

บทคัดย่อ

กลไกและพยาธิกำเนิดของการติดเชื้อไวรัสอาร์เอสจากแม่สู่ลูกยังไม่มีคำอธิบายที่แน่ชัดเนื่องจากยังขาดข้อมูลถึงความสามารถของการติดเชื้อที่ระบบสืบพันธุ์ เพื่อการศึกษาดังกล่าวด้วยการใช้เซลล์เยื่อบุมดลูกสุกรแบบเพาะเลี้ยงเบื้องต้นและทำการตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเซลล์ (ซีพีโอ) การตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันที่มีมาแต่กำเนิด โดยเฉพาะการต้านทาน และการหลั่งไซโตไคน์ชนิดอักเสบเมื่อได้รับเชื้อไวรัสอาร์เอสจากสายพันธุ์ยูเอส หรืออยู่ทางด้านท่อหรือด้านฐานเปรียบเทียบกับ การเปลี่ยนแปลงการปรากฏของโปรตีน และยีนของตัวรับชนิด CD151 CD163 และSn ต่อเชื้อไวรัสอาร์เอสซึ่งเป็นตัวการสำคัญที่ทำให้เซลล์สามารถติดเชื้อและมีความเสียหายเกิดขึ้น ได้รับการตรวจสอบด้วยวิธี RT-PCR และอิมมูโนฮิสโตรเคมีตามลำดับ ผลการศึกษาพบว่าเซลล์เยื่อบุมดลูกสุกรปกติมีการปรากฏของตัวรับทั้งสองชนิดทั้งในระดับต่ำมาก การได้รับเชื้อไวรัสอาร์เอสทั้งสองสายพันธุ์เพิ่มการแสดงออกของตัวรับทั้งสองในระดับยีน และโปรตีน โดยที่สายพันธุ์ยูเอสจะเหนี่ยวนำให้แสดงออกได้มากกว่า ($P < 0.05$) เซลล์ที่ได้รับเชื้อมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างเป็นแบบพองอู่น และรวมตัวกันเป็นเซลล์ขนาดใหญ่หลังจากได้รับเชื้อ 2 วัน และพบความเสียหายของเซลล์หลังได้รับเชื้อ 6 วัน โดยที่เชื้อที่นำไปทางด้านท่อทั้งสองสายพันธุ์สามารถติดต่อเข้าสู่เซลล์ของมดลูกได้หลังจากได้รับเชื้อ 2 วันโดยการตรวจสอบด้วยอิมมูโนฮิสโตรเคมี โดยที่สายพันธุ์ยูเอสเท่านั้นที่สามารถติดต่อจากทางด้านฐานและอยู่ในเซลล์ได้ถึง 6 วัน เชื้อไวรัสอาร์เอสทั้งสองสายพันธุ์จะกระตุ้นให้หลั่งไซโตไคน์ ชนิด IL-6, IL-8 or IFN- γ จากเซลล์เยื่อบุมดลูก โดยที่สายพันธุ์ยูเอสจะเหนี่ยวนำให้เซลล์จับหลังได้มากกว่า ($P < 0.05$) อย่างไรก็ตามถ้าเซลล์ได้รับการติดเชื้อทั้งสองสายพันธุ์ทางด้านฐานพบว่าทำให้เกิดการยับยั้งการหลั่ง IL-8 ออกมาทางด้านฐานของเซลล์ ในด้านการศึกษาความต้านทานของเยื่อโดยการวัดความต้านทานทางไฟฟ้าของเซลล์เยื่อ (TER) พบว่าค่า TER ลดลงเมื่อเซลล์ได้รับเชื้อไวรัสสายพันธุ์ยูเอสไปเพียง 2 วัน แต่จะกลับมีค่าเท่ากับก่อนได้รับการติดเชื้อหลังจากได้รับเชื้อไปแล้ว 6 วัน เป็นที่น่าสนใจว่าเซลล์ที่ได้รับการติดเชื้อไวรัสสายพันธุ์ยูเอสตั้งแต่ 4 วันมีค่า TER ที่สูงมากกว่าเซลล์ปกติ หรือเซลล์ที่ได้รับเชื้อสายพันธุ์ยูเอส ($P < 0.05$) การศึกษาครั้งนี้บ่งชี้ให้เห็นว่าเซลล์เยื่อบุมดลูกที่มีการแสดงออกของตัวรับเชื้อไวรัสอาร์เอสในปริมาณน้อยสามารถมีการติดเชื้อได้ และการติดเชื้อเชื้อไวรัสสายพันธุ์ยูเอสสามารถกระตุ้นให้มีการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันได้ดีกว่าไวรัสสายพันธุ์ยูเอส โดยที่ความสามารถในการเปลี่ยนแปลงการแสดงออกของตัวรับเชื้อไวรัสอาร์เอสที่เกิดขึ้นภายหลังจากการได้รับการติดเชื้อนั้นอาจเป็นเป้าหมายที่สำคัญต่อการรักษา หรือการที่จะนำเซลล์ของเยื่อบุมดลูกมาเป็นเซลล์ที่ใช้เพาะเลี้ยงไวรัสอาร์เอสเพื่อการผลิตวัคซีนต่อไป

ABSTRACT

Pathogenesis of Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome (PRRS) horizontal transmission have not been explained. One reason is lack of information about the PRRS virus (PRRSV) susceptibility in the reproductive system. Using the primary porcine glandular endometrial (PE) cells, the cytopathic effects (CPE) after infected with PRRSV was investigated for the susceptibility of PE. Innate immunity response (i.e. epithelial resistance and pro-inflammatory cytokine secretion) to PRRSV infections with different strain US/EU and route basolateral/apical were compared. PRRSV and its specific receptor mRNA and protein CD151, CD163 and/or Sn expression were presently examined by immunohistochemistry (IHC) and qRT-PCR, respectively. The data demonstrated that normal PE cells showed low level of CD163 and Sn mRNA and protein expression. Infection with EU and US strains up-regulated CD163/151 and Sn mRNA and protein expressions in PE cells ($P<0.05$). US strain infection induced expressed PRRSV protein on PE cells higher than the EU strain ($P<0.05$). The syncytial-like or grape-like particles CPE were obviously seen since the 2 dpi followed by the cell lost at the 4-6 dpi in PE cells infected with EU or US strains. PRRSV replicated in PE detected by IHC were revealed in PE infected with EU or US strains at apical but not basolateral side starting at 2 dpi. However, US strains PRRSV at basolateral can infect and replicate in PE cells until 6 dpi. All PRRSV modified the secretion of IL-6, IL-8 or IFN- γ with the difference degree. US strain has higher stimulating effects on cytokine secretion than EU strain in PE cells ($P<0.05$). However, the basolateral infected with EU or US eliminated IL-8 secreted to the basolateral side of PE. Epithelial barrier determined by TER was decreased early only at 2 dpi in EU strain infection. However, the decreased TER affected by PRRSV infection returned to normal with 6 days. In addition, TER of PE cells infected by EU strain had significantly higher than normal or US-infected cells. In summary, PE cell, which express low level of specific receptors are able to be infected with PRRSV. However, infection with US strain the virulent strain revealed higher innate immunity response than EU strain in PE cells. Modification of PRRSV mediator expression in PE cells responded to PRRSV may become the targets for anti-viral agents and useful for viral isolation during vaccine developing processes.