

บทวิจารณ์

การศึกษา **Genome-wide DNA methylation** โดยใช้ **repetitive sequences**

จากรายงานการศึกษาที่ผ่านมาพบว่า การเกิด Genome-wide DNA hypomethylation บริเวณ repetitive sequences เป็นปรากฏการณ์ที่สำคัญในการเกิดโรคมะเร็งชนิดต่างๆ (12) ภายหลังเริ่มมีรายงานว่าภาวะ Genome-wide DNA hypomethylation เป็นกลไกที่สำคัญในการเกิดโรคลุ่่มโรคภูมิคุ้มกันต้านทานเนื้อเยื่อตนเอง เช่น SLE, inflammatory arthritis (13) (14)(15) (16) การศึกษาในครั้งนี้เป็นการศึกษาแรกที่พบว่ามีการเกิด Genome-wide DNA hypomethylation บริเวณ LINE-1 ซึ่งเป็น repetitive sequences ของเซลล์หนังกำพร้าและเม็ดเลือดขาวของผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงินซึ่งเป็นโรคภูมิคุ้มกันต้านทานเนื้อเยื่อตนเอง อย่างไรก็ตามก็ยังมีรายงานก่อนหน้านี้โดย Zhang P รายงานว่าพบ Genome-wide DNA hypermethylation ในเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด PBMC ในโรคสะเก็ดเงิน และเซลล์ผิวหนังของผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงิน (17) ซึ่งผลที่ได้แตกต่างจากการศึกษาในครั้งนี้ อาจเป็นไปได้ว่า ผลที่แตกต่างอาจเนื่องมาจากการศึกษาระดับ Genome-wide DNA methylation ต่างกัน การศึกษาของ Zhang P ใช้ methylamp Global DNA methylation quantification kit สำหรับการวัดระดับ Genome-wide DNA methylation ของเซลล์เม็ดเลือดขาว และใช้วิธี immunohistochemistry with anti-5 methylcytosine antibody สำหรับเซลล์ผิวหนัง ในขณะที่การศึกษาในครั้งนี้วัดระดับ Genome-wide DNA methylation โดยศึกษาการเกิด methylation บริเวณ repetitive sequences คือ LINE-1 ซึ่งเป็นวิธีที่มีรายงานการศึกษาแล้วหลายรายงานในโรคมะเร็งหลายชนิดและพบว่ามีความเกี่ยวข้องกับพยากรณ์โรคของโรคมะเร็งหลายชนิด

อย่างไรก็ตามยังคงต้องการการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อให้ทราบถึงกลไกการเกิด LINE-1 methylation รวมถึงผลของยีนที่มี LINE-1 แทรกหรือควบคุมอยู่เพื่อศึกษาผลของการเกิด LINE-1 methylation ในโรคสะเก็ดเงินต่อไป การศึกษาในครั้งนี้จึงนับว่ามีความสำคัญในการบ่งชี้ความรู้ใหม่ของผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงิน และอาจนำไปสู่ความเข้าใจในพยาธิกำเนิดของโรคเพิ่มขึ้น และอาจพัฒนาไปสู่การรักษาแบบใหม่ๆต่อไป

การศึกษายีน ID4

parakeratosis เป็นภาวะที่มีการเหลืออยู่ของนิวเคลียสของเซลล์หนังกำพร้าชั้นบน (stratum corneum) ซึ่งก่อให้เกิดสะเก็ดที่ผื่นเมื่อมองด้วยตาเปล่า การเกิด parakeratosis เป็นขบวนการสำคัญในการเกิดโรคทางผิวหนังหลายโรคโดยเฉพาะโรคสะเก็ดเงิน จากการศึกษาในครั้งนี้พบว่า การเกิด parakeratosis เกี่ยวข้องกับการลดลงของการแสดงออกของโปรตีน ID4 (identification of differentiation 4) ใน parakeratotic nucleus เนื่องจากยีน ID4 เป็นยีนที่มีรายงานว่ามีความสำคัญในการควบคุมการแบ่งเซลล์และการพัฒนาเซลล์ (proliferation and differentiation) หลายชนิด (18) (19) และยังสำคัญกับการเกิดโรคหลายโรคโดยเฉพาะโรคมะเร็งต่างๆ (20, 21) การลดลงของการแสดงออกของยีน ID4 จึงน่าจะมีความสำคัญต่อการเติบโตที่ผิดปกติ ของเซลล์หนังกำพร้า และก่อให้เกิด parakeratosis ขึ้นซึ่งเป็นกลไกที่สำคัญในการเกิดโรคผิวหนังหลายโรค



