

**Project Code:** MRG5180072

(รหัสโครงการ)

**Project Title:** ความสัมพันธ์ระหว่างระดับการเกิดเมธิลเลชันในจีโนมและความชราภาพของเซลล์

(ชื่อโครงการ)

**Investigator:**

(คณะผู้วิจัย)

1. ดร. พรรณี จินตฤทธิ คณะเวชศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดล

**E-mail Address:** tmpjt@mahidol.ac.th

2. ศาสตราจารย์ ดร. นายแพทย์อภิวัดน์ มุทิรางกูร คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

**E-mail Address:** mapiwat@chula.ac.th

**Project Period:** 15 พฤษภาคม 2551 ถึง 14 พฤษภาคม 2553

(ระยะเวลาโครงการ)

### บทคัดย่อ

รูปแบบความแตกต่างการลดลงตามอายุของการเติมหมู่เมทิลบนชนิดตำแหน่งดีเอ็นเอที่มีลำดับเบสซ้ำ พรรณี จินตฤทธิ<sup>1</sup> และอภิวัดน์ มุทิรางกูร<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ภาควิชาโภชนศาสตร์เขตร้อนและวิทยาศาสตร์อาหาร คณะเวชศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดล, <sup>2</sup> หน่วยงานมนุษยพันธุศาสตร์ ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตำแหน่งดีเอ็นเอที่มีลำดับเบสซ้ำกัน (IRS) จะอยู่กระจายเป็นส่วนใหญ่ตามขนาดของจีโนมและอาจส่งผลต่อการทำหน้าที่ของเซลล์ ซึ่งสามารถแบ่งได้ตามขนาดและหน้าที่เชิงโครงสร้างได้เป็น บริเวณที่มีลำดับเบสซ้ำขนาดสั้น (short interspersed elements), บริเวณที่มีลำดับเบสซ้ำขนาดยาว (long interspersed elements), บริเวณที่มีลำดับเบสซ้ำที่สามารถเคลื่อนไปมาจากตำแหน่งหนึ่งไปอีกตำแหน่งหนึ่งได้โดยตรง (DNA transposon) และบริเวณที่มีลำดับเบสซ้ำส่วนปลายที่สามารถเคลื่อนไปมาจากตำแหน่งหนึ่งไปอีกตำแหน่งโดยใช้ RNA (LTR-retrotransposon) มีหลายชนิดของตำแหน่งเหล่านี้อาจผลิต RNA และควบคุมยีนโดยอาศัยกลไกที่หลากหลาย การเติมหมู่เมทิลบนลำดับดีเอ็นเอส่วนใหญ่แล้วเกิดในบริเวณ IRS และเชื่อว่าทำให้เกิดการทำงานของ IRS การลดลงของการเติมหมู่เมทิลทั่วทั้งหมด (Global hypomethylation) หรือการบกพร่องของการเติมหมู่เมทิลในจีโนม (Loss of genome-wide methylation) เป็นสภาวะเหนือพันธุกรรมที่พบบ่อยทั้งในเซลล์ที่ชราภาพและเซลล์มะเร็ง การลดลงของการเติมหมู่เมทิลบนลำดับดีเอ็นเอที่ตำแหน่งของไลน์-1 (LINE-1) มีการศึกษาอย่างกว้างขวางในเซลล์มะเร็งเกือบทุกชนิด ดังนั้นการศึกษานี้คณะผู้วิจัยจึงศึกษาการเติมหมู่เมทิลบริเวณตำแหน่งไลน์-1 (LINE-1), อะลู (Alu) และโปรไวรัส K (Human endogenous retrovirus, HERV-K) ในเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด mononuclear cell ของอาสาสมัครปกติจำนวน 177 ราย ช่วงอายุระหว่าง 20-88 ปี พบว่าอายุมีความสัมพันธ์ในเชิงลบกับระดับเมธิลเลชันที่ตำแหน่งอะลู และโปรไวรัส K อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $r_{\text{Alu}} = -0.452, P < 10^{-3}$ ,  $r_{\text{HERV-K}} = -0.326, P < 10^{-3}$ ) แต่ไม่พบความสัมพันธ์ในตำแหน่งไลน์-1 ( $r_{\text{LINE-1}} = 0.145, P = 0.055$ ) การบกพร่องของการเติมหมู่เมทิลที่ตำแหน่งอะลูพบในช่วงอายุ 34-68 ปี และที่ตำแหน่งโปรไวรัส K พบในช่วงอายุ 40-63 ปี และ 64-83 ปี และเป็นที่น่าสนใจอย่างยิ่งพบว่ามีความสัมพันธ์ในเชิงบวกของการเติมหมู่เมทิลของตำแหน่งอะลูและไลน์-1 ในช่วงอายุมากกว่าหรือเท่ากับ 49 ปี ( $r = 0.49, P < 10^{-3}$ ) จากผลการศึกษานี้แสดงว่าการบกพร่องตามอายุของการเติมหมู่เมทิลบนลำดับดีเอ็นเอของชนิดตำแหน่งที่มีลำดับเบสซ้ำกันนั้นต่างกันและพบในบางตำแหน่งและบางช่วงจำเพาะของอายุเท่านี้ การบกพร่องตามอายุของการเติมหมู่เมทิลที่ตำแหน่งอะลูและตำแหน่งของโปรไวรัส K แตกต่างกัน และอาจมี

