(บทคัดย่อ)

รหัสโครงการ: TRG5880217

ชื่อโครงการ: การตรวจหา Common epitopes ของ Duffy Binding Protein II ที่กระตุ้นให้เกิดภูมิคุ้มกันต่อต้านเชื้อ *Plasmodium vivax* สายพันธุ์ที่ระบาดในกลุ่มคนไข้ไทยเพื่อนำไปสู่การผลิต DBPII vaccine

ชื่อนักวิจัยและสถาบัน: ผู้ช่วยศาสตราจารย์.ดร. พัชนี ชูทอง คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยมหิดล

อีเมลล์: pchooton@gmail.com

ระยะเวลาโครงการ: 2 กรกฎาคม พ. ศ. 2558- 2 กรกฎาคม พ. ศ. 2560

บทคัดย่อ

Plasmodium vivax Duffy Binding Protein II (PVDBPII) มีบทบาทสำคัญในการจับกับโมเลกุลตัวรับเพื่อการบุกรุกเข้าสู่เซลล์ reticulocyte ดังนั้น PvDBPII จึงเป็นโมเลกุลที่มีความสำคัญและมีศักยภาพสูงในการผลิตวัคซีนต่อต้านโรคมาลาเรียชนิด *Plasmodium vivax* แต่อย่างไรก็ตามการกลายพันธุ์และการเกิดความหลากหลายของโมเลกุล PVDBPII เป็นอุปสรรคที่สำคัญในการผลิตวัคซีนป้องกันโรคมาลาเรีย ในการศึกษาครั้งนี้จึงได้ทำการวิเคราะห์การตอบสนองของแอนติบอดีจำเพาะต่อหลายสายพันธุ์ของแอนติเจน PvDBP หรือ (Broadly antibody response) ที่พบได้บ่อยในกลุ่มคนไข้ไทยคือ สายพันธุ์ PvDBL-TH2, -TH4, -TH5, -TH6 และ -TH9 โดยได้ผลิตโปรตีนลูกผสมเพื่อนำไปผลิต antisera จำเพาะต่อโปรตีนเหล่านี้และนำ antisera ไปประยุกต์ใช้ศึกษาการเกิด cross-reactivity โดยการทดสอบ ELISA depletion และนำไปศึกษาการเกิด broad inhibition การจับกันระหว่าง PvDBL-TH variants และเม็ดเลือดแดงโดยการทดสอบ *in vitro* COS7 erythrocyte inhibition binding assay นอกจากนี้การศึกษาครั้งนี้ยังได้ศึกษาคุณสมบัติ immunogecity ของ PvDBL-TH ในคนไข้มาลาเรียอีกด้วย ผลการทดลองพบว่า antisera จำเพาะต่อ PvDBL-TH สามารถกระตุ้นให้ระบบภูมิคุ้มกันสร้างแอนติบอดีที่มีคุณลักษณะในการจับข้ามสายพันธุ์ของ PvDBL-TH variants โดย anti-PvDBL-TH sera ที่ถูกดูดซับแอนติบอดีจำเพาะต่อ PvDBL-TH2 ไม่สามารถจับกับโปรตีนสายพันธุ์อื่นๆของ PvDBL-TH variants ได้ และ anti-PvDBL-TH2 ยังสามารถยับยั้งข้ามสายพันธุ์ได้อีกด้วยเมื่อทดสอบการยับยั้งของ PvDBL-TH variants ณ ความเข้มข้นของแอนติบอดีที่ยับยั้ง PvDBL-TH2 ได้ 50% (Inhibition concentration 50%) ผลการทดลองนี้บ่งชี้ให้เห็นถึงการเกิด cross-reactivity ของ anti-PvDBL-TH sera โดยแอนติบอดีสามารถจับกับ conserve epitopes ของ PvDBL-TH variants ได้ แต่อย่างไรก็ตามการศึกษานี้ยังตรวจพบ strain-specific antibody จำเพาะต่อ PvDBL-TH variants อีกด้วย anti-PvDBL-TH5 สามารถจับกับโปรตีน PvDBL-TH variants อื่นๆได้สูงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติหลังจากทำการดูดซับแอนติบอดีจำเพาะต่อ PvDBL-TH5 ออก นอกจากนี้ anti-PvDBL-TH5 sera ยังมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการจับของ PvDBL-TH variants ได้แตกต่างกันอย่างนัยสำคัญทางสถิติอีกด้วย การศึกษาในครั้งนี้จึงสามารถสรุปได้ว่า strain-transcending antibody ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งทุกสายพันธุ์ของ DBPII สามารถกระตุ้นให้ผลิตขึ้นมาได้ทั้งในสภาวะที่มีการติดเชื้อและจากการ immunization ดังนั้นการผลิต DBPII-based vaccine จึงควรมุ่งเป้าไปที่ conserved epitopes เพื่อกระตุ้นให้ร่างกายสร้าง broadly neutralizing antibody ในการป้องกันการติดเชื้อ PvDBL-TH ของทุกสายพันธุ์

คำหลัก: พลาสโมเดียมชนิดไวแว็กซ์ Duffy Binding Protein II-TH variants (DBL-TH) Strain-transcending antibodies

Abstract

Project Code: TRG5880217

Project Title: Characterization common epitope of Duffy binding protein II associated with inhibition of erythrocyte binding among *Plasmodium viv*ax variant haplotypes: Approach to DBPII vaccine design

Investigator: Asst. Prof. Patchanee Chootong, Faculty of Medical Technology, Mahidol University

E-mail Address: pchooton@gmail.com

Project Period: 2 July 2015 – 2 July 2017

Abstract

Plasmodium vivax Duffy binding protein ligand domain (DBPII) is an important candidate vaccine for antibody-mediated immunity against vivax malaria. The antigenic variation of DBPII is a major challenge for development of a broadly effective against vivax malaria. The present study was undertaken to investigate the presence of broadly antibody response against polymorphic PvDBL-TH antigens. The most common five variant strain of DBPII in Thai malaria endemic areas was expressed, and cross reactivity of anti-DBPII antibody responses were measured in antisera by ELISA depletion assay. The broadly inhibition of antibody against PvDBL-TH biding to erythrocytes was determined by *in vitro* COS7 erythrocyte inhibition binding assay. In this study, we found that the polymorphic haplotypes of PvDBL-TH variants was able to induce cross-reactivity antibody responses to heterologous PvDBL-TH variants. No significantly binding to heterologous PvDBL-TH variants after sera depletion with homologous antigens was observed. The evaluation of cross-inhibition activity of anti-PvDBL-TH2 sera showed no significant difference of inhibition against all PvDBL-TH variants binding. However, we also found a strain-specific antibody against PvDBL-TH variants. Anti-DBL-TH5 depleted sera showed a significant variation of the binding to all heterologous DBL variants. At 50% inhibition concentration of anti-PvDBL-TH5 body, there was a significantly difference of inhibition against all PvDBL-TH variant binding to erythrocytes. Together, our study demonstrated that the polymorphic haplotypes of PvDBPII could induce antibody responses in natural infection. Both strain-transcending antibody as well as strain-specific antibody against some polymorphic PvDBL-TH variants and against homologous alleles were elicited in response to PvDBL-TH variants. The finding target epitopes of strain-transcending neutralizing antibodies responses to PvDBL-TH antigens will be useful for vaccine development in malaria-endemic areas of Thailand and neighboring countries

Keywords: *Plasmodium vivax,* Duffy binding protein II-TH variants (DBL-TH), Strain-transcending antibodies