

การตรวจปริมาณของเซลล์ที่สร้างแกมมาอินเตอร์เฟียร์รอน (IFN- γ) ในเนื้อเยื่อน้ำเหลืองของสุกรที่ได้รับเชื้อไวรัสพรีอาร์อาร์เอสต่างชนิด

ทัตดาว ไทยวงษ์¹ ชนิศ ลิธิระประเสริฐ¹ ไชยวัฒน์ วิญญูนนันทกุล¹
อนุเทพ รังสีพิพัฒน์² สุประดิษฐ์ หวังในธรรม² รุ่งโรจน์ ธนาวงษ์นุเวช^{2*}

Abstract

Tuddow Thaiwong¹ Chanis Leetheraprasert¹ Chaiwat Winyoonunthakul¹ Anudep Rungsipipat²
Supradit Wangnaitham² Roongroje Thanawongnuwech^{2*}

THE DETECTION OF IFN- γ POSITIVE CELLS IN THE LYMPHOID TISSUES OF PRRSV-INFECTED PIGS USING DIFFERENT STRAINS, FOR INFECTION

Archived paraffin-embedded lymphoid tissue samples from seventy five experimental PRRSV-infected pigs were examined for PRRSV antigen and IFN- γ positive cells, using immunohistochemistry. Lymphoid tissues (5 pigs/group) including spleen, tracheobronchial lymph nodes and tonsil came from negative control pigs (group 1), low virulence strain of PRRSV (RespPRRS/ReproTM, modified-live virus vaccine) infected pigs (group 2) and high virulence strain of PRRSV (VR-2385) infected pigs (group 3). They were necropsied at 3, 7, 10, 14 or 28 days post-inoculation (DPI). According to the study, microscopic lesions in the lymphoid tissues from pigs infected with the high virulence strain had more severe lesions, characterized by severe lymphoid depletion and necrosis, than those infected with the low virulence strain. The most severe lesions in the spleen and lymph nodes were observed 14 DPI, but the tonsil had the most severe lesions at 7 DPI. In the spleen, lymph nodes and tonsil, a significant increase in the number of PRRSV-positive cells ($p < 0.05$) was seen in the high virulence-inoculated pigs, when compared to the control pigs at 14 DPI. IFN- γ antigen was found in both lymphocytes and macrophages. In the spleen, a significant increase of IFN- γ positive cells was found at both 14 and 28 DPI in the high virulence group, whereas in the lymph nodes and tonsil, a significant increase of those cells was seen at 14 DPI. The results suggested that the increase in the number of PRRSV-positive cells in the high virulence group, correlated well with the severity of the lymphoid tissue lesions and that IFN- γ might be inhibiting the replication of PRRSV in the lymphoid tissue. However, the increase in the number of IFN- γ positive cells did not correlate with the decrease in the number of PRRSV positive cells.

Keywords : IFN- γ , lymphoid tissues, pigs, PRRSV

¹Sixth year student, Academic year 2003, Faculty of Veterinary Science, ²Division of Pathology, Department of Pathology, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Bangkok 10330

*Corresponding author

¹นิสิตชั้นปีที่ 6 ปีการศึกษา 2546 คณะสัตวแพทยศาสตร์

²หน่วยพยาธิวิทยา ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330

*ผู้รับผิดชอบบทความ

บทคัดย่อ

ทศดาว ไทวงษ์¹ ชนิศ ลิธีระประเสริฐ¹ ไชยวัฒน์ วิญญูนันท์กุล¹ อนูเทพ รังสีพิพัฒน์²
สุประดิษฐ์ หวังในธรรม² รุ่งโรจน์ ธนาวงษ์นุเวช^{2*}

การตรวจปริมาณของเซลล์ที่สร้างแกมมาอินเตอร์เฟียรอน (IFN- γ) ในเนื้อเยื่อน้ำเหลืองของสุกรที่ได้รับเชื้อไวรัสพอร์อาร์เอสต่างชนิด

ตัวอย่างเนื้อเยื่อน้ำเหลืองได้แก้ม้าม ต่อม้ำเหลือง และทอนซิล จากสุกรทดลองจำนวน 75 ตัวอย่าง จากสุกร 3 กลุ่ม คือ กลุ่มควบคุม (กลุ่มที่ไม่ได้รับเชื้อ) กลุ่มที่ได้รับเชื้อไวรัสพอร์อาร์เอส ชนิดความรุนแรงต่ำจากวัคซีนไวรัส (RespPRRS/ReproTM, modified-live virus vaccine) ทางจมูก กลุ่มที่ได้รับเชื้อไวรัสพอร์อาร์เอส ชนิดความรุนแรงสูง (VR-2385) ทางจมูก จากการชันสูตรสุกรกลุ่มละ 5 ตัว หลังจากการได้รับเชื้อในวันที่ 3, 7, 10, 14 และ 28 วัน ทำการย้อมด้วยวิธีอิมมูโนฮิสโตเคมีที่จำเพาะต่อเชื้อไวรัสพอร์อาร์เอสและแกมมาอินเตอร์เฟียรอน (IFN- γ) พบว่าในกลุ่มที่ได้รับเชื้อไวรัสพอร์อาร์เอสชนิดความรุนแรงสูง รอยโรคที่เนื้อเยื่อน้ำเหลืองแบบ lymphoid depletion และ lymphoid necrosis จะรุนแรงกว่ากลุ่มที่ได้รับเชื้อไวรัสพอร์อาร์เอสชนิดความรุนแรงต่ำ โดยรอยโรคที่ม้ามและต่อมน้ำเหลืองรุนแรงสูงสุดที่ 14 วัน รอยโรคในทอนซิลมีความรุนแรงที่สุดที่ 7 day post-inoculation (DPI) ปริมาณเซลล์ที่ให้ผลบวกต่อเชื้อไวรัสพอร์อาร์เอสในกลุ่มที่ได้รับเชื้อชนิดความรุนแรงสูงเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ 14 DPI ทั้งในม้าม ต่อม้ำเหลือง และทอนซิล ปริมาณเซลล์ที่ให้ผลบวกต่อแกมมาอินเตอร์เฟียรอน ซึ่งสามารถพบได้ทั้งในลิมโฟไซต์และมาโครฟาจในม้ามจะเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในวันที่ 14 DPI และ 28 DPI ต่อม้ำเหลืองและทอนซิลเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในวันที่ 14 DPI ในกลุ่มที่ได้รับเชื้อชนิดความรุนแรงสูง จากผลการศึกษานี้ คาดว่าปริมาณเซลล์ที่ให้ผลบวกต่อเชื้อไวรัสพอร์อาร์เอสที่เพิ่มขึ้นในกลุ่มที่ได้รับเชื้อชนิดความรุนแรงสูง มีความสัมพันธ์กับระดับความรุนแรงของรอยโรคที่เนื้อเยื่อน้ำเหลืองซึ่งเกิดจากการติดเชื้อไวรัสพอร์อาร์เอส และ IFN- γ อาจมีผลในการยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเชื้อไวรัสพอร์อาร์เอสในเนื้อเยื่ออวัยวะน้ำเหลืองสุกรแต่อย่างไรก็ตาม ปริมาณของเซลล์ที่ให้ผลบวกต่อ IFN- γ ไม่สอดคล้องกับปริมาณเซลล์ที่ให้ผลบวกต่อไวรัสพอร์อาร์เอสที่ลดลง

