

246367

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ



246367

RMU5080064 รศ.ดร.พญ. จงกลณี วงศ์ปิยะบวร



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ บทบาทของดีเอ็นเอ methylation กับการเกิดโรคสะกดเงินและกลไกการควบคุมภาวะ
methylation ในโรคสะกดเงิน

โดย รศ.ดร.พญ. จงกลณี วงศ์ปิยะบวร

พฤษภาคม 2553

สัญญาเลขที่ RMU 5080064



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ บทบาทของดีเอ็นเอ methylation กับการเกิดโรคสะกดเงินและกลไกการควบคุมภาวะ
methylation ในโรคสะกดเงิน

โดย รศ.ดร.พญ. จงกลณี วงศ์ปิยะบวร

พฤษภาคม 2553

สัญญาเลขที่ RMU 5080064



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ บทบาทของดีเอ็นเอ methylation กับการเกิดโรคสะกดเงินและกลไกการควบคุมภาวะ
methylation ในโรคสะกดเงิน

โดย รศ.ดร.พญ. จงกลณี วงศ์ปิยะบวร
คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย
และสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกว.ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษาในครั้งนี้สำเร็จได้โดยความช่วยเหลืออย่างยิ่งของ ศาสตราจารย์นายแพทย์ อภิวัฒน์ มุทิตางกูร ที่กรุณาให้คำปรึกษา แนะนำ และช่วยเหลือ แก้ไขปัญหาให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี ขอขอบคุณ ดร.เกรียงศักดิ์ ฤทธศาสตร์ ที่ให้การสนับสนุน ช่วยเหลือ แนะนำ รวมถึงช่วยแก้ไขงานและการใช้เครื่องมือทางห้องปฏิบัติการต่างๆ

ขอขอบคุณ ศาสตราจารย์นายแพทย์ ชนพ โชติช่วง และ Professor Dr. Paul Scott Thorner ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้การสนับสนุน ช่วยเหลือในการตรวจย้อมพิเศษชิ้นเนื้อ และให้คำปรึกษางานวิจัยที่เป็นประโยชน์ยิ่ง

ขอขอบคุณแพทย์ประจำบ้านและนิสิตปริญญาโท หน่วยผิวหนัง ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ช่วยเหลือในการเก็บตัวอย่างและเก็บข้อมูล ในการวิจัย ขอขอบคุณ พยาบาล เจ้าหน้าที่ รวมทั้งผู้ป่วยที่เข้าร่วม ในการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ ที่แผนกผู้ป่วยนอก ผิวหนัง โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทย

และงานวิจัยในครั้งนี้สามารถประสบความสำเร็จได้ด้วยดีโดย นายสุรศักดิ์ อยู่ยงสถิต นิสิตปริญญาเอก นางสาวพรรณทิพา พรตเจริญ นิสิตปริญญาโท และนางสาวจีระภา คำเพ็ง นิสิตปริญญาโท สหสาขาจุลชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยที่มีความตั้งใจทำงานวิจัยในครั้งนี้

และสุดท้ายนี้ขอขอบคุณ สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย และสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา ที่ให้การสนับสนุนงานวิจัยในครั้งนี้

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ : RMU 5080064

ชื่อโครงการ : บทบาทของดีเอ็นเอ methylation กับการเกิดโรคสะกดเงินและกลไกการควบคุมภาวะ methylation ในโรคสะกดเงิน

ชื่อนักวิจัย : รศ.ดร.พญ. จงกลณี วงศ์ปิยะบวร

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

E-mail Address: jongkonnee.w@chula.ac.th, jongkonneew@gmail.com

ระยะเวลาโครงการ : 3 ปี (1 มิถุนายน 2550 - 31 พฤษภาคม 2553)

โรคสะกดเงินเป็นโรคผิวหนังที่พบได้บ่อย อุบัติการณ์ของโรคสะกดเงินประมาณร้อยละ 1-3 ของประชากรโลก สาเหตุของการเกิดโรคยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด จากข้อมูลที่ผ่านมาพบว่า การเปลี่ยนแปลงแบบนอกเหนือยีน (epigenetics) มีความสำคัญต่อการเกิดโรคสะกดเงิน คณะผู้วิจัยทำการศึกษาการเกิดดีเอ็นเอเมทิลเลชันของยีนทั้งแบบครอบคลุมทั้งยีนโนมและแบบจำเพาะแต่ละยีนกับการแสดงออกของยีนดังกล่าวในเซลล์ผิวหนัง และเซลล์เม็ดเลือดขาวต่างๆเปรียบเทียบระหว่างคนปกติและผู้ป่วยโรคสะกดเงินชนิดพลาคลุ่มละ 20 ราย โดยการศึกษาแบบครอบคลุมทั้งยีนโนมทำโดยศึกษาระดับดีเอ็นเอเมทิลเลชันของ long-interspersed nuclear element-1 (LINE-1) repetitive sequences ส่วนการศึกษายีนที่จำเพาะได้เลือกศึกษายีน ID4 และยีน BCAP31 จากผลการศึกษาโดยวิธีเมทิลเลชันไมโครอะเรย์ (methylation microarray) และทำการศึกษาระดับดีเอ็นเอ เมทิลเลชันโดยวิธีเมทิลเลชัน สเปลิฟิก พลายเมอร์ (MSP) และ ไบซัลไฟต์โคลนนิ่งแอนชีควอนซิง (bisulfite cloning and sequencing) จากนั้นศึกษาระดับการแสดงออกของยีน ID4 และ BCAP31 พร้อมทั้งดูความสัมพันธ์กับระดับดีเอ็นเอเมทิลเลชันของยีนดังกล่าวนอกจากนี้ยังศึกษาระดับ IL-22 ในซีรัมก่อนและหลังการรักษาด้วยยาเมโทรเทคเซต ซึ่งเป็นยาที่มีรายงานว่าเปลี่ยนแปลงระดับดีเอ็นเอเมทิลเลชัน