กลไก 2-3 ชนิด ที่เกี่ยวข้องกับการเติมหมู่เมทิลทั่วทั้งจีโนม ซึ่งกลไกเหล่านี้ไม่ใช่ทั้งหมดที่ขึ้นกับอายุ การศึกษาครั้งนี้อาจนำไปสู่ความเข้าใจที่ดีขึ้นถึงสาเหตุทางชีววิทยาระดับเซลล์และผลกระทบของการลดลงการเติมหมู่เมทิลทั่วทั้งจีโนม ตลอดจนบทบาทของชนิดตำแหน่งดีเอ็นเอที่มีลำดับเบสซ้ำกันในขั้นตอนที่เกี่ยวข้องกับความชราภาพ

**คำสำคัญ:** การลดลงของการเติมหมู่เมทิล, การเติมหมู่เมทิลในจีโนม, ความชราภาพ, ชนิดตำแหน่งดีเอ็นเอที่มีลำดับเบสซ้ำกัน

## Abstract

### Distinctive patterns of age-dependent hypomethylation in interspersed repetitive sequences

Pornrutsami Jintaridith<sup>1</sup>, Apiwat Mutirangura<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Tropical Nutrition and Food Science, Faculty of Tropical Medicine, Mahidol University;

<sup>2</sup>Center for Excellence in Molecular Genetics of Cancer and Human Diseases, Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University

Interspersed repetitive sequences (IRSs) are a major contributor to genome size and may contribute to cellular functions. IRSs are subdivided according to size and functionally related structures into short interspersed elements (SINEs), long interspersed elements (LINEs), DNA transposons and LTR-retrotransposons. Many IRSs may produce RNA and regulate genes by a variety of mechanisms. The majority of DNA methylation occurs in IRSs and is believed to suppress IRS activities. Global hypomethylation, or the loss of genome-wide methylation, is a common epigenetic event not only in senescent cells but also in cancer cells. Loss of LINE-1 methylation has been characterized in many cancers. Here, we evaluated the methylation levels of LINE-1, Alu and human endogenous retrovirus (HERV-K) in 177 samples obtained from volunteers between 20 and 88 years of age. Age was negatively associated with methylation levels of Alu ( $r=-0.452$ ,  $p<10^{-3}$ ) and HERV-K ( $r=-0.326$ ,  $p<10^{-3}$ ) but not LINE-1 ( $r=0.145$ ,  $p=0.055$ ). Loss of methylation of Alu occurred during ages 34-68 yr, and loss of methylation of HERV-K occurred during ages 40-63 and again during ages 64-83 yr. Interestingly, methylation of Alu and LINE-1 are directly associated, particularly at ages 49 yr and older ( $r=0.49$ ,  $p<10^{-3}$ ). Therefore, only some types of IRSs lose methylation at certain ages. Moreover, Alu and HERV-K become hypomethylated differently. Finally, there may be several mechanisms of global methylation. However, not all of these mechanisms are age-dependent. This finding may lead to a better understanding of not only the biological causes and consequences of genome-wide hypomethylation but also the role of IRSs in the aging process.

**Key words:** global hypomethylation; genome-wide methylation; aging; interspersed repetitive sequences