คำสำคัญ: แกมมาอินเตอร์เฟียรอน เนื้อเยื่อน้ำเหลือง สุกร ไวรัสพอร์อาร์เอส

บทนำ

โรค Porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) เกิดจากเชื้อไวรัสพอร์อาร์เอส ซึ่งเป็น positive-strand enveloped RNA virus อยู่ใน family Arteriviridae order Nidovirales (Cavanagh, 1997) เป็นสาเหตุให้เกิดความล้มเหลวในระบบสืบพันธุ์สุกร รวมถึงการแท้ง การพบลูกกรอก และลูกตายแรกคลอดสูง (Christianson et al., 1992) และทำให้เกิดโรคระบบทางเดินหายใจในลูกสุกร เชื้อไวรัสพอร์อาร์เอสดังกล่าวทำให้เกิดความรุนแรงของเนื้อเยื่อน้ำเหลืองโดยทำให้ต่อมน้ำเหลืองมีขนาดใหญ่ขึ้น และบวมขึ้น เมื่อศึกษาทางจุลพยาธิวิทยาพบภาวะ lymphoid follicular hyperplasia and hypertrophy, lymphoid necrosis และ polycystic of lymphoid tissue with polykaryocytes (Rossow et al., 1996)

จากรายงานในสุกรทดลองของ Rossow (1998) พบว่า เมื่อเชื้อไวรัสพอร์อาร์เอสเข้าสู่ร่างกาย เชื้อจะเข้าไปเจริญภายในมาโครฟาจ และกระจายไปทั่วร่างกาย โดยยังคงมีไวรัสพอร์อาร์เอสอยู่ในมาโครฟาจ ปกติแล้วมาโครฟาจจะเป็นเซลล์หลักที่มีหน้าที่ในการตอบสนองภูมิคุ้มกันชนิดพึ่งเซลล์ (cell mediated immune response) ปัจจัยสำคัญที่เป็นตัวกระตุ้นการทำงานของมาโครฟาจคือ แกมมาอินเตอร์เฟียรอน (IFN- γ) ซึ่งเป็นอินเตอร์เฟียรอนชนิดที่ 2 (type 2 interferon) ที่สร้างมาจากลิมโฟไซตชนิด T (Th1) และ natural killer cells (NK cells) ที่ได้รับการกระตุ้นจากแอนติเจน (Van Reeth and Nauwynck, 2000) อินเตอร์เฟียรอนจะไปกระตุ้นให้เกิดการสร้างโปรตีนที่มีฤทธิ์ในการต้านไวรัสได้ ตัวอย่างโปรตีนดังกล่าวได้แก่ 2,5-oligoadenylate synthetase เอนไซม์นี้จะ

ไปทำให้ adenosine triphosphate (ATP) เกิดการสร้าง adenylate oligomers ซึ่งจะไปกระตุ้นให้เกิดการสร้าง RNAase-L ไปยับยั้งการสร้างโปรตีนของไวรัส โปรตีนอีกตัวหนึ่งซึ่งเกิดจากมาโครฟาถูกกระตุ้นโดยแกมมาอินเตอร์เฟอรอน คือ nitric oxide ทำหน้าที่ในการป้องกันการเจริญของไวรัสในเซลล์มาโครฟา (Tizard, 2000) นอกจากนี้แกมมาอินเตอร์เฟอรอนยังมีฤทธิ์ในการกระตุ้นการทำงานของมาโครฟาอีกด้วย

ไวรัสพาร์อาร์เอสสามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันชนิดพึ่งเซลล์ได้ โดยดูได้จากการเพิ่มจำนวนของลิมโฟไซต์และปฏิกิริยาภูมิไวรัชนิดที่ 4 (delayed type hypersensitivity) (Bautista and Molitor, 1997) และพบว่าลิมโฟไซต์ที่ได้รับการกระตุ้นจากเชื้อไวรัสพาร์อาร์เอส สามารถหลั่งแกมมาอินเตอร์เฟอรอนได้จากการศึกษาในห้องปฏิบัติการ (Meier et al., 1997) นอกจากนี้ยังพบว่า สุนัขที่ได้รับเชื้อไวรัสพาร์อาร์เอสมิชอบการป้องกันตัวเองจากการติดเชื้อ (Gorcyca et al., 1995) ขบวนการหนึ่งที่สุนัขที่ติดเชื้อไวรัสพาร์อาร์เอสใช้ในการต่อต้านเชื้อไวรัส น่าจะเกิดจากผลของแกมมาอินเตอร์เฟอรอนที่มีต่อมาโครฟา (Bautista and Molitor, 1999)

จากข้อมูลที่ทราบแล้วว่า เมื่อสุนัขได้รับเชื้อไวรัสพาร์อาร์เอสเข้าสู่ร่างกาย เชื้อจะเข้าไปเจริญภายในเซลล์ของมาโครฟาที่ปอด (pulmonary alveolar macrophages; PAMs) และแกมมาอินเตอร์เฟอรอนจะถูกสร้างมาจากลิมโฟไซต์ชนิด T (Th1) และ natural killer cell เพื่อตอบสนองการติดเชื้อไวรัส และเนื่องจากแกมมาอินเตอร์เฟอรอนมีผลในการลดปริมาณของไวรัส และลดจำนวนเซลล์ที่ให้ผลบวกต่อเชื้อไวรัสพาร์อาร์เอส (Bautista and Molitor, 1999) ในเนื้อเยื่อน้ำเหลือง ซึ่งเป็นเนื้อเยื่อที่มีปริมาณเม็ดเลือดขาวชนิดต่างๆ อยู่เป็นจำนวนมาก จึงน่าจะพบการสร้างแกมมาอินเตอร์เฟอรอนที่ตอบสนองการติดเชื้อด้วย วัตถุประสงค์ของการศึกษารุ่นนี้ เพื่อเปรียบเทียบปริมาณเซลล์ที่ให้ผลบวกต่อเชื้อไวรัสพาร์อาร์เอส ร่วมกับการหาปริมาณเซลล์ที่สร้างแกมมาอินเตอร์เฟอรอนในเนื้อเยื่อน้ำเหลืองของสุนักรทดลองที่ระยะเวลาต่างๆ ภายหลังได้รับเชื้อไวรัสพาร์อาร์เอสต่างชนิด โดยวิธีอิมมูโนฮิสโตเคมี เพื่อศึกษาเปรียบเทียบพยาธิกำเนิดของโรค อันจะเป็นประโยชน์สำหรับใช้เป็นแนวทางในการควบคุมและป้องกันโรคที่เกิดจากเชื้อไวรัสพาร์อาร์เอสต่อไป

วัสดุและวิธีการ

สัตว์ทดลอง

นำตัวอย่างชิ้นเนื้อเยื่อน้ำเหลืองที่ฝังอยู่ในพาราฟิน จากการทดลองของ Thanawongnuwech และคณะ (1998) มาศึกษาโดยตัวอย่างได้จากสุนัขที่ปลอดเชื้อ (specific pathogen free) และปลอดจากเชื้อไวรัสพาร์อาร์เอส อายุ 3 สัปดาห์ จำนวน 75 ตัว ทำการแบ่งแบบสุ่มออกเป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มควบคุม (กลุ่มที่ไม่ได้รับเชื้อ) กลุ่มที่ 2 ได้รับเชื้อไวรัสพาร์อาร์เอส จากวัคซีนไวรัสเชื้อเป็นชนิดความรุนแรงต่ำ (LV; Resp PRRS/Repro™) ทางจมูก และกลุ่มที่ 3 ได้รับเชื้อไวรัสพาร์อาร์เอสชนิดความรุนแรงสูง (HV; VR-2385) ทางจมูก จากนั้นในวันที่ 3 7 10 14 และ 28 ภายหลังจากที่ได้รับเชื้อ ทำการสุ่มชั้นสุตรสุกรกลุ่มละ 5 ตัว เก็บชิ้นเนื้อเยื่อน้ำเหลือง ได้แก่ ม้าม ทอนซิล และต่อมน้ำเหลืองในโพรงมดลูก 10% นำชิ้นเนื้อมาผ่านขั้นตอนทางฮิสโตเทคนิค นำตัวอย่างชิ้นเนื้อที่ฝังอยู่ในพาราฟินมาตัดให้มีความหนา 5 ไมโครเมตร จากนั้นนำสไลด์ที่ได้มาผ่านการย้อมสี Hematoxylin & Eosin (H&E) และทำการศึกษาโดยกล้องจุลทรรศน์ต่อไป

