

หัวข้อวิทยานิพนธ์

บทบาทของเอนไซม์แลคเคสของเชื้อ *Penicillium marneffe* ต่อการสร้างไซโตไคน์ของมาโครฟาจ

ผู้เขียน

นางสาวจุติกุล แก้วมาลากุล

ปริญญา

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย)

คณะกรรมการที่ปรึกษา

ผศ. ดร. สิริดา ช่างนิม	อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก
ศ. ดร. นงนุช วณิชธนาคม	อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
รศ. ดร. พงนา ศรีบุรี	อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

บทคัดย่อ

Penicillium marneffe เป็นเชื้อราสองรูปชนิดฉวยโอกาสที่ก่อโรค *Penicilliosis marneffe* ในผู้ที่ติดเชื้อเอช ไอ วี (HIV) โดยพบแหล่งระบาดในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้และทางตอนใต้ของ ประเทศจีน เมื่อเกิดการติดเชื้อ ปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการเกิดโรค คือการทำงานของเซลล์ฟาโกไซต์ในการกำจัดคอนนเดียของเชื้อ *P. marneffe* หลังจากนั้นจะทำให้เกิดการเหนี่ยวนำของกระบวนการอักเสบ ซึ่งเป็นการตอบสนองของภูมิคุ้มกัน แลคเคสเป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงในการก่อโรคของเชื้อราหลายชนิด โดยพบว่าแลคเคสที่สร้างจากเชื้อ *P. marneffe* นั้นถูกกำหนดด้วยยีนแลคเคสสี่ยีน จึงได้นำคอนนเดียของสายพันธุ์ที่มีการขาดหายไปของยีนที่กำหนดการสร้างแลคเคสหรือเชื้อปกติไปเพาะเลี้ยงร่วมกับเซลล์ THP-1 ซึ่งเป็นเซลล์โมโนไซต์ของคน ในระยะเวลาที่แตกต่างกัน ผลการทดลองพบว่าเชื้อที่มีการขาดหายไปของยีนที่กำหนดการสร้างแลคเคสทั้งสี่ยีนมีเปอร์เซ็นต์ของ phagocytosis และ phagocytic index สูงกว่าเชื้อปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่เวลา 1 และ 2 ชั่วโมงของการบ่มเพาะ นอกจากนี้เปอร์เซ็นต์การถูกทำลายหรือถูกฆ่าของเชื้อที่มีการขาดหายไปของยีนที่กำหนดการสร้างแลคเคสทั้งสี่ยีนภายในมาโครฟาจ พบว่ามีจำนวนสูงกว่าเชื้อปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่เวลา 4 และ 8 ชั่วโมง และไซโตไคน์ที่กระตุ้นให้เกิดการอักเสบ ได้แก่ $\text{TNF-}\alpha$, $\text{IL-1}\beta$ และ IL-6 ที่หลั่งมาจากเซลล์ THP-1 ที่ติดเชื้อที่มีการขาดหายไปของยีนที่กำหนดการสร้างแลคเคสทั้งสี่ยีน พบว่าสูงกว่าเชื้อปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากผลการทดลองทั้งหมดทำให้ทราบถึงบทบาทของแลคเคสที่ช่วยส่งเสริมให้เชื้อต้านทานต่อการถูกทำลายจากระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะของร่างกาย

Thesis Title	The Role of Laccase Enzymes of <i>Penicillium marneffei</i> on Cytokine Production in Macrophage	
Author	Miss Jutikul Kaewmalakul	
Degree	Master of Science (Microbiology)	
Advisory Committee	Asst. Prof. Dr. Sirida Youngchim	Advisor
	Prof. Dr. Nongnuch Vanittanakom	Co-advisor
	Assoc. Prof. Dr. Pojana Sriburee	Co-advisor

ABSTRACT

Penicillium marneffei has emerged as an opportunistic dimorphic fungus associated with Human Immunodeficiency Virus (HIV), particularly in the geographical area of endemicity in Southeast Asia and southern China. Upon host infection, one of the most important aspects that contributes to the disease outcome is the initial interaction of the *P. marneffei* conidia with the phagocytic cells and the induction of the inflammatory process. Laccase enzyme has been found to associate with virulence in several pathogenic fungi. To obtain a better understanding of a role of laccase in *P. marneffei*, conidia of laccase mutant strains or wild-type were co-cultured with THP-1, human monocyte leukemia cell line in different incubation time. The percentage of phagocytosis and phagocytic index of quadruple *lac* gene deletion strain were significantly higher than the wild-type at 1 and 2 hours of incubation. In addition, the significantly higher percentage of intracellular killing of the quadruple *lac* gene deletion

strain was observed when compared with wild-type at 4 and 8 hours of incubation. The pro-inflammatory cytokines, TNF- α , IL-1 β and IL-6, secreted from THP-1 infected with the quadruple *lac* gene deletion strain were significantly increased in comparing with the wild-type. Altogether, these results defined the role of laccase that promoted *P. marneffei* resistance to innate host defenses.

