

INTERACTION BETWEEN MONOCYTE AND PORPHYROMONAS

GINGIVALIS SURVIVAL AND CELL RESPONSES

PONGSAWAT SUWATANAPONGCHED 4236033 DTOB/D
Ph.D.(ORAL BIOLOGY)

THESIS ADVISORS: RUDEE SURARIT, Ph.D., STEVEN OFFENBACHER,
D.D.S., Ph.D., RATCHAPIN SRISATJARUK, Ph.D.

ABSTRACT

P. gingivalis is considered to be an important periodontal pathogen in adult chronic periodontitis. In addition, these bacteria may be positively related to atherosclerotic lesion since DNA of *P. gingivalis* is present in atherosclerotic lesions. The aims of this study were to examine; 1) the localization and survival efficiency of *P. gingivalis* in human monocyte, 2) the cytokines production and 3) the infected human monocyte migration. Human monocyte cells were cocultured with *P. gingivalis*, after which the external bacteria were killed with the combination of metronidazole and gentamycin. After antibiotics exposure, the monocytes were resuspended in RPMI1640 and further incubated at various times. The infected monocytes were harvested and examined. A transmission electron microscope (TEM) was used to evaluate the localization of *P. gingivalis* in cells. The survival efficiency of *P. gingivalis* was determined by plating cells on blood agar and culturing under anaerobic conditions. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR) using specific antibodies and primers for IL-1 β and TNF- α were performed. The effect of *P. gingivalis* on migration of infected monocyte cells was studied by using transwell. TEM study showed that *P. gingivalis* were located within the autophagosome- like structure after coculturing of monocyte cells with *P. gingivalis* and treatment with a combination of antibiotics. No significant difference was found in the survival efficiency at 0, 4 and 8 h after infection. Using ELISA and RT-PCR techniques, it was found that IL-1 β and TNF- α were present in the media after stimulation with *P. gingivalis*. The combination of antibiotics did not affect the IL-1 β and TNF- α expression. Infected monocyte cells treated with monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1) were able to migrate through the membrane. The migrated monocyte cells through membrane in the presence and absence of *P. gingivalis* were $18.64 \pm 2.33 \times 10^4$ cells and $19.11 \pm 2.33 \times 10^4$ cells, respectively. No significant difference was found between these two groups. It may be concluded that; 1) *P. gingivalis* can survive in monocyte cells within the autophagosome, 2) *P. gingivalis* can stimulate IL-1 β and TNF- α production from monocytes and 3) Internal *P. gingivalis* of infected monocytes did not affect monocyte migration.

KEY WORDS: MONOCYTE/ PORPHYROMONAS GINGIVALIS
TEM/ SURVIVAL EFFICIENCY/ IL-1 β / TNF- α / ELISA/ RT-PCR
MONOCYTE MIGRATION/ MCP-1

ปฏิกิริยาระหว่างเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดโมโนไซต์และแบคทีเรียชนิดพอร์ไฟโรโมแนสจินจิวัลลิสในเรื่องการมีชีวิตอยู่ภายในเซลล์ของแบคทีเรียและการตอบสนองของเซลล์โมโนไซต์
(INTERACTION BETWEEN MONOCYTE AND PORPHYROMONAS GINGIVALIS SURVIVAL AND CELL RESPONSES)

พงศ์สวัสดิ์ สุวัฒน์พงษ์ชญ 4236033 DTOB/D

ปร.ด. (ชีววิทยาช่องปาก)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์: ฤดี สุราฤทธิ, Ph.D., STEVEN OFFENBACHER, D.D.S., Ph.D., รัชชพิน ศรีสังจะลักษณะ, Ph.D.

บทคัดย่อ

เชื้อพอร์ไฟโรโมแนสจินจิวัลลิสเป็นแบคทีเรียที่เชื่อว่าเป็นสาเหตุหลักของการเกิดโรคปริทันต์อักเสบในผู้ใหญ่ และเชื่อดังกล่าวยังอาจมีส่วนเกี่ยวข้องกับการเกิดโรคการหนาดตัวของผนังหลอดเลือด วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้คือ ศึกษาตำแหน่งและอัตราในการรอดชีวิตของเชื้อชนิดนี้ในเซลล์โมโนไซต์ การสร้างสารไซโตไคน์และการเคลื่อนที่ของเซลล์โมโนไซต์หลังการติดเชื้อ วัสดุและวิธีการ นำเซลล์โมโนไซต์มาเพาะเลี้ยงกับเชื้อข้างต้น แล้วกำจัดเชื้อที่อยู่นอกเซลล์ด้วยยาปฏิชีวนะ ต่อมานำเซลล์โมโนไซต์ไปเพาะเลี้ยงต่อตามระยะเวลาที่กำหนด แล้วศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิดส่องทะลุเพื่อศึกษาตำแหน่งของเชื้อ ศึกษาอัตราการรอดชีวิตของเชื้อโดยทำให้เซลล์โมโนไซต์แตกตามด้วยการเพาะเลี้ยงในสภาวะที่ไร้ออกซิเจน ศึกษาการสร้างสารไซโตไคน์ด้วยวิธีอิลูซาและอาร์ทีพีซีอาร์ และศึกษาการเคลื่อนที่ของเซลล์โมโนไซต์หลังการติดเชื้อ ผลการศึกษา จากการศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิดส่องทะลุพบว่าเชื่อดังกล่าวอาศัยอยู่ในบริเวณที่คล้ายออกโต้ฟาโกโซมของเซลล์โมโนไซต์และพบว่าอัตราการรอดชีวิตของเชื้อหลังนำเซลล์โมโนไซต์ไปเพาะเลี้ยงต่อเป็นเวลา 0, 4 และ 8 ชั่วโมงไม่มีความแตกต่างกัน จากการศึกษาโดยวิธีอิลูซาและอาร์ทีพีซีอาร์พบว่าเซลล์โมโนไซต์มีการสร้างสารอินเตอร์ลูคิน-1เบต้าและทีเอ็นเอฟ-อัลฟาภายหลังจากการกระตุ้นด้วยเชื้อแบคทีเรียโดยยาปฏิชีวนะที่ใช้ไม่มีผลต่อการสร้างไซโตไคน์ทั้งสองชนิดนี้ และพบว่าไม่มีความแตกต่างกันของการเคลื่อนที่ของเซลล์ที่มีการติดเชื้อและไม่มีการติดเชื้อ สรุป แบคทีเรียชนิดพอร์ไฟโรโมแนสจินจิวัลลิสสามารถมีชีวิตภายในเซลล์โมโนไซต์โดยอาศัยอยู่ในบริเวณที่คล้ายออกโต้ฟาโกโซม เชื้อแบคทีเรียชนิดนี้สามารถกระตุ้นเซลล์โมโนไซต์ให้มีการสร้างสารอินเตอร์ลูคิน-1เบต้าและทีเอ็นเอฟ-อัลฟา และการติดเชื้อชนิดนี้ของเซลล์โมโนไซต์ไม่มีผลกระทบต่อเคลื่อนที่ของเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดนี้

85 หน้า.