การย้อมด้วยเทคนิคอิมมูโนฮิสโตเคมี

นำตัวอย่างชิ้นเนื้อเยื่อน้ำเหลืองที่ฝังอยู่ในพาราฟิน มาตัดให้มีความหนา 5 ไมโครเมตร นำมาทำการย้อมอิมมูโนฮิสโตเคมีด้วยวิธี Peroxidase Anti-peroxidase (PAP) โดยวางชิ้นเนื้อที่ตัดแล้วลงบนสไลด์ที่เคลือบด้วย 3-amino-propylthiosthoxy silane ทั้งสไลด์ให้แห้งที่อุณหภูมิ 45°C. 24 ชม. นำมาผ่านกระบวนการละลายพาราฟิน และเติมน้ำเข้าชิ้นเนื้อ (rehydration) ทำการ pretreatment โดยการย่อยด้วย 0.1% trypsin ที่อุณหภูมิ 37°C. 30 นาที แล้วล้างด้วย phosphate buffer saline 3 ครั้ง ครั้งละ 5 นาที ทำการ block endogenous peroxidase โดยใช้ 3% H₂O₂ ใน absolute methanol ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที ทำการ block nonspecific background โดย 10% bovine serum albumin (Fluka, Switzerland) ที่อุณหภูมิ 37°C. 45 นาที แล้วทำปฏิกิริยาต่อกับ polyclonal rabbit anti IFN-γ antibody (Endogen, Woburn, USA) ความเข้มข้น 10 (μl/ml หรือ monoclonal mouse anti swine nucleocapsid protein of PRRSV antibody (SDOW-17, USA) ความเข้มข้น 1:1000 ที่ 4°C. 12-14 ชม. และนำมาทำปฏิกิริยาต่อกับ universal immunoperoxidase polymer (Histofine Max PO, Nichirei, Japan) ที่อุณหภูมิห้อง 45 นาที จากนั้นทำให้เกิดสีด้วย 0.05% DAB (3,3'-diaminobenzidine

tetrehydrochloride) ใน 0.01 M Tris HCl, pH 7.6 (Sigma, USA) ย้อมทับด้วยสี Mayer's Hematoxylin ตรวจผลภายใต้กล้องจุลทรรศน์แสงสว่าง โดยนับที่กำลังขยาย 40x (high power field; HPF) นับจำนวน 20 HPF (ในกรณีที่พบเซลล์ที่ให้ผลบวกมากกว่า 20 เซลล์/HPF จะทำการนับเพียง 5 HPF) โดยนับจำนวนเซลล์ที่ให้ผลบวกต่อเชื้อไวรัสพาร์อาร์เอส (PRRSV positive cells) และนับเซลล์ที่ให้ผลบวกต่อแกมมาอินเตอร์เฟียร์อน (IFN- γ positive cells) โดยจำแนกชนิดตามรูปร่างว่าเป็นเซลล์ลิมโฟไซต์หรือมาโครฟาจ บันทึกเป็นค่าเฉลี่ยของจำนวนเซลล์ที่นับได้/HPF และแปลผลทางสถิติ

วิเคราะห์ผลทางสถิติ ด้วยวิธี multiple ANOVA ด้วยโปรแกรม SAS ในการวิเคราะห์ความแปรปรวนและเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มด้วย LSM (Least Square Mean) ที่ระดับความเชื่อมั่น $p < 0.05$

ผลการทดลอง

รอยโรคทางจุลพยาธิวิทยาที่เนื้อเยื่อน้ำเหลืองของสุกรที่ได้รับเชื้อไวรัสพาร์อาร์เอสต่างชนิด ดังแสดงในตารางที่ 1 พบว่าเชื้อไวรัสพาร์อาร์เอสทำให้เกิดรอยโรค lymphoid necrosis โดยจะพบภาวะ pyknotic basophilic nuclei และ karyorhexis debris รวมถึงทำให้เกิด polykaryocytic ของเซลล์เม็ดเลือดขาวภายใน germinal center โดยแบ่งระดับความรุนแรงของภาวะ lymphoid necrosis ในม้าม พบว่าภายหลัง 7 วันหลังได้รับเชื้อไม่พบรอยโรคใดทั้งในกลุ่มที่ได้รับเชื้อชนิดความรุนแรงต่ำ และกลุ่มที่ได้รับเชื้อชนิดความรุนแรงสูง พบรอยโรคเล็กน้อยในกลุ่มที่ได้รับเชื้อชนิดความรุนแรงสูงในวันที่ 10 ภายหลังได้รับเชื้อ และพบรอยโรคระดับเดียวกันในวันที่ 14 ภายหลังได้รับเชื้อของกลุ่มที่ได้รับเชื้อชนิดความรุนแรงต่ำ รวมถึงพบรอยโรคในระดับปานกลางในกลุ่มที่ได้รับเชื้อชนิดความรุนแรงสูงในวันที่ 14 ภายหลังได้รับเชื้อ ส่วนในวันที่ 28 ภายหลังได้รับเชื้อ พบรอยโรคในระดับปานกลางทั้งในกลุ่มที่ได้รับเชื้อชนิดความรุนแรงต่ำและกลุ่มที่ได้รับเชื้อชนิดความรุนแรงสูง และในช่วงเวลาเดียวกันภายหลังได้รับเชื้อ ลักษณะรอยโรคที่พบในต่อมน้ำเหลือง มีระดับความรุนแรงใกล้เคียงที่พบในม้าม ในขณะที่ทอนซิลพบรอยโรคเล็กน้อยในวันที่ 3 ภายหลังได้รับเชื้อของกลุ่มที่ได้รับเชื้อชนิดความรุนแรงสูง และพบรอยโรคเล็กน้อยเช่นกันในกลุ่มที่ได้รับเชื้อชนิดความรุนแรงต่ำในวันที่ 7 และ 10 ภายหลังได้รับเชื้อ ส่วนในกลุ่มที่ได้รับเชื้อชนิดความรุนแรงสูงจะเกิดรอยโรคที่มีความรุนแรงในระดับปานกลางในวันที่ 7 และ 10 ภายหลังได้รับเชื้อตาม