การศึกษาในครั้งนี้ยังแสดงให้เห็นว่ากลไกในการควบคุมการแสดงออกของ ID4 ที่สำคัญคือ DNA methylation คือพบ hypermethylation ของ ID4 promoter สัมพันธ์กับการลดการแสดงออกของ ID4 mRNA ของ human cell lines ต่างๆ และสัมพันธ์กับการลดการแสดงออกของโปรตีน ID4 บริเวณที่เกิด parakeratosis

โปรตีน IDs ประกอบด้วยสมาชิกต่างๆคือ ID1, ID2, ID3 และ ID4 จากการศึกษาก่อนหน้านี้ พบว่า การทำงานของ ID4 มักจะทำงานตรงข้ามกับ สมาชิกของ IDs (ID1, ID2 และ ID3) เช่น กรณี ID1 มักจะพบมากใน colorectal carcinoma (22) และ gastric cancer (23) แต่ จะพบว่า ID4 ลดลง สำหรับโรคมะเร็งชนิดนั้น มีรายงานถึงการเพิ่มของ ID1 ใน (24) และไม่มีรายงานถึง ID4 มาก่อน การศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่ามีการลดลงของ ID4 ในโรคมะเร็งชนิดซึ่งสอดคล้องรายงานการศึกษาที่ผ่านมาว่ามีการเพิ่มของ ID1 ในโรคมะเร็งชนิด สำหรับขบวนการทำให้เกิด ID4 promoter methylation ที่สัมพันธ์กับ โรคมะเร็งชนิด

สำหรับกลไกที่ทำให้เกิด ID4 promoter methylation ที่สัมพันธ์กับ โรคมะเร็งชนิด ยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัดแต่มีรายงานการศึกษาในโรคอื่นอาทิเช่น การกระตุ้นของ Cdc42 สามารถทำให้เกิดการ เพิ่มของ DNMTs และสามารถ ทำให้เกิด ID4 promoter methylation ใน colorectal carcinoma ได้ (25) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า Cdc42ยังสามารถ กระตุ้น Mixed Lineage Kinases3 (MLK3) (26) และ p21 -activated kinase (PAK) (27) ซึ่งมีความเกี่ยวข้องกับ การเพิ่มของ phosphorylated p38 โดยที่ phosphorylated p38 มีความสำคัญอย่างมากในโรคมะเร็งชนิด (28)

การศึกษานี้ เราพบหลักฐานของการเกิด ID4 promoter methylation ที่มีความเกี่ยวข้องกับการเกิด Parakeratosis ซึ่งเป็นขบวนการสำคัญอย่างหนึ่งของโรคผิวหนัง โดยเฉพาะอย่างยิ่งโรคมะเร็งชนิด ผลจากการศึกษาในทำให้เกิดองค์ความรู้ใหม่ที่เกี่ยวข้อง พยาธิกำเนิดของการเกิดโรค และอาจนำไปสู่การพัฒนาการรักษาโรคโดยวิธีใหม่ๆต่อไป

การศึกษายีน B-cell receptor associated protein 31 (BCAP31)

สำหรับ B-cell receptor associated protein 31 (BCAP31) เป็นยีนที่อยู่บนโครโมโซม Xq28 (29) ซึ่งพบว่ามีคุณสมบัติเป็นทรานสเมมเบรนโปรตีน (trans-membrane protein) บนผิวเอนโดพลาสมิกเรติคูลัม (endoplasmic reticulum) ทำหน้าที่ในการขนส่งโปรตีนจาก เอนโดพลาสมิกเรติคูลัมไปยังกอลจิบอดี (golgi body) (30) (31) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า เกี่ยวข้องกับกลไกการเกิดอะพอพโทซิส(apoptosis) โดยผ่านทาง procaspase 8, BCL-2 และ CED4 ซึ่งพบได้ในเซลล์เม็ดเลือดขาว ทั้งชนิด B Lymphocyte และ T Lymphocyte (32) และเซลล์เยื่อบุผนังของโรคซิสติกไฟโบรซิส แต่สำหรับในโรคมะเร็งชนิดนั้นยังไม่พบว่ามี การรายงานที่เกี่ยวข้องกับยีนนี้มาก่อน อย่างไรก็ตาม BCAP31 อาจมีความเกี่ยวข้อง กับโรคมะเร็งชนิด ในโรคมะเร็งชนิดก็พบว่าการผิดปกติของการเกิดกระบวนการ อะพอพโทซิสในเซลล์ผิวหนัง และเซลล์ เม็ดเลือดขาวซึ่งอาจเกิดจากการขาดโปรตีน BCAP31 เนื่องจากผลการศึกษาในครั้งนี้ของผู้วิจัยพบว่า ในคนไข้โรคมะเร็งชนิดมีการลดลงของการแสดง ออกในระดับเอ็มอาร์เอ็นเอของยีน BCAP31 ซึ่งมีความสัมพันธ์แบบผกผันกับการเกิด