พบว่าเซลล์ผิวหนังกำพร้าและเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดนิวโทรฟิลของผู้ป่วยโรคสะกดเงินจะมีการลดลงของระดับดีเอ็นเอเมทิลเลชันของยีน LINE-1 เมื่อเทียบกับคนปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p=0.002$ และ $p=0.019$ ตามลำดับ) และพบการเกิดภาวะโปรโมเตอร์ไฮเปอร์เมทิลเลชันของยีน ID4 สัมพันธ์กับการลดลงการแสดงออกของยีนบริเวณที่เกิดพาราเคอราโตซิส (parakeratosis) เกิดภาวะโปรโมเตอร์ไฮเปอร์เมทิลเลชันของยีน BCAP31 สัมพันธ์กับการลดลงการแสดงออกของยีนในเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดนิวเคลียสเดี่ยว (peripheral mononuclear cells) ของผู้ป่วยโรคสะกดเงินอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.0001$) นอกจากนี้ยังพบว่าระดับซีรัม IL-22 ในผู้ป่วยโรคสะกดเงินสูงกว่าคนปกติอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.001$) และยังสัมพันธ์กับความรุนแรงของโรค ($r=0.63$, $p=0.004$) ระดับซีรัม IL-22 ลดลงอย่างมีนัยสำคัญหลังการรักษาด้วยยาเมโทรเทคเซต ($p<0.001$)

จากผลการศึกษาดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าภาวะดีเอ็นเอเมทิลเลชันทั้งที่เกิดทั่วทั้งยีนโนมและยีนที่จำเพาะมีความสำคัญต่อพยาธิกำเนิด และการดำเนินโรคสะกดเงิน

คำหลัก : โรคสะกดเงิน, ดีเอ็นเอเมทิลเลชัน, LINE-1, ID4, BCAP31, IL-22

Project Code: RMU 5080064

Project Title: Roles of DNA methylation in psoriasis and mechanisms which control methylation in psoriasis

Investigator: Assoc. Prof. Jongkonnee Wongpiyabovorn
Faculty of Medicine, Chulalongkorn University

E-mail Address: jongkonnee.w@chula.ac.th, jongkonneew@gmail.com

Project Period: 3 years (1 June 2007 – 31 May 2010)

Psoriasis is a common autoimmune skin disease, affecting approximately 1-3% of the population worldwide. Etiology of the disease is still unclear. Recently, epigenetic phenomena have also been implicated in the pathogenesis of psoriasis. We investigated genome-wide and gene-specific DNA methylation in 20 chronic plaque type psoriasis patients compared to 20 healthy controls. Long-interspersed nuclear element-1 (LINE-1) repetitive sequences were used for genome-wide methylation. The candidate genes, *ID4* and *BCAP31*, were selected from methylation microarray data and analyzed using methylation specific primer (MSP) and bisulfite cloning and sequencing. Moreover, serum IL-22 level was analyzed before and after treatment with methotrexate which is the methylation modifying drug.

The LINE-1 methylation level of keratinocytes and total leukocytes from psoriasis patients were significantly lower than from healthy subjects ($p < 0.002$ and $p=0.019$, respectively). For candidate gene, inverse correlation between *ID4* promoter hypermethylation and mRNA expression associated with parakeratosis was found in psoriasis. Additionally, inverse correlation between *BCAP31* promoter hypermethylation and mRNA expression was found in peripheral mononuclear cells from psoriasis patients. Moreover, serum IL-22 levels were significantly higher in psoriasis patients than in controls. There was a significant positive correlation between IL-22 levels and PASI ($r=0.63$, $p=0.004$). Methotrexate significantly reduced serum levels of IL-22 in psoriasis patients ($p<0.001$).

In conclusion, our study demonstrated genome-wide and gene-specific DNA methylation play important role in pathogenesis and course of psoriasis

Keywords: psoriasis, DNA methylation, LINE-1, *ID4*, *BCAP31*, IL-22