ลำดับ ในวันที่ 14 ภายหลังได้รับเชื้อพบรอยโรคระดับปานกลางทั้งในกลุ่มที่ได้รับเชื้อชนิดความรุนแรงต่ำและกลุ่มที่ได้รับเชื้อชนิดความรุนแรงสูง ในวันที่ 28 ภายหลังได้รับเชื้อทั้งในกลุ่มที่ได้รับเชื้อชนิดความรุนแรงต่ำและกลุ่มที่ได้รับเชื้อชนิดความรุนแรงสูง จะพบรอยโรคในระดับปานกลางถึงรุนแรงทั้ง 2 กรณี ส่วนในกลุ่มควบคุมไม่พบรอยโรคใดทั้งในม้ามและต่อมน้ำเหลือง แต่พบรอยโรคเล็กน้อยในทอนซิลของสัตว์บางตัวในวันที่ 14 และ 28

ผลการศึกษาปริมาณเซลล์ที่ให้ผลบวกต่อเชื้อไวรัสพาร์อาร์เอส ดังแสดงในตารางที่ 2 ปริมาณเซลล์ที่ให้ผลบวกต่อเชื้อไวรัสพาร์อาร์เอสในกลุ่มที่ได้รับเชื้อชนิดความรุนแรงสูงเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ที่ 14 วันภายหลังจากได้รับเชื้อ ทั้งในม้าม ต่อมน้ำเหลือง และทอนซิล (15.84 ± 1.90 , 12.40 ± 1.38 และ 8.40 ± 0.95 ตามลำดับ) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับเชื้อชนิดความรุนแรงต่ำ

ผลการศึกษาปริมาณเซลล์ที่ให้ผลบวกต่อแกมมาอินเตอร์เฟียร์อนในเนื้อเยื่อน้ำเหลือง ดังแสดงในตารางที่ 3 ปริมาณเซลล์ที่ให้ผลบวกต่อแกมมาอินเตอร์เฟียร์อน โดยนับแยกชนิดของเซลล์เป็นลิมโฟไซต์และมาโครฟาจ ในม้ามพบว่าปริมาณเซลล์ที่ให้ผลบวกต่อแกมมาอินเตอร์เฟียร์อนเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ที่ 14 วันภายหลังได้รับเชื้อ (19.61 ± 0.61 , 0.38 ± 0.47 และ 0 ± 0.53 ตามลำดับ) และที่ 28 วันภายหลังได้รับเชื้อ (2.78 ± 0.53 , 0.47 ± 0.53 และ 0.06 ± 0.47 ตามลำดับ) ต่อมน้ำเหลืองจะพบปริมาณเซลล์ที่ให้ผลบวกต่อแกมมาอินเตอร์เฟียร์อนที่ 14 วันภายหลังได้รับเชื้อในกลุ่มที่ได้รับเชื้อชนิดความรุนแรงสูง กลุ่มที่ได้รับเชื้อชนิดความรุนแรงต่ำ และกลุ่มควบคุมเป็น 26.40 ± 1.18 , 0.94 ± 1.18 และ 0.20 ± 1.32 ตามลำดับ ซึ่งเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ทอนซิลให้ผลเช่นเดียวกับต่อมน้ำเหลืองพบปริมาณเซลล์ที่ให้ผลบวกต่อแกมมาอินเตอร์เฟียร์อนที่ 14 วันภายหลังได้รับเชื้อเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในกลุ่มที่ได้รับเชื้อชนิดความรุนแรงสูงเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับเชื้อชนิดความรุนแรงต่ำและกลุ่มควบคุม (26.22 ± 1.49 , 0.92 ± 1.42 และ 0.13 ± 1.67 ตามลำดับ)

ตารางที่ 1 แสดงรอยโรคทางจุลพยาธิวิทยา lymphoid necrosis ที่เนื้อเยื่อน้ำเหลืองของสุกรที่ติดเชื้อไวรัสพอร์อาร์เอสต่างชนิด

วันที่ชันสูตร	กลุ่มควบคุม	กลุ่ม LV	กลุ่ม HV
ม้าม			
3 DPI	NRL	NRL	NRL
7 DPI	NRL	NRL	NRL
10 DPI	NRL	NRL	Mild
14 DPI	NRL	Mild	Moderate
28 DPI	NRL	Moderate	Moderate
ต่อมน้ำเหลือง			
3 DPI	NRL	NRL	NRL
7 DPI	NRL	NRL	NRL
10 DPI	NRL	NRL	Mild
14 DPI	NRL	Mild	Moderate
28 DPI	NRL	Moderate	Moderate
ทอนซิล			
3 DPI	NRL	NRL	Mild
7 DPI	NRL	Mild	Moderate
10 DPI	NRL	Mild	Moderate
14 DPI	Mild	Moderate	Moderate
28 DPI	Mild	Moderate	Moderate

DPI : วันภายหลังได้รับเชื้อ, LV: กลุ่มที่ได้รับเชื้อชนิดความรุนแรงต่ำ, HV: กลุ่มที่ได้รับเชื้อชนิดความรุนแรงสูง
 NRL (no remarkable lesion): เนื้อเยื่อน้ำเหลืองปกติ, Mild: รอยโรค lymphoid necrosis เป็นบริเวณน้อยกว่าร้อยละ 50 ของ germinal center, Moderate: รอยโรค lymphoid necrosis เป็นบริเวณร้อยละ 50-75 ของ germinal center, Severe: รอยโรค lymphoid necrosis เป็นบริเวณมากกว่าร้อยละ 75 ของ germinal center

ตารางที่ 2 แสดงปริมาณเซลล์ที่ให้ผลบวกต่อเชื้อไวรัสพาร์อาร์เอส (PRRSV positive cells) ที่เนื้อเยื่อ น้ำเหลืองของสุกรที่ติดเชื้อไวรัสพาร์อาร์เอสต่างชนิด

วันที่ชันสูตร	กลุ่มควบคุม	กลุ่ม LV	กลุ่ม HV
ม้าม			
3 DPI	0.03±1.90	0.38±1.90	0.27±2.12
7 DPI	0.01±1.90	0.02±1.90	0.26±1.90
10 DPI	0.02±1.90	0.01±1.90	0.11±1.90
14 DPI	0.09±1.90 ^a	0.11±1.90 ^a	15.84±1.90 ^b
28 DPI	0.07±1.90	0.19±1.90	0.55±2.12
ต่อมน้ำเหลือง			
3 DPI	1.05±1.38	0.79±1.38	0.66±1.54
7 DPI	0.03±1.38	0.06±1.38	0.33±1.38
10 DPI	0.34±1.38	0.30±1.38	0.25±1.38
14 DPI	0.12±0.38 ^a	1.36±1.38 ^a	12.40±1.38 ^b
28 DPI	0.11±1.38	0.24±1.38	0.30±1.38
ทอนซิล			
3 DPI	0.31±0.95	1.04±0.95	0.75±1.06
7 DPI	0.02±0.95	0.05±0.95	0.17±0.95
10 DPI	0.38±0.95	0.60±0.95	0.55±0.95
14 DPI	0.14±0.95 ^a	1.73±0.95 ^a	8.40±0.95 ^b
28 DPI	0.11±0.95	0.65±0.95	0.86±1.22

*บันทึกผลเป็นค่าเฉลี่ยของจำนวนเซลล์ที่นับได้/HPF (X±SD, n=5)

^{a,b}มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ในแถวเดียวกัน ดูรายละเอียดจากตารางที่ 1

ตารางที่ 3 แสดงปริมาณเซลล์ที่ให้ผลบวกต่อแกมมาอินเตอร์เฟียรอน (IFN- γ positive cells) ที่เนื้อเยื่อน้ำเหลืองของสุกรที่ติดเชื้อไวรัสพอร์อาร์เอสต่างชนิด