จีเอ็มเอเอ็มทีลเลขที่ลดลงที่บริเวณโปรโมเตอร์ของยีน BCAP31 การลดลงของการแสดงออกในระดับเอ็มอาร์เอ็นเอของยีน BCAP31 จึงอาจเป็นสาเหตุให้เพิ่มความสามารถในการต้านทานต่อการเกิดอะพอโทซิสของเซลล์เม็ดเลือดขาวในโรคสะเก็ดเงินได้

ผลการศึกษาในครั้งนี้นับเป็นการค้นพบองค์ความรู้ใหม่ซึ่งยังไม่มีใครเคยศึกษาในโรคสะเก็ดเงินมาก่อน และอาจนำมาอธิบายพยาธิสภาพของการเกิดโรคได้ แต่อย่างไรก็ตาม บทบาทและหน้าที่ของยีน BCAP31 โรคนี้ ยังไม่ทราบแน่ชัด และการเหนี่ยวนำให้เกิด Hypomethylation บนโปรโมเตอร์ของยีน BCAP31 ในโรคสะเก็ดเงินยังไม่ทราบสาเหตุที่แน่ชัดเช่นกัน ยังคงต้องการการศึกษาเพิ่มเติมต่อไป

การศึกษาระดับซีรั่ม IL-22 ก่อนและหลังการรักษาโดยเมทโทรเทกเซด

Methotrexate นับเป็นยาตัวแรกในการเลือกใช้เพื่อรักษาโรคสะเก็ดเงินที่มีความรุนแรงระดับปานกลางขึ้นไป นอกจากกลไกที่ใช้ในการยับยั้งการแบ่งตัวของเซลล์แล้ว ยาดังกล่าวยังมีรายงานว่าสามารถเปลี่ยนแปลงระดับ DNA methylation และยับยั้ง cell adhesion molecules ซึ่งมีส่วนสำคัญในการชักนำให้เซลล์อักเสบต่าง ๆ เข้ามายังบริเวณรอยโรค (33) (34) รวมทั้งยังสามารถยับยั้งการกระตุ้น T cells บริเวณรอยโรคได้ (35) การศึกษานี้ได้รายงานการลดการสร้างของ Th22 cytokines ได้แก่ IL-22 ซึ่งน่าจะเป็นกลไกที่สำคัญอันหนึ่งของยา Methotrexate ในการรักษาโรคสะเก็ดเงิน นอกจาก Th22 cell ซึ่งเป็นตัวหลักในการสร้าง IL-22 แล้ว IL-22 ยังสามารถสร้างได้จาก Th1 cells, $\gamma\delta$ T cells, CD8+ T cells และ monocytes ได้อีกด้วย (36) จึงมีความเป็นไปได้ว่ายา Methotrexate อาจมีผลต่อ immune cells ต่าง ๆ ที่สร้าง IL-22 ด้วยเช่นกัน

ผลการศึกษาในครั้งนี้ยังพบอีกว่าระดับซีรั่ม IL-22 มีความสัมพันธ์กับ PASI score อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตาม IL-22 ไม่ใช่เป็นเพียงปัจจัยเดียวที่มีผลต่อความรุนแรงของโรค เนื่องจากองค์ประกอบและพยาธิกำเนิดของโรคสะเก็ดเงินมีความซับซ้อน จึงน่าจะมีปัจจัยอื่นๆ ที่ควรศึกษาเพิ่มเติม การศึกษาในครั้งนี้ยังพบว่า หากผู้ป่วยมีระดับซีรั่ม IL-22 ในปริมาณที่สูงมักจะมีการตอบสนองที่ดีต่อการรักษาด้วยยามากกว่าผู้ป่วยที่มีระดับซีรั่ม IL-22 ในระดับต่ำ จึงมีความเป็นไปได้ว่าจะสามารถนำเอาระดับซีรั่ม IL-22 มาใช้เป็น biomarkers ในการทำนายผลของการรักษา

เมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาของ M.Caproni และคณะ (37) ซึ่งศึกษาผลของยา Etanercept และ Acitretin ต่อระดับซีรั่ม IL-17 และ IL-22 พบว่า เมื่อเปรียบเทียบกลุ่มผู้ป่วยที่มี baseline IL-22 ไม่ต่างกัน Methotrexate สามารถลดระดับซีรั่ม IL-22 ได้มากกว่า Etanercept ได้อย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่ Acitretin ไม่มีผลต่อไซโตไคน์ ดังกล่าว ทั้งนี้ อาจจะเป็นไปได้ว่า Methotrexate สามารถออกฤทธิ์ได้อย่างกว้างขวางทั้งต่อ immune cells และ keratinocytes ในขณะที่ Etanercept ซึ่งเป็น TNF- α blocker จะมีฤทธิ์ที่จำเพาะเจาะจงมากกว่า Etanercept นอกจากจะลด TNF- α ซึ่งเป็น proinflammatory cytokines ที่สำคัญในโรคสะเก็ดเงินแล้ว ปัจจุบันพบว่ายาดังกล่าวมีผลต่อ T cells และ dendritic cells แต่ไม่มีผลต่อ keratinocytes (38) ในขณะที่ Acitretin มีผลต่อ keratinocytes เพียงอย่างเดียวโดยไม่มีผลต่อ immune cells การใช้ยา Acitretin ในการรักษาโรคสะเก็ดเงินอย่างมีประสิทธิภาพมักจะต้องใช้ควบคู่กับ

การรักษาโดยวิธีอื่นด้วย เช่น Methotrexate หรือ NB-UVB ดังนั้นจึงอาจสรุปได้ว่ายาที่มีประสิทธิภาพที่ดีใน การรักษาโรคสะเก็ดเงินควรจะออกฤทธิ์ต่อทั้ง immune cells และ keratinocytes เนื่องจาก keratinocytes นั้นเป็นแหล่งที่สร้าง proinflammatory cytokines, chemokines, adhesion molecules และ growth factors ที่สำคัญ

* ในการศึกษาครั้งนี้ตรวจพบระดับซีรัม IL-17 ในผู้ป่วยเพียง 2 คน ผู้ป่วยทั้ง 2 คนเป็นผู้ป่วยที่มีความรุนแรงของโรคค่อนข้างมาก (PASI>30) และตรวจไม่พบในกลุ่มควบคุม แตกต่างจากการศึกษาของ M.Caproni และคณะ (37) ซึ่งตรวจพบระดับซีรัม IL-17 ถึง 52.86 ± 27.63 pg/ml ในขณะที่ PASI score นั้นไม่แตกต่างจากการศึกษาครั้งนี้ IL-17 การไม่สามารถตรวจพบไซโตไคน์ดังกล่าวในซีรัมอาจเป็นไปได้ว่า ผู้ป่วยในการศึกษานี้มีปัจจัยทางพันธุกรรมและปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมที่แตกต่างจากกลุ่มที่ M.Caproni และคณะ นอกจากนี้ IL-17 สร้างจาก Th17 cells โดยพบ Th17 cells ดังกล่าวเพิ่มมากขึ้นในรอยโรคของผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงิน (39) เนื่องจากการค้นพบ T cells ดังกล่าวเกิดขึ้นเพียงระยะเวลาไม่นาน การศึกษาเพื่อจำแนกลักษณะกลุ่มย่อยของ Th17 cells ดังกล่าวยังมีไม่มาก แต่เชื่อว่า CD4+IL17+ T cells นั้นมีบทบาทสำคัญต่อการเกิดโรคสะเก็ดเงิน (40) และพบว่า Th17 cells สามารถสร้างได้โดยการกระตุ้นจาก dendritic cells บริเวณรอยโรค โดยไม่ได้มาจากในเลือดเพียงอย่างเดียว และพบว่า dendritic cells ที่ lesions สามารถกระตุ้นการเปลี่ยนแปลงของ naïve T cells ไปเป็น Th17 cells ได้มากกว่า dendritic cells ในเลือด (41) ซึ่งอาจจะเป็นอีกหนึ่งเหตุผลที่เราไม่สามารถตรวจพบระดับซีรัม IL-17 ในเลือดได้ เนื่องจากส่วนใหญ่จะถูกสร้างออกมาแล้วอยู่เฉพาะบริเวณรอยโรค