บทคัดย่อ

การติดเชื้อไวรัสเด็งกี่เป็นการติดเชื้อไวรัสที่มีแมลงเป็นพาหะนำโรคที่พบมากที่สุดโรคหนึ่ง มีการประมาณการว่ามีประชากรกว่าสามพันล้านคนที่อาศัยอยู่ในพื้นที่ที่มีความเสี่ยงต่อการติดเชื้อไวรัสเด็งกี่ และในแต่ละปีมีผู้ติดเชื้อไวรัสเด็งกี่มากกว่าหนึ่งร้อยล้านคน แม้ว่าจะมีความพยายามในการศึกษาเกี่ยวกับไวรัสเด็งกี่อย่างกว้างขวาง แต่ความรู้เกี่ยวกับปฏิสัมพันธ์ของไวรัสเด็งกี่และเซลล์เจ้าบ้านยังคงไม่ชัดเจน หนึ่งในปฏิสัมพันธ์ของไวรัสและเซลล์เจ้าบ้านที่มีความสำคัญต่อพยาธิวิทยาการเกิดโรคได้แก่ ปฏิสัมพันธ์เบื้องต้นของไวรัสและเซลล์เจ้าบ้านที่บริเวณโปรตีนตัวตอบรับ ซึ่งปฏิสัมพันธ์เบื้องต้นนี้จะ เป็นตัวกำหนดการเกิดปฏิสัมพันธ์ในขั้นตอนต่อไป โดยเฉพาะอย่างยิ่งในการกำหนดตำแหน่งเฉพาะของไวรัสภายในเซลล์ ซึ่งโดยทั่วไปแล้วรูปแบบการเข้าสู่เซลล์และปฏิสัมพันธ์ของไวรัสกับองค์ประกอบภายในเซลล์เจ้าบ้านประกอบไปด้วยรูปแบบที่แตกต่างกันหลากหลายแบบ

ผู้วิจัยได้มีการพิสูจน์โปรตีนตัวตอบรับสองชนิดของไวรัสเด็งกี่ที่ใช้ในการเข้าสู่เซลล์ตับอย่างจำเพาะต่อซีโรไทป์ของไวรัส [Jindadamrongwech et al., 2004; Thepparit and Smith, 2004] เพื่อให้เกิดความเข้าใจมากขึ้นเกี่ยวกับปฏิสัมพันธ์ของไวรัสและเซลล์ตับ ผู้วิจัยได้ใช้เทคนิคแอฟฟินิตี้คอลัมน์โครมาโตกราฟฟี่เพื่อศึกษาความจำเพาะของซีโรไทป์ต่อปฏิสัมพันธ์ของไวรัสและแสดงความจำเพาะเจาะจงของปฏิสัมพันธ์ พบว่าคอลัมน์ที่ใช้ไวรัสเด็งกี่ซีโรไทปป์สองสามารถจับกับโปรตีนตัวตอบรับที่ได้รับการพิสูจน์ก่อนหน้านี้ คือ GRP78 แต่ในเด็งกี่ไวรัสซีโรไทป์หนึ่งไม่มีการจับกันของโปรตีนตัวตอบรับ 37/67kDa high affinity laminin receptor กับไวรัสเด็งกี่ซีโรไทป์หนึ่งในคอลัมน์ [Upanan et al.,2008] ในงานวิจัยที่เกี่ยวข้องผู้วิจัยได้แสดงให้เห็นว่าเซลล์ตับของมนุษย์เป็นเซลล์เป้าหมายชนิดหนึ่งของไวรัสเด็งกี่ [Suksanpaisan et al., 2007] อีกทั้งยังแสดงให้เห็นว่า heat shock protein ไม่มีบทบาทในการเข้าสู่เซลล์ตับของไวรัสเด็งกี่ [Cabrera-Hernandez et al.,2007]

