

<b>Thesis Title</b>	Functional Study of Monocyte-Derived Dendritic Cells of HIV-1-Infected Patients in Inducing T Lymphocyte Proliferation and Cytokine Production
<b>Author</b>	Mr. Nathapol Khruakumlaw
<b>Degree</b>	Master of Science (Medical Technology)
<b>Thesis Advisor</b>	Asst. Prof. Dr. Phennapha Klanginsirikul

### ABSTRACT

**Background:** Dendritic cells (DCs) play a vital role in linking innate and adaptive immune responses. Impaired APC function in case of DCs is thought to be a critical component of HIV-1-associated immunodeficiency. Although, DCs infected with HIV-1 virus have lost their function, monocyte-derived dendritic cells (MoDCs) are still having good function and can be used as a tool for therapeutic vaccine. Thus, the need for functional study of MoDCs of HIV-1 infected patients in Thailand is an importance issue.

**Objective:** To study the functions of MoDCs from HIV-1 positive patients in inducing T cell responses and compare to those of HIV-1 negative volunteers.

**Methods:** MoDCs were generated by culturing monocytes from HIV-1 negative (n=10) and HIV-1 positive (n=10) blood samples, in the presence of granulocyte

macrophage-colony stimulating factor (GM-CSF) and interleukin-4 (IL-4). After 8 days of culture, MoDCs were co-cultured with T cells from normal donors for another 7 days. The responses of T cells were determined by flow cytometer, for T cell proliferation and cytokine production.

**Results:** There was no significant difference in the percentages of IFN- $\gamma$  producing T cells when T cells were co-cultured with MoDCs from either HIV-1 negative volunteers or HIV-1 infected patients ( $p=0.240$ ). A very few IL-4 producing T cells which were stimulated with MoDCs from both groups of blood samples were found. T cells which were stimulated with MoDCs from HIV-1 negative samples and HIV-1 infected patients, also showed no significant difference in inducing allogenic T cell proliferation ( $p=0.058$ ).

**Conclusion:** MoDCs of both groups of HIV-1 negative and HIV-1 infected blood samples were still be in good function in inducing allogenic T cell proliferation and cytokine production toward proinflammatory cytokines.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์

การศึกษาการทำงานของเดนดริติกเซลล์ที่เปลี่ยนรูปมา

จากโมโนไซตในผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสเอชไอวี-1 ในการ  
กระตุ้นการแบ่งตัวและการสร้างไซโตไคน์ของเม็ดเลือด

ผู้เขียน

ชาวชนิต ทิมโพไซค์

นาย ณิชพล เกรือคำหล่อ

ปริญญา

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคนิคการแพทย์)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ผศ. ดร. เพ็ญภา คลังสินศิริกุล

บทคัดย่อ

ที่มาและปัญหา: เดนดริติกเซลล์มีบทบาทสำคัญต่อระบบภูมิคุ้มกันในการเป็นตัวเชื่อมระหว่าง

ระบบภูมิคุ้มกันแบบมีมาแต่กำเนิดกับระบบภูมิคุ้มกันแบบรับมา ในผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัส HIV-1

เดนดริติกเซลล์ในร่างกายอาจเสียหายที่การทำงานไป ต่างจากเดนดริติกเซลล์ที่เปลี่ยนรูปมาจากโม

โนไซต์ซึ่งเชื่อว่าสามารถทำงานได้ดีอยู่ในผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัส HIV-1 ดังนั้นการศึกษาผลการ

ทำงานของเดนดริติกเซลล์ที่เปลี่ยนรูปมาจากโมโนไซต์ของผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัส HIV-1 ใน

ประเทศไทยต่อการกระตุ้นที่เซลล์จึงมีความสำคัญเป็นอย่างมากเพื่อให้ได้ข้อมูลไปใช้ในการพัฒนา

วัคซีนในอนาคต

**วัตถุประสงค์:** เพื่อศึกษาเปรียบเทียบผลในการกระตุ้นทีเซลล์ด้วย เดนดริติกเซลล์ที่เปลี่ยนรูปมาจากโมโนไซต์ระหว่างโมโนไซต์ที่ได้มาจากคนปกติเทียบกับที่ได้มาจากผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัส

**HIV-1**

**วิธีการ:** ทำการเพาะเลี้ยงเดนดริติกเซลล์ที่เปลี่ยนรูปมาจากโมโนไซต์โดยการเลี้ยงโมโนไซต์ที่แยกมาจากเลือดคนปกติ 10 รายและจากผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัส HIV-1 10 ราย ในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่เติม granulocyte macrophage-colony stimulating factor (GM-CSF) และ interleukin-4 (IL-4) จากนั้นเมื่อครบ 8 วันในการเลี้ยงเซลล์ เดนดริติกเซลล์จะถูกนำไปใช้ในการกระตุ้นทีเซลล์ของคนปกติจากนั้นจึงทำการเลี้ยงเซลล์ต่อเป็นเวลา 7 วัน เมื่อครบเวลาจึงศึกษาผลการตอบสนองของทีเซลล์ ด้วยเครื่องโฟลไซโตมิเตอร์โดยการวัดการเพิ่มจำนวนของ ทีเซลล์ และการหลั่งไซโตไคน์

**ผลการทดลอง:** เดนดริติกเซลล์ที่เปลี่ยนรูปมาจากโมโนไซต์ของทั้งผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัส HIV-1 และ คนปกติสามารถกระตุ้นการสร้างไซโตไคน์ของทีเซลล์ชนิด  $IFN-\gamma$  ได้โดยไม่มี ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญแต่อย่างใด ( $p=0.240$ ) อีกทั้งยังสามารถกระตุ้นการแบ่งตัวของทีเซลล์ได้อย่างไม่แตกต่างกันอีกด้วย ( $p=0.058$ ) ส่วนไซโตไคน์ของทีเซลล์ชนิด IL-4 นั้นพบว่ามี การสร้างออกมา น้อยมากในการศึกษาครั้งนี้

**สรุปผลการทดลอง:** จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าเดนดริติกเซลล์ที่เปลี่ยนรูปมาจากโมโนไซต์ของทั้งผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัส HIV-1 และ คนปกติยังคงมีความสามารถในการทำงานที่ดี โดยสามารถกระตุ้นการแบ่งตัวและการสร้างไซโตไคน์ของเม็ดเลือดขาวชนิด ที ลิมโฟไซต์โดยเฉพาะอย่างยิ่ง proinflammatory cytokine