-1β) BY PERIPHERAL BLOOD MONONUCLEAR CELL (PBMC) IN RESPONSE TO *BURKHOLDERIA* SPP. INFECTION
Author	: Miss Puntharee Butkhamchot
Major Adviser	: Dr. Sutatip Pongcharoen
Adviser	: Assoc. Prof. Dr. Pannika Niumsup
	Dr. Donruedee Sanguansermsri
Type of Degree	: Master of Science Degree in Microbiology (M.S. in Microbiology)
	Naresuan University, 2005

Abstract

TE167362

Melioidosis is a potentially fatal disease caused by *Burkholderia pseudomallei*. The main endemic foci of melioidosis are in Southeast Asia and Northern Australia, where it is a major cause of community - acquired septicemia and pneumonia and has a case fatality of up to 70 %. The immunopathogenesis of melioidosis remains poorly understood. Cytokines are important immunoregulatory factors that determine the pathway of disease pathogenesis and progression. A proinflammatory cytokine, IL-1β, is particularly important during the early non-specific phase of the host immune response . Additional to increasing antimicrobial activity in marophages, their proinflammatory cytokines are also important mediators in the processes of endotoxic shock . In this study, the production of IL-1β mRNA and protein by PBMC and macrophages stimulated with *Burkholderia pseudomallei* and *Burkholderia thailandensis* was assessed. IL-1β mRNA was measured by using Real time Quantitative Polymerase Chain Reaction (Real-time Quantitative PCR) and IL-1β protein was evaluated by means of enzyme linked immunosorbent assay (ELISA).

The results showed that *B. pseudomallei* (virulent strain) exhibited more intense macrophage activation activity compared with *B. thailandensis* (non-virulent strain). PBMC and macrophages were infected with *B. pseudomallei* and

B. thailandensis at MOI of 10:1. At the end of 24 h culture peroid, macrophage cultures demonstrated significantly ($p \leq 0.05$) more microbicidal activity towards *B. thailandensis* than PBMC cultures. IL-1β mRNA levels significant ($p \leq 0.05$) increased at 3 h, 18 h and 24 h in PBMC incubated with *B. pseudomallei* and *B.thailandensis* than in macrophage. At 6 h IL-1β mRNA levels showed a significant ($p \leq 0.05$) increase in macrophage than in PBMC. IL-1β protein levels also increased significantly ($p \leq 0.05$) at 3 h, 6 h, 18 h and 24 h in PBMC incubated with *B. pseudomallei* and *B.thailandensis* compared with those in macrophages and IL-1β protein levels increased significantly ($p \leq 0.05$) at 24 h in PBMC incubated with *B.thailandensis* compared with PBMC incubated with *B. pseudomallei*.

The present results suggested that macrophages are the effector cells in the killing of *B. pseudomallei* and *B.thailandensis*, although macrophage-lymphocyte interaction is important for clearing of infection. The production of IL-1β by macrophage may be partly dependent on the interaction of macrophage and other immune cells and this cytokine may play a role in the pathogenesis of *B. pseudomallei* infection.