ม้าม

เซลล์	กลุ่มควบคุม	กลุ่ม LV	กลุ่ม HV
มาโครฟาจ			
3 DPI	0.10 $\pm$ 0.28	0.04 $\pm$ 0.28	0.15 $\pm$ 0.28
7 DPI	0.06 $\pm$ 0.28	0.11 $\pm$ 0.28	0.39 $\pm$ 0.28
10 DPI	0.05 $\pm$ 0.28	0 $\pm$ 0.32	0.20 $\pm$ 0.36
14 DPI	0 $\pm$ 0.32 ^a	0.11 $\pm$ 0.28 ^a	10.33 $\pm$ 0.36 ^b
28 DPI	0.01 $\pm$ 0.28 ^a	0.20 $\pm$ 0.32 ^{ab}	1.07 $\pm$ 0.32 ^a
ลิมโฟไซต์			
3 DPI	0.02 $\pm$ 0.19	0.06 $\pm$ 0.19	0.18 $\pm$ 0.19
7 DPI	0.07 $\pm$ 0.19	0.09 $\pm$ 0.19	0.52 $\pm$ 0.19
10 DPI	0.02 $\pm$ 0.19	0.03 $\pm$ 0.22	0.26 $\pm$ 0.25
14 DPI	0 $\pm$ 0.22 ^a	0.27 $\pm$ 0.19 ^a	9.28 $\pm$ 0.25 ^b
28 DPI	0.05 $\pm$ 0.19 ^a	0.27 $\pm$ 0.22 ^a	1.71 $\pm$ 0.22 ^b
รวม			
3 DPI	0.12 $\pm$ 0.47	0.82 $\pm$ 0.47	0.33 $\pm$ 0.47
7 DPI	0.13 $\pm$ 0.47	0.20 $\pm$ 0.47	0.91 $\pm$ 0.47
10 DPI	0.07 $\pm$ 0.47	0.03 $\pm$ 0.53	0.46 $\pm$ 0.61
14 DPI	0 $\pm$ 0.53 ^a	0.38 $\pm$ 0.47 ^a	19.61 $\pm$ 0.61 ^b
28 DPI	0.06 $\pm$ 0.47 ^a	0.47 $\pm$ 0.53 ^a	2.78 $\pm$ 0.53 ^b

ดูรายละเอียดจากตารางที่ 1 และ 2

ต่อมน้ำเหลือง

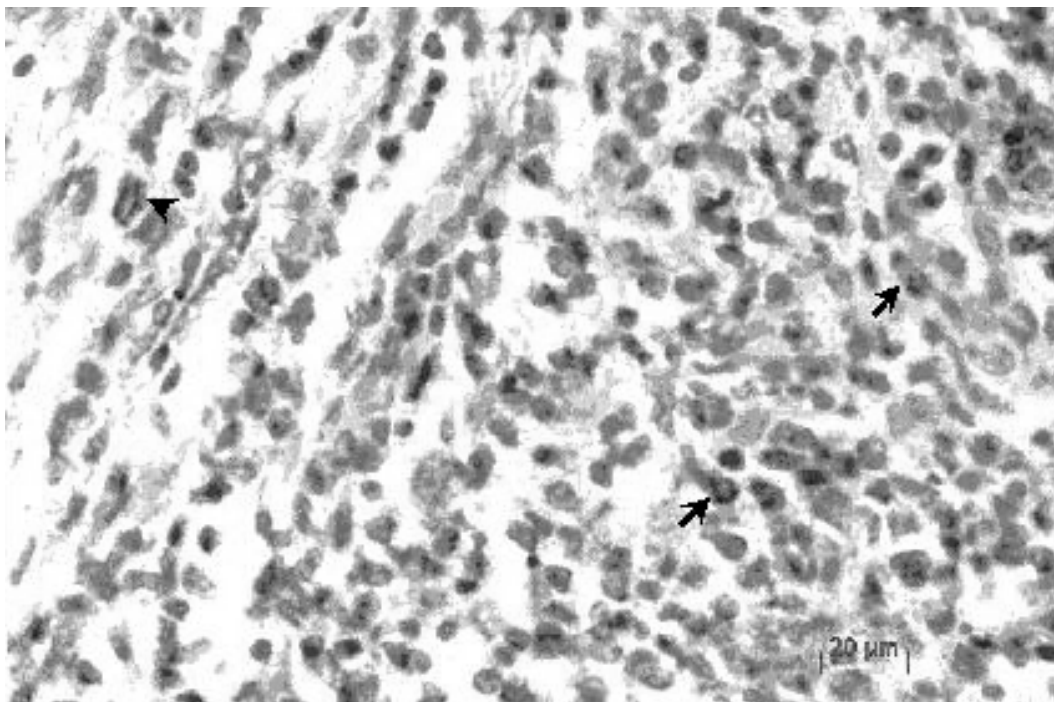
	เซลล์	กลุ่มควบคุม	กลุ่ม LV	กลุ่ม HV
มาโครฟาจ				
	3 DPI	0.07±0.72	0.04±0.72	0.02±0.72
	7 DPI	0.01±0.72	0.06±0.72	0.28±0.72
	10 DPI	0.07±0.72	0.02±0.72	0.15±0.93
	14 DPI	0.12±0.80 ^a	0.40±0.72 ^a	14.76±0.72 ^b
	28 DPI	0.12±0.72	0.99±0.72	0.87±0.72
ลิมโฟไซต์				
	3 DPI	0.05±0.51	0.10±0.51	0.07±0.51
	7 DPI	0±0.51	0.28±0.51	0.40±0.51
	10 DPI	0.12±0.51	0.01±0.51	0.35±0.66
	14 DPI	0.07±0.57 ^a	0.54±0.51 ^a	11.64±0.51 ^b
	28 DPI	0.40±0.51	0.91±0.51	1.12±0.51
รวม				
	3 DPI	0.12±1.18	0.14±1.18	0.09±1.18
	7 DPI	0.01±1.18	0.34±1.18	0.08±1.18
	10 DPI	0.19±1.18	0.03±1.18	0.50±1.53
	14 DPI	0.20±1.32 ^a	0.94±1.18 ^a	26.40±1.18 ^b
	28 DPI	0.52±1.18	1.90±1.18	1.99±1.18

ดูรายละเอียดจากตารางที่ 1 และ 2

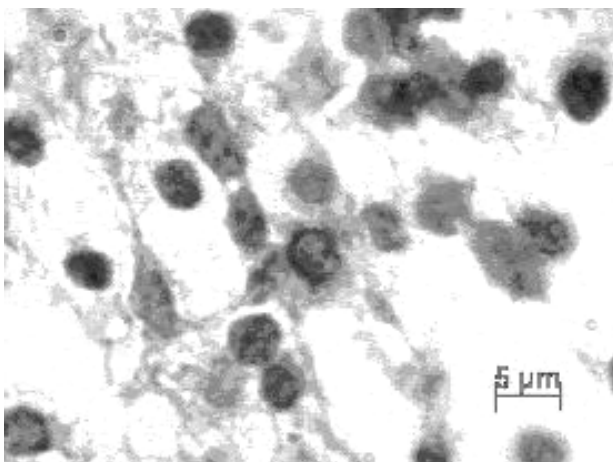
ทอนซิล

	เซลล์	กลุ่มควบคุม	กลุ่ม LV	กลุ่ม HV
มาโครฟาจ				
	3 DPI	0±0.89	0.01±0.89	0.03±0.89
	7 DPI	0.01±1.00	0.11±0.89	0.46±0.89
	10 DPI	0.03±0.89	0.03±0.89	0.16±1.15
	14 DPI	0.08±1.00 ^a	0.46±0.89 ^a	16.80±0.89 ^b
	28 DPI	0.07±0.89	1.12±0.89	0.96±1.15
ลิมโฟไซต์				
	3 DPI	0.04±0.73	0.03±0.73	0.07±0.73
	7 DPI	0.09±0.73	0.33±0.73	0.63±0.81
	10 DPI	0.15±0.73	0.08±0.73	0.30±0.93
	14 DPI	0.05±0.81 ^a	0.66±0.73 ^a	9.42±0.73 ^b
	28 DPI	0.21±0.73	1.42±0.73	1.05±0.94
รวม				
	3 DPI	0.04±1.49	0.04±1.49	0.10±1.49
	7 DPI	0.10±1.49	0.44±1.49	0.97±1.49
	10 DPI	0.15±1.49	0.11±1.49	0.46±1.93
	14 DPI	0.13±1.67 ^a	0.92±1.42 ^a	26.22±1.49 ^b
	28 DPI	0.21±1.49	2.54±1.49	2.01±1.93

