

บทคัดย่อภาษาไทย

รหัสโครงการ : TRG5880087

ชื่อโครงการ : การศึกษาการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีในเซลล์ตับและการทำลายเซลล์ติดเชื้อด้วยเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกัน

ชื่อนักวิจัย : ผศ.ดร.คณิสส์ เสงี่ยมสุนทร ภาควิชาชีวเคมี คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

E-mail Address: khanit.san@mahidol.ac.th

ระยะเวลาโครงการ: 2 ปี (1 กรกฎาคม 2558 – 30 มิถุนายน 2560)

การติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี (HBV) เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคตับอักเสบริ่งจนในที่สุดพัฒนาเป็นโรคมะเร็งตับ (hepatocellular carcinoma) วิธีศึกษาด้านชีววิทยาของไวรัสและความสัมพันธ์ระหว่างไวรัสกับเซลล์เจ้าบ้านมีข้อจำกัดเนื่องจากขาดเซลล์ตับที่รองรับการติดเชื้อไวรัสภายนอกร่างกาย ดังนั้นการพัฒนาเซลล์ตับที่มีคุณสมบัติเป็นเซลล์ปกติและสามารถรองรับการติดเชื้อและการเพิ่มจำนวนของไวรัสในระยะยาวย่อมเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับการศึกษาไวรัสตับอักเสบบี ในการศึกษานี้ได้พัฒนาเซลล์คล้ายเซลล์ตับจากเซลล์ต้นกำเนิดโอพีเอสและตรวจวัดการแสดงออกของรีเซพเตอร์ที่จำเป็นสำหรับการติดเชื้อและทดสอบการติดเชื้อในเซลล์ด้วยไวรัสที่แยกมาจากพลาสมาของผู้ป่วยหรือจากเซลล์ HepG2.2.15 จากการศึกษาพบว่าเซลล์คล้ายเซลล์ตับที่พัฒนาขึ้นมีการแสดงออกของรีเซพเตอร์ของไวรัส เช่น NTCP HSPG และ clathrin ด้วยวิธีการวิเคราะห์โปรตีนทางชีววิทยาภูมิคุ้มกันและวิธีพีซีอาร์ นอกจากนี้ไวรัสยังสามารถสังเคราะห์โครงสร้าง cccDNA เพื่อเพิ่มจำนวนอนุภาคของไวรัสใหม่เมื่อได้รับการติดเชื้อจากซีรัมของผู้ป่วยหรือ HepG2.2.15 ซึ่งการติดเชื้อดังกล่าวทำให้ตรวจพบ HBcAg HBeAg และ HBV cccDNA ในปริมาณที่สูงในเซลล์และเมื่อเก็บตัวอย่างไวรัสจากอาหารเลี้ยงเซลล์ติดเชื้อมาเลี้ยงร่วมกับเซลล์ปกติสามารถทำให้เซลล์ปกติติดเชื้อได้ นอกจากนี้ตรวจพบการเพิ่มการแสดงออกของระดับ TNF- γ , IFN- α IFN- β TGF- β และ miR-122 ในเซลล์ HLC เมื่อติดเชื้อผ่านไป 1 สัปดาห์ เมื่อนำเซลล์ติดเชื้อมาเลี้ยงร่วมกับเซลล์ซีไอเค สามารถทำลายเซลล์ติดเชื้อได้มากถึงร้อยละ 90 และไม่มีผลต่อเซลล์ปกติ จากการศึกษาข้างต้นเซลล์คล้ายเซลล์ตับสามารถพัฒนาเป็นเซลล์เจ้าบ้านสำหรับศึกษาวงจรชีวิตของไวรัสตับอักเสบบีและปฏิสัมพันธ์ระหว่างไวรัสกับเซลล์เจ้าบ้านรวมทั้งการเกิดมะเร็งในเซลล์ติดเชื้อในอนาคตได้

คำสำคัญ: เซลล์ต้นกำเนิดโอพีเอส, โอพีเอสเซลล์, เซลล์คล้ายเซลล์ตับ, ไวรัสตับอักเสบบี, เฮปบีวี, การเพาะเลี้ยงเซลล์, เอ็นทีซีพี, เซลล์ซีไอเค

Abstract

Project Code: TRG5880087
 Project Title: The study of hepatitis B virus infection to hepatocyte-like cells and their susceptibility to cytolysis using cytokine-induced killer cells
 Investigator: Assist. Prof. Khanit Sa-ngiamsuntorn, Ph.D.
 E-mail Address: khanit.san@mahidol.ac.th
 Project Period: 2 years (1 July 2015 – 30 June 2017)

Hepatitis B virus (HBV) infects induces chronic liver inflammation which could eventually develop into hepatocellular carcinoma. The study of HBV biology and virus-host cell interaction have been hindered by the limitation of the available host cells. The long-term cultured functional hepatocyte that supports a complete HBV life cycle for a long term is essential for this task. In this study, hepatocyte-like cells (HLC) derived from human iPSCs were examined for HBV associated receptors, infectivity with HBV isolated from patient serum or HepG2.2.15. The HBV receptors for example; HSPG, NTCP and clathrin were highly expressed in mature HLC as evaluated by immunofluorescent and real-time qPCR. HLCs sustained viral covalently closed circular DNA (cccDNA) replication and produced HBV particles after challenging with HBV from patient serum. The generation of HBV virions from HLCs outperformed those from HepaRG cell. Infection of HLCs with HBV from patient serum or HepG2.2.15 resulted in the expression of HBcAg, HBeAg and HBV cccDNA that was consistent with higher HBV protein synthesis and replication. The conditioned medium from infected HLCs was able to infect naïve HLCs and HepaRG cells. The HLCs upregulated the expression of TNF- γ , IFN- α IFN- β TGF- β and miR-122 after the HBV infection. The co-culture of HBV-infected HLCs with cytokine-induced killer (CIK) cell exhibited 90% infected cell lysis whereas the non-infected HLCs exhibited 0% lysis. In summary, HLC could serve as an effective host for the study of HBV life cycle, virus-host interaction with a potential to develop hepatocellular carcinoma.

Keywords: induced pluripotent stem cell, iPSC, hepatocyte-like cell, hepatitis B virus, HBV, cell culture model, NTCP, CIK cell