

จิตสุนันต์ วัฒนประเสริฐ : การติดเชื้อและการตายของเซลล์ไมโครเกลียจากเชื้อไวรัสไข้สมอง
 อักเสบเจอี (INFECTIVITY AND CELL DEATH OF MICROGLIA IN RESPONSE TO
 JAPANESE ENCEPHALITIS VIRUS) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก : ผศ.ดร.ธัญญา ทองตัน,
 อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม : ผศ.ดร.ศุภางค์ มณีศรี เลขกรองต์, 84หน้า.

ไวรัสไข้สมองอักเสบเจอีจัดอยู่ในกลุ่มแฟมิลีฟลาวีไวรัสเดอซึ่งพบได้บ่อยในแถบเอเชียและแปซิฟิก
 ถึงแม้ว่าเซลล์ที่เป็นเป้าหมายหลักในการติดเชื้อไวรัสคือเซลล์ประสาทในระบบประสาทส่วนกลาง เซลล์
 ไมโครเกลียก็สามารถถูกกระตุ้นและมีการหลั่งสารต่างๆเมื่อได้รับการติดเชื้อไวรัสเช่นกัน ปัจจุบันนี้มี
 รายงานเกี่ยวกับบทบาทของออโตฟาจีซึ่งเป็นกระบวนการที่เซลล์ใช้ย่อยสลายออร์แกเนลล์และโปรตีนที่
 เสื่อมสภาพที่สำคัญในสภาวะติดเชื้อไวรัส ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงต้องการศึกษาความเกี่ยวข้องของออโตฟาจี
 ของเซลล์เพาะเลี้ยงไมโครเกลีย (CHME-5)จากมนุษย์ในสภาวะติดเชื้อไวรัสไข้สมองอักเสบเจอี เมื่อเซลล์
 ได้รับความเสียหายจากเชื้อไวรัสไข้สมองอักเสบเจอีปริมาณ 10 เท่าพบว่าจำนวนเซลล์ทั้งหมดน้อยกว่าที่พบในเซลล์
 ควบคุมซึ่งไม่ได้รับการติดเชื้อเล็กน้อย อย่างไรก็ตามเมื่อเซลล์ได้รับความเสียหายจากเชื้อไวรัสไข้สมองอักเสบเจอีปริมาณ
 100 เท่า พบว่าจำนวนเซลล์ทั้งหมดลดลงอย่างมีนัยสำคัญโดยสามารถสังเกตได้หลังการติดเชื้อในวันที่ 2
 เป็นที่น่าสนใจว่าเปอร์เซ็นต์เซลล์ตายซึ่งตรวจสอบโดยวิธี trypan blue dye exclusion assay มีค่า
 ใกล้เคียงกันไม่ว่าเซลล์จะได้รับเชื้อไวรัสไข้สมองอักเสบเจอีปริมาณ 10 เท่าหรือ 100 เท่า (ปริมาณเซลล์
 ตายน้อยกว่า 10%) จากผลการทดลองนี้บ่งชี้ถึงอัตราการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของเซลล์ที่ช้าลงเมื่อเซลล์
 เพาะเลี้ยงไมโครเกลียได้รับไวรัสในปริมาณที่สูงขึ้น ผลการศึกษาความสามารถในการติดเชื้อไวรัสไข้
 สมองอักเสบเจอีด้วยเทคนิค immunocytochemistry พบอนุภาคไวรัสในไซโทพลาซึมของเซลล์ไมโครเกลีย
 โดยมีเซลล์ที่ติดเชื้อไวรัสเท่ากับ 78% ในวันที่ 2 ของการได้รับเชื้อไวรัสไข้สมองอักเสบเจอี จากผล
 การศึกษากระบวนการออโตฟาจีด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่านพบถุงออโตฟาโกโซมที่มี
 อนุภาคของไวรัสบรรจุข้างใน นอกจากนี้เมื่อทำการตรวจสอบการแสดงออกของโปรตีน LC3-II ด้วย
 เทคนิค Western blotting และ indirect immunofluorescence ยังพบการแสดงออกของโปรตีนที่เพิ่ม
 สูงขึ้นเมื่อเซลล์ติดเชื้อไวรัส สำหรับการตรวจสอบจำนวนไวรัสที่ผลิตขึ้นในสภาวะที่เซลล์ได้รับสารยับยั้ง
 ออโตฟาจี 3-methyladenine พบว่าจำนวนไวรัสผลผลิตลดลงซึ่งสามารถเสนอแนะได้ว่าออโตฟาจีมีความ
 เกี่ยวข้องกับการเพิ่มจำนวนของไวรัส จากการศึกษาทั้งหมดบ่งชี้ว่าเซลล์ไมโครเกลียของมนุษย์
 สามารถติดเชื้อไวรัสไข้สมองอักเสบเจอีและการติดเชื้อไวรัสไข้สมองอักเสบเจอีสามารถเหนี่ยวนำให้เกิด
 กระบวนการออโตฟาจี

ภาควิชา.....ชีวเคมี.....ลายมือชื่อนิสิต จิตสุนันต์ วัฒนประเสริฐ
 สาขาวิชา.....ชีวเคมีทางการแพทย์.....ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
 ปีการศึกษา.....2555.....ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

5374680630: MAJOR MEDICAL BIOCHEMISTRY

KEYWORDS: JAPANESE ENCEPHALITIS / MICROGLIA / AUTOPHAGY / ULTRASTRUCTURE

JITSUMON WATTANAPRASERT : INFECTIVITY AND CELL DEATH OF MICROGLIA IN RESPONSE TO JAPANESE ENCEPHALITIS VIRUS. ADVISOR: ASST. PROF. THANANYA THONGTAN, Ph.D., CO-ADVISOR : ASST. PROF. SUPANG MANEESRI LE GRAND, Ph.D., 84 pp.

Japanese encephalitis virus (JEV), an arbovirus that belongs to the family *Flaviviridae*, is endemic to large parts of Asia and Pacific. Even though neurons have been proposed to be the principle JEV target cells in the central nervous system, microglia are activated and secreted many mediators in response to JEV infection. Recently, autophagy, a cellular process involved in the degradation of organelles and aggregated long-lived proteins, has been reported to play a significant role in viral infection. This study aimed to determine the involvement of autophagy in response to JEV infection in human microglial (CHME-5) cells. Upon JEV infection at a multiplicity of infection of 10, a small deficit in total cell number, compared to that of mock-infected CHME-5 cells was observed. However, with the multiplicity of infection of 100, a significant reduction in total cell number was observed since day 2 post infection. Interestingly, the percentage of cell death, determined by trypan blue dye exclusion assay, was relatively the same (less than 10%) in both levels of multiplicity of infection, indicating a slower proliferation rate in JEV-infected microglial culture with a higher multiplicity of infection. By immunocytochemistry, JEV virions were clearly detected in cytoplasm of microglial cells, with an estimated of 78% infectivity at day 2 post infection. Electron micrographs demonstrated autophagosomes with JEV virions. Besides, an increase in the expression of LC3-II in response to JEV infection was detected by indirect immunofluorescence and western blotting. In addition, inhibition of autophagy, using 3-methyladenine, led to a reduction of the JEV production suggesting autophagy mediated viral replication. Collectively, these results indicate that human microglia are susceptible to JEV and autophagy is induced during JEV infection.

Department : BIOCHEMISTRY Student's Signature จิตสมนต์ วัฒนประเสริฐ
 Field of Study : MEDICAL BIOCHEMISTRY Advisor's Signature [Signature]
 Academic Year : 2012 Co-advisor's Signature [Signature]