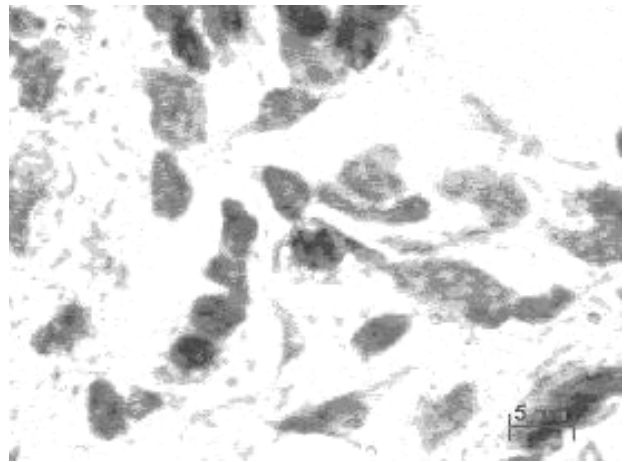
ดูรายละเอียดจากตารางที่ 1 และ 2



รูปที่ 1



รูปที่ 2



รูปที่ 3

- รูปที่ 1** แสดงภาพเซลล์มาโครฟาจ (หัวลูกศร) และลิมโฟไซต์ (ลูกศร) ในต่อมน้ำเหลืองที่ให้ผลบวกต่อแกมมาอินเตอร์เฟอรอน (interferon gamma positive cells) พบเซลล์ติดสีน้ำตาล, ABC method, ย้อมทับด้วยสี Mayer's hematoxylin
- รูปที่ 2** แสดงภาพเซลล์ลิมโฟไซต์ในทอนซิลที่ให้ผลบวกต่อแกมมาอินเตอร์เฟอรอน, ABC method, ย้อมทับด้วยสี Mayer's hematoxylin
- รูปที่ 3** แสดงภาพเซลล์ลิมโฟไซต์ในม้ามที่ให้ผลบวกต่อแกมมาอินเตอร์เฟอรอน, ABC method, ย้อมทับด้วยสี Mayer's hematoxylin

วิจารณ์

จากผลการศึกษารอยโรคทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อน้ำเหลืองของสุกรทดลองพบว่า รอยโรคของกลุ่ม HV (VR-2385) มีความรุนแรงกว่าในกลุ่ม LV (Resp.PRRS/Repro™) สอดคล้องกับผลการศึกษารอยโรคในปอดสุกรของ Thanawongnuwech และคณะ (2003) เนื่องจากเชื้อไวรัสชนิดความรุนแรงต่ำมีความสามารถในการเพิ่มจำนวนในตัวของสุกรได้ช้ากว่าไวรัสชนิดความรุนแรงสูง ม้ามและต่อมน้ำเหลืองของสุกรในกลุ่ม HV พบรอยโรคทางจุลพยาธิวิทยา รุนแรงกว่าสุกรในกลุ่ม LV และมีรอยโรครุนแรงที่สุดที่ 14 และ 28 วันภายหลังได้รับเชื้อ ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Rossow และคณะ (1995) ซึ่งรายงานพบรอยโรคของต่อมน้ำเหลืองมีความรุนแรงที่สุดที่ 14 และ 21 วันภายหลังได้รับเชื้อไวรัสพาร์อาร์เอส เนื่องจากเชื้อไวรัสพาร์อาร์เอสจะเข้าไปเพิ่มจำนวนในทอนซิลก่อนแล้วจึงกระจายไปตามกระแสเลือด หลังจากนั้นจึงจะเคลื่อนตัวเข้าไปเพิ่มจำนวนในม้ามและต่อมน้ำเหลือง ทอนซิลของสุกรในกลุ่ม HV จะพบรอยโรคทางจุลพยาธิวิทยารุนแรงที่สุดตั้งแต่วันที่ 7 ภายหลังได้รับเชื้อ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากเมื่อได้รับเชื้อไวรัสพาร์อาร์เอสเข้าทางจมูก เชื้อจะเข้าไปเพิ่มจำนวนที่ทอนซิลเป็นอันดับแรก และกระจายไปตามกระแสเลือด แล้วจึงเข้าสู่ระบบน้ำเหลืองต่อไป ในกรณีที่พบว่าทอนซิลของสุกรในกลุ่มควบคุมที่ 14 และ 28 วันภายหลังได้รับเชื้อมีรอยโรคทางจุลพยาธิวิทยาเล็กน้อย ทั้งนี้อาจเนื่องจากรอยโรคที่เป็น polykaryocyte ที่พบใน lymphoid necrosis อาจเกิดมาจากการกระตุ้นทางระบบภูมิคุ้มกันอื่นๆ มาก่อน ซึ่งได้ผลคล้ายคลึงกับรายงานของ Rossow และคณะ (1995) รวมถึงเมื่อได้รับไวรัสเข้าทางจมูก ทอนซิลจะเป็นอวัยวะแรกที่มีปฏิกิริยาตอบสนองทางระบบภูมิคุ้มกัน อย่างไรก็ตาม รอยโรคที่พบเป็นรอยโรคที่ไม่จำเพาะต่อไวรัสพาร์อาร์เอส

จำนวนเซลล์ที่ให้ผลบวกต่อไวรัสพาร์อาร์เอสในกลุ่ม HV จะเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ 14 วันภายหลังได้รับเชื้อทั้งในม้าม ทอนซิล และต่อมน้ำเหลือง และพบว่าจำนวนเซลล์ที่ให้ผลบวกต่อเชื้อไวรัสพาร์อาร์เอสมากที่สุดที่ 14 วัน ภายหลังได้รับเชื้อซึ่งเป็นวันที่มีความรุนแรงของรอยโรคที่เนื้อเยื่อน้ำเหลืองมากที่สุดสอดคล้องกับรายงานของ Rossow และคณะ (1995) ที่กล่าวว่า มักพบเซลล์ที่ให้ผลบวกต่อไวรัสจำนวนมากในตำแหน่งที่มีรอยโรครุนแรง ในขณะที่ปริมาณเซลล์ที่ให้ผลบวกต่อไวรัสพาร์อาร์เอสในปอดพบสูง

ที่สุดในวันที่ 10 (Halbur et al., 1995)

