

ผลของไวรัส พี อาร์ อาร์ เอส ต่อการสร้างไซโตไคน์ ในเม็ดเลือดขาวที่แยกได้จากสุกรที่ได้รับเชื้อ

โรค Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome (PRRS) เป็นโรคระบาดที่ก่อความสูญเสียเป็นอันดับต้นๆ แก่อุตสาหกรรมเลี้ยงสุกรทั่วโลก สาเหตุของโรค PRRS เกิดจากเชื้อไวรัส Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus (PRRSV) อาการสำคัญของโรค PRRS ได้แก่ กลุ่มอาการที่เกี่ยวข้องกับระบบสืบพันธุ์ที่ก่อให้เกิดสภาวะการสืบพันธุ์ล้มเหลวในแม่สุกร และโรคทางระบบทางเดินหายใจในสุกรทุกกลุ่มอายุ เป็นที่น่าสังเกตว่าการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันภายหลังการติดเชื้อ PRRSV มักเกิดขึ้นค่อนข้างช้าและไม่มีประสิทธิภาพ นอกจากนี้ปัญหาสำคัญที่ตามมาภายหลังจากการติดเชื้อ PRRSV ได้แก่ การกดภูมิคุ้มกันของระบบทางเดินหายใจ ซึ่งนำไปสู่การติดเชื้อแทรกซ้อนในระบบทางเดินหายใจและก่อให้เกิดกลุ่มอาการที่เรียกว่า Porcine Respiratory Disease Complex (PRDC) จากข้อมูลงานวิจัยที่ผ่านมาชี้ให้เห็นว่า PRRSV จะทำให้เกิดการเพิ่มการสร้าง อินเตอร์ลิวคิน 10 (IL-10) ในสุกรที่ได้รับเชื้อ และชี้ให้เห็นว่า IL-10 อาจมีบทบาททั้งในแง่การกวดการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์หลักของโครงการในช่วงแรก เพื่อศึกษาผลของการติดเชื้อ PRRSV ที่เกี่ยวข้องกับการสร้าง IL-10 ในสุกรที่ได้รับเชื้อ โดยทำการศึกษารูปแบบของการสร้าง IL-10 ภายหลังจากที่สุกรได้รับเชื้อ และเซลล์ที่สร้างไซโตไคน์ดังกล่าว โดยพัฒนาวิธีการตรวจวิเคราะห์การสร้าง IL-10 จาก peripheral blood mononuclear cells (PBMC) ของสุกร ด้วยวิธี flow cytometry ได้เป็นผลสำเร็จ นอกจากนี้ยังได้ทำการพัฒนาวิธีวิเคราะห์การแสดงออกของ IL-2R-alpha (CD25) บนผิวเซลล์ และการสร้าง อินเตอร์เฟอรอน-แกมมา (IFN- γ) จนสามารถนำเทคนิคเหล่านี้มาใช้ศึกษารูปแบบและชนิดของเซลล์ที่สร้างไซโตไคน์ของสุกรได้จริง ผลจากการศึกษาพบว่าระดับการสร้าง IFN- γ สามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ที่มีความสอดคล้องกับการทำงานของภูมิคุ้มกันแบบพึ่งเซลล์ที่มีความจำเพาะกับเชื้อไวรัสในสุกรมากกว่าการตรวจวัดการแสดงออกของ CD25 นอกจากนี้ผลการวิจัยนี้ยังสามารถแสดงให้เห็นว่า เชื้อ PRRSV เหนียวนาให้มีการสร้าง IL-10 แบบไม่จำเพาะ จากเซลล์ PBMC ของสุกรที่ได้รับเชื้อ PRRSV สูงขึ้น ในระยะแรกของการติดเชื้อ โดยพบว่าเซลล์ในกลุ่ม CD4⁺CD8⁻ lymphocyte เป็นเซลล์กลุ่มหลักที่สร้าง IL-10 ภายหลังจากติดเชื้อในระยะแรกนี้

