

250337

รายงานทุนอุดหนุนการวิจัยฉบับสมบูรณ์

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ



250337

เรื่อง

การศึกษาสารในอาหารเลี้ยงเชื้อ *Burkholderia pseudomallei* ที่กระตุ้น
การสร้าง IL-6 ใน THP-1 cell line

โดย

รศ. ดร. รศนา วงศ์รัตนชีวิน

ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ทุนอุดหนุนการวิจัยประจำปีงบประมาณ 2547

มหาวิทยาลัยขอนแก่น



รายงานทุนอุดหนุนการวิจัยฉบับสมบูรณ์

เรื่อง



การศึกษาสารในอาหารเลี้ยงเชื้อ *Burkholderia pseudomallei* ที่กระตุ้น
การสร้าง IL-6 ใน THP-1 cell line

โดย

รศ. ดร. รศนา วงศ์รัตนชีวิน
ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ทุนอุดหนุนการวิจัยประจำปีงบประมาณ 2547
มหาวิทยาลัยขอนแก่น

Burkholderia pseudomallei is a gram-negative saprophytic bacteria which is a causative agent of melioidosis. The disease is endemic in Southeast Asia and northern Australia. In septicemic cases, 40% of the patients die within 48 hours even under a proper care. *B. thailandensis* ever identified as another biotype of *B. pseudomallei* that unable to cause disease in human but later on separated into another species. There are several kinds of secreted products produced by bacteria during infection that induces TNF- α follows by the stimulation of pro-inflammatory cytokines such as, IL-6 and IL-12, of which could lead to severity of the disease and septic shock. The live and heat-killed bacteria and 200 kDa lipopolysaccharide antigen secreted by *B. pseudomallei* were used to stimulate the THP-1, a human monocyte cell line and measured IL-6 and IL-12 cytokines by ELISA. There is no significant difference of cytokines response between *B. pseudomallei* or *B. thailandensis* for both live and heat-killed form. However, the 10% of culture supernatant from *B. pseudomallei* but not *B. thailandensis* containing 200 kDa LPS can stimulated IL-6 production within 12 hr of stimulation. Heat inactivation of the supernatant abolished the IL-6 induction. This indicated that the stimulant should be protein. The IL-12 responses to LPS were the same for either *B. pseudomallei* or *B. thailandensis*. IL-6 level was reported to correlate with the severity of *B. pseudomallei*, therefore further investigation of protein fraction by high-throughput method may help us uncover a component of *B. pseudomallei* that play role in pathogenesis mechanism.

Burkholderia pseudomallei เป็นเชื้อแบคทีเรียชนิด Gram-negative bacilli ที่ทำให้เกิดโรค เมลิออยโดสิส (Meliodosis) ซึ่งเป็น saprophyte ในดินและแหล่งน้ำนิ่งทั่วไป โดยพบระบาดมากใน เอเชียตะวันออกเฉียงใต้ และตอนเหนือของทวีปออสเตรเลีย การติดเชื้อในเลือดของผู้ป่วย มีอัตราการเสียชีวิตสูงถึง 40% ภายใน 48 ชั่วโมง ถึงแม้จะได้รับการดูแลอย่างถูกต้อง ในดินของแหล่งระบาด ยังพบ *B. thailandensis* ซึ่งเคยจัดเป็น biotype แต่ต่อมาได้แยกเป็นคนละสปีชีส์ แต่ไม่ก่อโรค ระหว่างการติดเชื้อ *B. pseudomallei* จะมีการหลั่งสารที่สามารถไปกระตุ้น TNF- α cytokine และไปกระตุ้น IL-6 และ IL-12 ที่เป็น pro-inflammatory cytokine ที่มีความสัมพันธ์กับความรุนแรงของโรค และการเกิดช็อค จากการนำ live และ heat-killed bacteria และ 200 kDa lipopolysaccharide (LPS) ที่ผลิตออกมาในอาหารเลี้ยงเชื้อโดย *B. pseudomallei* หรือ *B. thailandensis* มากระตุ้น THP-1 human monocyte cell line และวัด IL-6 and IL-12 pro-inflammatory cytokines โดย ELISA พบว่า live และ heat-killed bacteria ให้ผลไม่แตกต่าง แต่เมื่อใช้ 10% ของ อาหารเลี้ยงเชื้อ ที่มี 200 kDa LPS พบว่าสามารถกระตุ้นการสร้าง IL-6 ได้แตกต่างกันโดยเริ่มขึ้นสูงใน 12 ชั่วโมง และเมื่อนำอาหารเลี้ยงเชื้อมาให้ความร้อนโดยการต้มเดือด จะไม่เกิดการกระตุ้นการสร้าง IL-6 แสดงว่า component น่าจะเป็นโปรตีนไม่ใช่ LPS ส่วนผลการตอบสนองของ IL-12 ที่เกิดจากผลของ LPS ให้ผลเหมือนกันทั้ง *B. pseudomallei* และ *B. thailandensis* เนื่องจาก IL-6 สัมพันธ์กับความรุนแรงของโรค ดังนั้นการศึกษาโปรตีนที่ผลิตโดย *B. pseudomallei* ด้วยเทคนิค High-throughput technology น่าจะทำให้พบโปรตีนที่มีบทบาทในการก่อโรคของแบคทีเรียได้

สารบัญเรื่อง

(Table of Contents)

หัวข้อเรื่อง	หน้า
1. บทนำ	5
2. วัตถุประสงค์และขอบเขตงานวิจัย	8
3. ระเบียบวิธีวิจัย	9
4. ผลการวิจัย	10
5. สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	18
6. เอกสารอ้างอิง	19