โดยปกติแล้ว แกมมาอินเตอร์เฟียรอนถูกสร้างจากลิมโฟไซตชนิด Th1 เช่น CD8⁺ T cells หรือ NK cells ส่วนเซลล์มาโครฟาจจะไม่สร้างแกมมาอินเตอร์เฟียรอน (Tizard, 2000) แต่จากการศึกษาในครั้งนี้พบเซลล์ที่ให้ผลบวกต่อแกมมาอินเตอร์เฟียรอน (IFN- γ positive cells) ทั้งในเซลล์ลิมโฟไซตและมาโครฟาจเช่นเดียวกับรายงานในอดีต (Thanawongnuwech et al., 2003) ที่ตรวจพบการสร้างแกมมาอินเตอร์เฟียรอนจากเซลล์ดังกล่าวในปอดสุกรที่ติดเชื้อไวรัสพาร์อาร์เอส อาจเนื่องมาจากแกมมาอินเตอร์เฟียรอนอาจไปจับบนตัวรับ (receptor) บนเซลล์มาโครฟาจ เพื่อกระตุ้นการทำงาน หรืออาจเกิดจากแอนติบอดีที่นำมาใช้ในการศึกษาครั้งนี้เป็นชนิด IFN- γ polyclonal antibody ที่อาจมีผลต่ออินเตอร์เฟียรอนชนิดอื่นที่สร้างจากเซลล์มาโครฟาจ เช่น IFN- α (Van Reeth et al., 1999)

จำนวนเซลล์ที่ให้ผลบวกต่อแกมมาอินเตอร์เฟียรอนในกลุ่ม HV มีปริมาณเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทั้งนี้เนื่องมาจากแกมมาอินเตอร์เฟียรอนจะถูกสร้างออกมาภายหลังจากที่สุกรได้รับเชื้อไวรัสพาร์อาร์เอส การสร้างแกมมาอินเตอร์เฟียรอนจะเพิ่มขึ้นโดยการกระตุ้นจากไซโตไคน์ที่หลังจากเซลล์มาโครฟาจ โดยเฉพาะ TNF- α และ IL-12 (Trinchieri, 1995) รวมทั้งจากการกระตุ้นของตัวแกมมาอินเตอร์เฟียรอนเอง (Bernard et al., 1996) จากการศึกษาครั้งนี้พบว่า จำนวนเซลล์ที่ให้ผลบวกต่อแกมมาอินเตอร์เฟียรอนพบมากที่สุดที่ 14 วันภายหลังได้รับเชื้อในกลุ่มที่ได้รับเชื้อชนิดความรุนแรงสูง ซึ่งเป็นวันที่มีความรุนแรงของรอยโรคของเนื้อเยื่อน้ำเหลือง และมีเซลล์ที่ให้ผลบวกต่อเชื้อไวรัสพาร์อาร์เอส มากที่สุด และสอดคล้องกับการทดลองของ Thanawongnuwech และคณะ (2003) ที่พบว่า แกมมาอินเตอร์เฟียรอนที่ปอดถูกสร้างมากที่สุดที่ 10 วันภายหลังได้รับเชื้อ ซึ่งเป็นวันที่มีความรุนแรงของรอยโรคทางจุลพยาธิวิทยาที่ปอดมากที่สุด อาจกล่าวได้ว่าปริมาณแกมมาอินเตอร์เฟียรอนที่เพิ่มขึ้นมีผลโดยตรงกับความรุนแรงของรอยโรคในเนื้อเยื่อนั้นๆ

พยาธิกำเนิดของโรคน่าจะเริ่มจาก เมื่อเชื้อไวรัสพาร์อาร์เอสเข้าสู่ร่างกายแล้ว จะมีการเพิ่มจำนวนครั้งแรกในเนื้อเยื่อน้ำเหลืองเฉพาะที่เช่นในโพรงจมูก ก่อนที่จะมีการติดเชื้อภายในมาโครฟาจที่ปอด ดังจะเห็นได้จากการพบเซลล์ที่ให้ผลบวกต่อเชื้อไวรัสพาร์อาร์เอสในปอดสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ 10 DPI ตามการทดลองของ Thanawongnuwech และคณะ (2003) แล้วเชื้อไวรัส

พรีอาร์เอสจึงกระจายเข้าสู่เนื้อเยื่อน้ำเหลือง เช่น ม้าม ต่อม น้ำเหลือง และทอนซิล ซึ่งจะพบปริมาณเซลล์ที่ให้ผลบวกต่อเชื้อไวรัสพรีอาร์เอสสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ 14 DPI ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Cheon และ Chae (1999) ที่ได้ทำการศึกษาการกระจายของเชื้อไวรัสพรีอาร์เอสในสุกรทดลอง โดยวิธี อิมมูโนฮิสโตเคมี และ *in situ* hybridization ซึ่งพบสุกรที่ให้ผลบวกต่อเชื้อไวรัสพรีอาร์เอสในปอดตั้งแต่ 1 DPI หลังจากนั้นจึงพบสุกรที่ให้ผลบวกต่อเชื้อไวรัสพรีอาร์เอสในม้าม ต่อม น้ำเหลือง และทอนซิลที่ 3 DPI

เมื่อทำการศึกษาเปรียบเทียบเซลล์ที่ให้ผลบวกต่อเชื้อไวรัสพรีอาร์เอส และเซลล์ที่ให้ผลบวกต่อแกมมาอินเตอร์เฟียรอนในแต่ละเนื้อเยื่ออวัยวะสร้างน้ำเหลืองพบว่า ในม้ามจะพบเซลล์ที่ให้ผลบวกต่อแกมมาอินเตอร์เฟียรอนสูงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ 14 และ 28 วันภายหลังได้รับเชื้อในกลุ่มเชื้อชนิดความรุนแรงสูง น่าจะเกิดจากในม้ามพบเซลล์ที่ให้ผลบวกต่อไวรัสพรีอาร์เอสมากที่สุด เมื่อเทียบกับจำนวนเซลล์ที่ให้ผลบวกต่อเชื้อไวรัสพรีอาร์เอสในทอนซิล และต่อมน้ำเหลือง ส่วนในทอนซิลและต่อมน้ำเหลืองจะมีทั้งปริมาณเซลล์ที่ให้ผลบวกต่อเชื้อไวรัสพรีอาร์เอสและแกมมาอินเตอร์เฟียรอน สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ 14 วันภายหลังได้รับเชื้อไวรัสในกลุ่มที่ได้รับเชื้อชนิดความรุนแรงสูงควบคู่กัน และพบว่าเซลล์ที่ให้ผลบวกจะลดลงที่ 28 วันภายหลังได้รับเชื้อ เนื่องจากการเพิ่มขึ้นของแกมมาอินเตอร์เฟียรอนร่วมกับ pro-inflammatory cytokines ตัวอื่นที่มีผลยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเชื้อไวรัสพรีอาร์เอสในทอนซิล และต่อมน้ำเหลืองตามการศึกษาของ Roland และ Robinson (2001) และสอดคล้องกับรายงานของ Thanawongnuwech และคณะ (2003) ในปอดสุกรที่พบว่าแกมมาอินเตอร์เฟียรอนที่ถูกสร้างเพิ่มมากขึ้นในปอดสุกรที่ 10 วันภายหลังจากได้รับเชื้อ มีผลในการยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเชื้อไวรัสพรีอาร์เอสในปอดสุกรได้เช่นเดียวกัน ซึ่งสรุปได้ว่าเมื่อสุกรได้รับเชื้อไวรัสพรีอาร์เอส เชื้อจะไปเพิ่มจำนวนที่ปอดก่อน แล้วจึงเข้าสู่ระบบน้ำเหลืองและกระแสเลือด จึงทำให้พบปริมาณเซลล์ที่ให้ผลบวกต่อแกมมาอินเตอร์เฟียรอนที่ตอบสนองการติดเชื้อไวรัสพรีอาร์เอสในปอดได้เร็วกว่าในเนื้อเยื่อน้ำเหลือง