ในการศึกษาเกี่ยวกับเหตุการณ์ที่เกิดขึ้นหลังการจับของไวรัสกับโปรตีนตัวตอบรับ ผู้วิจัยได้ทำการศึกษาครอบคลุมถึงกระบวนการการเข้าสู่เซลล์ของไวรัสเด็งกี่โดยใช้สารยับยั้งทางชีวเคมี, การแสดงออกของการกลายพันธุ์ของยีนส์และ เทคโนโลยี siRNA ซึ่งผู้วิจัยได้แสดงให้เห็นว่าไวรัสเด็งกี่สามารถเข้าสู่เซลล์ตับได้หลายวิธีโดยวิธีหลักได้แก่ clathrin mediated endocytosis [Suksanpaisan et al., 2009] และในการศึกษาปฏิสัมพันธ์ระหว่างไวรัสเด็งกี่กับออโตฟาจีในเซลล์แสดงให้เห็นการเชื่อมโยงของการเข้าสู่เซลล์ของไวรัสและเพิ่มจำนวนของไวรัสภายในเซลล์ [Khakpoor et al., 2009; Panyasrivanit et al.,2009a] จากผลการวิจัยที่ได้กล่าวมานี้ผู้วิจัยได้เสนอว่า การเข้าสู่เซลล์ของไวรัสเด็งกี่และเพิ่มจำนวนไวรัสภายในเซลล์เป็นกระบวนการที่ต่อเนื่องที่เป็นผลจากการเกิดปฏิสัมพันธ์ของไวรัสกับเยื่อหุ้มจากกระบวนการ endocytosis และ autophagy [Panyasrivanit et al.,2009b]

คำสำคัญ: ออโตฟาจี, แคทริน, เดงกี่, เอนโดไซโตซิส, แมคโครพิโนไซโตซิส, ตัวตอบรับ

ABSTRACT

It has been estimated that some 3 billion people live in areas at the risk of infection with the dengue virus, and that up to 100 million infections occur each year, making dengue the most common arthropod-borne viral disease. Despite significant effort worldwide, much of how the dengue virus interacts with a host cell remains unclear. One of the most critical interactions that defines pathogenicity is the initial interaction of the virus with the host cell at a receptor or receptors. The subsequent interactions of the virus with the host cell will in a large part be determined by this initial interaction, and in particular by the specific cellular compartment into which the virus is deposited. As such, the nature of the receptor interaction, mode of entry and interaction with the host cell machinery constitute a continuous spectrum of interactions.

We have previously identified two dengue virus receptor proteins utilized in a serotype specific manner by the dengue virus to gain entry into liver cells [Jindadamrongwech et al., 2004; Thepparit and Smith, 2004]. To further understand this interaction we utilized affinity column chromatography to probe both the serotype specificity of the dengue virus interaction, as well as to determine the specificity of the reaction. A dengue virus serotype 2 affinity column was able to bind the dengue serotype 2 receptor previously identified (GRP78), but not the dengue serotype 1 receptor, the 37/67kDa high affinity laminin receptor protein [Upanan et al., 2008]. In associated work, we were able to provide substantive evidence that human hepatocytes are a legitimate dengue virus target [Suksanpaisan et al., 2007], as well as ruling out a role for heat shock proteins in the internalization of dengue virus into liver cells [Cabrera-Hernandez et al., 2007].

To investigate events immediately subsequent to receptor binding, we undertook a comprehensive analysis of the mechanism of dengue virus entry. Using a combination of biochemical inhibitors, dominant negative mutant expression and siRNA technology we were able to demonstrate entry of the dengue virus into liver cells by multiple pathways. The majority of dengue virus entry was determined to be via clathrin mediated endocytosis [Suksanpaisan et al., 2009]. Studies we initiated on the interaction between the dengue virus and the cellular autophagy pathway linked dengue virus entry and subsequent translation and replication [Khakpoor et al., 2009; Panyasrivanit et al., 2009a]. As a result of this, we have recently proposed that dengue virus entry and translation replication are a continuous process resulting from an interaction with membranes of an endosomal-autophagosomal lineage [Panyasrivanit et al., 2009b].

Key words: autophagy, clathrin, dengue, endocytosis, macropinocytosis, receptor