

Abstract

Project Code : BRG5980004

Project Title : Role of NOD-like receptors (NLRs) in *Burkholderia pseudomallei*-infected human alveolar lung epithelial cell line A549

Investigator : Prof. Pongsak Utaisincharoen

E-mail Address : pongsak.uta@mahidol.ac.th

Project Period : 15 June 2016-14 June 2019

Melioidosis is a high mortality rate infectious disease and a major cause of community-acquired sepsis in Southeast Asia and Northern Australia. The pathogenic intracellular bacterium *Burkholderia pseudomallei* is the causative agent of this disease. Inhalation is the one of the major routes of *B. pseudomallei* infection, emphasizing the lungs as the important target organ. After entering into host cells, the bacteria can escape into the cytoplasm and be detected by the host cell cytosolic sensors which trigger the inflammasome pathways through the NOD-like receptors (NLRs), adaptor protein, and inflammatory caspases assembly. Although the canonical inflammasome (NLRP3/ASC and NLRC4) and non-canonical inflammasome (murine caspase-11) have been extensively investigated in murine model of *B. pseudomallei* infection, their role in human, particularly in lung epithelial cells, are neglected and still unknown. In this study, we aimed to investigate the involvement of inflammasome both the canonical (NLRP3/ASC and NLRC4) and non-canonical (human caspase-4) pathways in human lung epithelial A549 cells during *B. pseudomallei* infection. Even though the canonical inflammasome components (NLRP3, ASC, and NLRC4) are expressed and upregulated at both transcriptional and translational levels in *B. pseudomallei* infected human lung epithelial cells, the mature IL-1 β and significant pyroptosis level were undetectable in the supernatant. Moreover, depletion of the aforementioned molecules did not alter the intracellular *B. pseudomallei* growth. In contrast to the canonical inflammasome, the human caspase-4 non-canonical inflammasome is importance for the restriction of the intracellular *B. pseudomallei* growth, suggesting the contribution of inflammatory caspase-4 non-canonical inflammasome pathway in promoting the killing of cytosolic bacteria in human lung epithelial cells.

Keywords : A549, *Burkholderia pseudomallei*, caspase-4, NLRs

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ: BRG5980004

ชื่อโครงการ: บทบาทของตัวรับสัญญาณ NLRs ในเซลล์มะเร็งเยื่อปอดของมนุษย์ที่ติดเชื้อเบอร์โคลเดอเรีย สูดิมาลิโอ

ชื่อนักวิจัย และสถาบัน : ศ.ดร.พงศ์ศักดิ์ อุทัยสินธุเจริญ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

อีเมล: pongsak.uta@mahidol.ac.th

ระยะเวลาโครงการ: 15 มิถุนายน 2559 – 14 มิถุนายน 2562

โรคเมลิออยโดสิสจัดเป็นโรคติดเชื้อชนิดหนึ่งที่มีอัตราการตายสูง ซึ่งนำไปสู่การเกิดภาวะโลหิตเป็นพิษจากเหตุติดเชื้อ (sepsis) โรคชนิดนี้พบมากบริเวณเอเชียตะวันออกเฉียงใต้และตอนเหนือของประเทศออสเตรเลีย สาเหตุของโรคเกิดจากการติดเชื้อแบคทีเรียแกรมลบที่ชื่อว่า เบอร์โคลเดอเรีย สูดิมาลิโอ เชื้อชนิดนี้สามารถติดต่อผ่านสู่ร่างกายมนุษย์โดยผ่านทางหายใจจึงเป็นการเน้นย้ำว่าปอดน่าจะเป็นอวัยวะเป้าหมายสำคัญ เมื่อมีการติดเชื้อชนิดนี้เข้าสู่ร่างกาย เชื้อชนิดนี้สามารถที่จะหลบหลีกไปยังบริเวณไซโตพลาสซึมและถูกตรวจจับโดย cytosolic sensors ของโฮสต์ซึ่งกระตุ้นให้เกิด inflammasome pathways โดยอาศัย NLR, adapter protein และ inflammatory caspases ในการจับกลุ่มกันกระตุ้นให้เกิดการส่งผ่านสัญญาณระบบ inflammasome สามารถแบ่งออกเป็น canonical ประกอบด้วย NLRP3/ASC และ NLRC4 และ non-canonical ได้แก่ murine caspase-11/human caspase-4 ซึ่งระบบ inflammasome ทั้งสองระบบดังกล่าวมีการศึกษากันอย่างกว้างขวางในเชื้อเบอร์โคลเดอเรีย สูดิมาลิโอ โดยทำการทดลองในหนู แต่อย่างไรก็ตาม การศึกษาถึงบทบาทและกลไกของระบบ inflammasome ของเชื้อชนิดนี้ในมนุษย์โดยเฉพาะในเซลล์มะเร็งปอดนั้นยังไม่มีรายงาน การศึกษาในครั้งนี้ผู้วิจัยจึงมีเป้าหมายในการที่จะศึกษาบทบาทของระบบ inflammasome ในเซลล์มะเร็งปอดของมนุษย์ชนิด A549 ที่ถูกติดเชื้อเบอร์โคลเดอเรีย สูดิมาลิโอ

จากผลการทดลองพบว่าถึงแม้จะพบการแสดงออกของยีนและโปรตีนในระบบ canonical inflammasome ในเซลล์มะเร็งปอดของมนุษย์ที่ติดเชื้อเบอร์โคลเดอเรีย สูดิมาลิโอ แต่กลับไม่พบการหลั่งของสารน้ำชนิด IL-1 β และการเกิด pyroptosis อย่างไรก็ตามเมื่อทำการยับยั้งการแสดงออกของโมเลกุลในระบบ canonical inflammasome (NLRP3/ASC และ NLRC4) ก็ไม่พบความแตกต่างของการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่อยู่ภายในเซลล์ ในทางตรงกันข้ามเมื่อศึกษาระบบ non-canonical inflammasome กลับพบว่า human caspase-4 มีบทบาทสำคัญในการควบคุมการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียภายในเซลล์ ซึ่งจากผลการทดลองอาจกล่าวได้ว่าระบบ non-canonical inflammasome (caspase-4) มีบทบาทสำคัญในการเพิ่มความสามารถในการทำลายเชื้อเบอร์โคลเดอเรีย สูดิมาลิโอในเซลล์มะเร็งปอด

คำหลัก : A549, *Burkholderia pseudomallei*, caspase-4, NLRs