ผลจากการศึกษาในครั้งนี้สรุปได้ว่า แกมมาอินเตอร์เฟียรอนมีผลในการยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเชื้อไวรัสพรีอาร์เอสในเนื้อเยื่ออวัยวะสร้างน้ำเหลืองสุกรในระดับหนึ่ง โดยปริมาณของแกมมาอินเตอร์เฟียรอนที่เพิ่มขึ้น อาจ

เนื่องจากการคงอยู่ของไวรัสพรีอาร์เอสในเนื้อเยื่อนั้นๆ และมีผลเหนี่ยวนำให้เกิดพยาธิสภาพหรือรอยโรคขึ้นในเนื้อเยื่อที่พบแอนติเจนของไวรัสพรีอาร์เอส ซึ่งการสร้างแกมมาอินเตอร์เฟียรอนในสุกรที่ติดเชื้อไวรัสพรีอาร์เอสน่าจะมีบทบาทสำคัญต่อการควบคุมเชื้อไวรัสพรีอาร์เอสภายในตัวสุกรต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณโครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมทักษะการวิจัย คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2546 ผศ. สพ.ญ.ดร.สันนิภา สุรทัตต์ สำหรับคำแนะนำและคำปรึกษา ผศ.น.สพ. ดร.เผด็จ ธรรมรักษ์ ภาควิชาสัตวศาสตร์ เชนูเวชวิทยาและวิทยาการสืบพันธุ์ สำหรับงานด้านสถิติ และเจ้าหน้าที่ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เอกสารอ้างอิง

- Bautista, E.M., Molitor, T.M. 1997. Cell-mediated immunity to porcine reproductive and respiratory syndrome virus in swine. *Viral Immunol.* 10: 83-94.
- Bautista, E.M., Molitor, T.M. 1999. IFN-(inhibit porcine reproductive and respiratory syndrome virus replicate in macrophages. *Arch. Virol.* 144: 1191-1200.
- Bernard, N.F., David, M.K. and Peter, M.H. 1996. Role of cytokines in virus infections in the contact organism. In: *Virology Vol1.* 3rd ed. Lippincott-Raven. Maryland. 378-391,1113-1114.
- Cavanagh, D. 1997. Nidovirales: a new order comprising Coronaviridae and Arteriviridae. *Arch. Virol.* 86: 11-21.
- Cheon, D.S. and Chae, C. 1999. Distribution of a Korean strain of PRRSV in experimentally infected pigs, as demonstrated Immunohistochemically and by In-situ hybridization. *J. Comp. Path.* 120: 79-88.
- Christianson, W.T., Collons, J.E., Benfield, D.A., Harris, L., Gorcyca, D.E., Chladek, D.W., Robinson, R.B. and Joo, H.S. 1992. Experimental reproduction of swine infertility and respiratory syndrome in pregnant sows. *Am. J. Vet. Res.* 53: 485-488.

- Gorcyca, D.M., Sprank, G., Mirrison, R. and Polson, D. 1995. Field evaluation of a new MLV PRRS virus vaccine: application for PRRS prevention and control in swine herds. Proc. 26th Annual Meeting Am. Assoc. Swine Pract., Omaha, NE. p 401-403.
- Halbur, P.G., Miller, L.D., Paul, P.S., Meng, X.J., Huffman, E.L. and Andrew, J.J. 1995. Immunohistochemical identification of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) antigen in the heart and lymphoid system of three-week-old colostrum-derived pigs. *Vet. Pathol.* 32: 200-204.
- Halbur, P.G., Paul, P.S., Frey, M.L., Landgraf, J., Eernisse, K., Meng, X.J., Andrew, J.J., Lum, M.A. and Rathje, J.A. 1996. Comparison of the antigen distribution of two US porcine reproductive and respiratory syndrome virus isolation with that of the Lelystad virus. *Vet. Pathol.* 33: 159-170.
- Meier, W., Zuckermann, F., Osorio, F., Husmann, R., Schwartz, E. and Brandt, J. 1997. Comparative analysis of the cell-mediated immunity responses of pigs to vaccination against PRRSV or Pseudorabies virus. Proceedings of the 78th Annual Meeting Conference Research Workers Animal Disease, Chicago, IL. P. 215
- Rossow, K.D., Bautista, E.M., Goyal, S.M., Molitor, T.W., Murtaugh, M.P., Morrison, R.B., Benfield, D.A. and Collin, J.E. 1994. Experimental porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection on one-, four- and 10 weeks-old pigs. *J. Vet. Diagn. Invest.* 6:3-12.
- Rossow, K.D., Collin, J.E., Goyal, S.M., Christopher-Hennings, J. and Benfield, D.A. 1995. Pathogenesis of porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection in gnotobiotic pigs. *Vet. Pathol.* 32: 361-363.
- Rossow, K.D., Benfield, D.A., Goyal, S.M., Nelson, E.A., Christopher-Hennings, J. and Collin, J.E. 1996. Chronological immunohistochemical detection and localization of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in gnotobiotic pigs. *Vet. Pathol.* 33: 551-556.
- Rossow, K.D. 1998. Review article: porcine reproductive and respiratory syndrome. *Vet. Pathol.* 35: 1-20.
- Rowland, R.R. and Robinson, B. 2001. Inhibition of porcine reproductive and respiratory syndrome virus by interferon-gamma and recovery of virus replication with 2-aminopurine. *Arch. Virol.* 146: 539-555.
- Thanawongnuwech, R., Halbur, P.G., Arckermann, M.R., Thacker, E.L. and Roger, R.L. 1998. Effect of low and high-virulence strains of porcine reproductive and respiratory syndrome virus on pulmonary clearance of copper particles in pigs. *Vet. Pathol.* 35: 388-406.
- Thanawongnuwech, R., Brown, G.B., Halbur, P.G., Roth, J.A., Roger, R.L. and Thacker, E.L. 2000. Pathogenesis of porcine reproductive and respiratory syndrome virus-induced increase in susceptibility to *Streptococcus suis* infection. *Vet. Pathol.* 37: 143-152.
- Thanawongnuwech, R., Rungsipipat, A., Disatian, S., Saiyasombat, R., Napakanaporn, S. and Halbur, P.G. 2003. Immunohistochemical staining of IFN- γ positive cells in porcine reproductive and respiratory syndrome virus-infected lungs. *Vet. Immunol. Immunopath.* 91: 73-77.
- Tizard, I.R. 2000. Cytokines and immune system. In: *Veterinary Immunology*. 6th edition. Philadelphia . W.B. Saunders. 127-138
- Trinchieri, G. 1995. Interleukin-12: a proinflammatory cytokine with immunoregulatory functions that bridge innate resistance and antigen-specific additive immunity. *Annu. Rev. Immunol.* 13: 251-276.
- Van Reeth, K., Labarque, G., Nauwynck, H. and Pensert, M. 1999. Differential production of proinflammatory cytokines in the pig lung during different respiratory virus infections: correlations with pathogenicity. *Res. Vet. Sci.* 67: 47-52.
- Van Reeth, K. and Nauwynck, H. 2000. Proinflammatory cytokines and viral respiratory disease in pigs. *Vet. Res.* 31: 187-213.