จากผลงานวิจัยข้างต้นชี้ให้เห็นว่าการติดเชื้อ PRRSV อาจส่งผลกระทบต่อการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันของสุกรโดยรวม และอาจมีผลกระทบต่อประสิทธิภาพของวัคซีนอื่นๆ ที่ให้กับสุกรในระยะเดียวกับที่มีการติดเชื้อ PRRSV ซึ่งนำไปสู่วัตถุประสงค์หลักของงานวิจัยในช่วงปีที่ 2 ของโครงการวิจัยนี้ โดยทำการศึกษาผลการติดเชื้อ PRRSV ต่อการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันของสุกรที่ติดเชื้อเมื่อได้รับวัคซีนป้องกันโรคอหิวาต์สุกร โดยแบ่งสุกรทดลองอายุ 17 วัน เป็น 5 กลุ่ม สุกรกลุ่มทดลองได้รับเชื้อ PRRSV (strain 01NP1) 1 สัปดาห์ ก่อนการให้วัคซีนป้องกันโรคอหิวาต์สุกร และตามด้วยการให้ฉีดพิษหับด้วยเชื้ออหิวาต์สุกร (strain Bangkok 1950) 3 สัปดาห์หลังให้วัคซีน สุกรอีก 4 กลุ่ม ประกอบด้วย 1) สุกรที่ได้รับเชื้อ PRRS หรือ 2) ได้รับวัคซีนเพียงอย่างเดียวและตามด้วยการฉีดพิษหับ 3) สุกรที่ได้รับการฉีดพิษหับอย่างเดียว และ 4) สุกรกลุ่มควบคุม ผลการศึกษาชี้ว่าการได้รับเชื้อ PRRSV ก่อนการให้วัคซีนอหิวาต์สุกร จะรบกวนการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อเชื้ออหิวาต์สุกรและลดความสามารถในการต่อต้านการเกิดโรคของสุกรทดลองเมื่อได้รับเชื้อพิษอย่างมีนัยสำคัญ โดยมีหลักฐานที่แสดงให้เห็นว่าเซลล์จากสุกรที่ได้รับเชื้อ PRRSV มาก่อนจะมีการสร้าง IL-10 ในปริมาณที่สูงขึ้นในช่วงเวลาที่ได้รับวัคซีน ผลจากการศึกษานี้ชี้ว่า การแพร่กระจายของเชื้อ PRRSV อาจเป็นปัจจัยหนึ่งที่สามารถรบกวนประสิทธิภาพของวัคซีนอหิวาต์สุกร ซึ่งจะนำไปสู่ความล้มเหลวในการป้องกันโรคอหิวาต์สุกรในฟาร์มสุกรในที่สุด

ABSTRACT

TE165396

Characterization of *in vivo* cytokine production by the leukocytes from pigs infected with Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus (PRRSV)

Porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS), caused by porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV), has been recognized worldwide as one of the most economically important swine diseases. The major characteristics of PRRS include reproductive failure of the sows and respiratory disease in pigs of all ages. PRRSV infection generally resulted in delayed and ineffective adaptive immunity against the virus followed by the deterioration of local lung defenses that leads to secondary bacterial infections which are known as the porcine respiratory disease complex. Previous findings from our laboratory indicated that PRRSV infection could result in both systemic and local production of interleukin-10 (IL-10) in infected pigs. The findings lead to a major concern that high IL-10 production during the active stage of PRRSV infection could result in systemic immunosuppression in the infected pigs.

The first objective of the project was to establish various immunofluorescent staining protocols for studying IL-10 and interferon-gamma (IFN- γ) production, the IL-2 receptor-alpha (CD25) surface expression of porcine lymphocytes by flow cytometry. The results indicated that flow cytometric analyses of IFN- γ production could be used to evaluate viral-specific cell-mediated immune responses in pigs. However, IFN- γ production and expression of CD25 were not tightly associated in porcine lymphocytes. Furthermore, the result demonstrated significant increases in IL-10 production by porcine lymphocytes from infected pigs during the early stage of PRRSV infection. The second objective of the project was to evaluate whether the PRRSV infection produced negative impact on the host immune responses. To investigate the effect of PRRSV infection on classical swine fever (CSF) vaccine efficacy, twenty-eight, 17-day-old pigs were divided into 5 groups. The experimental group was infected with a Thai PRRSV (01NP1) a week before CSF vaccination and challenged with the virulent CSF virus (Bangkok 1950) 3 weeks following vaccination. The control groups received no PRRSV infection, no CSF vaccination, no CSF challenge or in combination were included. The results demonstrated that PRRSV infection significantly reduced the CSF vaccine efficacy, with clear evidence of enhanced IL-10 production by the lymphocytes of PRRSV infected pigs at the time of CSF vaccination. These findings implied that active PRRSV infection could induce immunosuppression in infected pigs and might be one of the causes for CSF vaccination failure in the field.