

## เฮเทอโรไซโกตเชิงซ้อนของมิวเทชันสองชนิดที่เกิดซ้ำบ่อยในยีน *Factor VII* เป็นสาเหตุของโรคขาดปัจจัยการแข็งตัวของเลือดชนิดที่ 7 ในครอบครัวผู้ป่วยไทย

### Compound Heterozygosity for Two Recurrent Mutations in *Factor VII (FVII)* Gene Causing Factor VII Deficiency in a Thai Family

ยุพาพร ละเลิศ<sup>1</sup>, วรณา ทองนพคุณ<sup>1</sup>, บุนตริกา สุวรรณวิบูลย์<sup>2</sup> และ ชนินทร์ ลิ้มวงศ์<sup>1,3\*</sup>

Yupaporn Lalerd<sup>1</sup>, Wanna Thongnoppakhun<sup>1</sup>, Boontarika Suwanwiboon<sup>2</sup>, and Chanin Limwongse<sup>1,3\*</sup>

<sup>1</sup>หน่วยอนุพันธุศาสตร์ สถานส่งเสริมการวิจัย; <sup>2</sup>สาขาวิชาโลหิตวิทยา ภาควิชาอายุรศาสตร์; <sup>3</sup>สาขาวิชาเวชพันธุศาสตร์ ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล กรุงเทพฯ 10700

<sup>1</sup>Division of Molecular Genetics, Department of Research and Development; <sup>2</sup>Division of Hematology, Department of Medicine;

<sup>3</sup>Division of Medical Genetics, Department of Medicine, Faculty of Medicine Siriraj Hospital, Mahidol University, Bangkok 10700

\*Corresponding author: chanin.lim@mahidol.ac.th

#### บทคัดย่อ

โรคขาดปัจจัยการแข็งตัวของเลือดชนิดที่ 7 เป็นโรคเลือดออกง่ายทางพันธุกรรมที่ถ่ายทอดแบบยีนด้อย ซึ่งถือเป็นโรคที่พบได้บ่อยที่สุดในกลุ่มโรคหายากที่มีความผิดปกติในการแข็งตัวของเลือดที่เป็นตั้งแต่เกิด อาการแสดงของโรคมีความแตกต่างกันสูงมาก ตั้งแต่ไม่มีอาการจนถึงขั้นอาการเลือดออกรุนแรง สาเหตุที่ระดับโมเลกุลของโรคนี้คือ มิวเทชันที่หลากหลายของยีน *FVII* ยังมีความไม่สอดคล้องกันอยู่ระหว่างอาการแสดงทางคลินิกกับมิวเทชันที่เป็นสาเหตุของโรคนี้ งานวิจัยนี้ต้องการศึกษาสาเหตุที่ระดับโมเลกุลของโรคขาดปัจจัยการแข็งตัวของเลือดชนิดที่ 7 ในครอบครัวคนไทยครอบครัวหนึ่ง ผู้ป่วยคนแรกของครอบครัวเป็นผู้หญิง อายุ 64 ปี ซึ่งมีค่า prothrombin time (PT) ยาวกว่าปกติ และมีโปรตีน *FVII* ในระดับต่ำเป็น 11.4% ของคนปกติ การตรวจหามิวเทชันของยีน *FVII* ได้ทำครบในทั้ง 9 เอ็กซอนโดยใช้วิธีพีซีอาร์-เอสเอสซีพี หรือพีซีอาร์-ดีเอชพีแอลซี ตามด้วยการหาลำดับเบส พบว่าผู้ป่วยเป็นเฮเทอโรไซโกตเชิงซ้อนของมิวเทชันสองชนิดที่เกิดซ้ำบ่อยคือ ความผิดปกติของการตัดต่ออาร์เอ็นเอในอินทรอน 6 (c.681+1G>T หรือ IVS6+1G>T) ร่วมกับมิวเทชันเฉพาะที่แบบเปลี่ยนกรดอะมิโน (c.1091G>A, p.R364Q) ในเอ็กซอน 8 ซึ่งถอดรหัสเป็นส่วนของ catalytic domain ในโปรตีน *FVII* p.R364Q นี้เป็นมิวเทชันที่เกิดได้บ่อยที่สุดจุดหนึ่งในยีน *FVII* ซึ่งเป็นตำแหน่งของนิวคลีโอไทด์ CpG มิวเทชันแบบเฮเทอโรไซโกตเชิงซ้อนคู่นี้ยังพบเพิ่มในพี่น้องของผู้ป่วยอีก 4 คน ซึ่งมี 3 คนแสดงอาการของโรคและ 2 คนในนี้มีระดับโปรตีน *FVII* ต่ำเพียง 3% ของคนปกติ ขณะที่อีกหนึ่งคนไม่มีอาการ อย่างไรก็ตามยังมีพี่น้องของผู้ป่วยอีก 2 คน ที่ไม่มีอาการเช่นกัน และมียีน *FVII* เป็นปกติ บุตรชายคนหนึ่งของผู้ป่วยตรวจพบว่ามิวเทชันชนิด p.R364Q เพียงอย่างเดียว ซึ่งเป็นการสนับสนุนว่ามิวเทชันแบบเฮเทอโรไซโกตเชิงซ้อนข้างต้นเป็นสาเหตุของโรคในครอบครัวนี้ ผลการตรวจพบดังกล่าวนี้เป็นประโยชน์ต่อการให้คำปรึกษาแนะนำทางพันธุศาสตร์และการจัดการทางคลินิกแก่ครอบครัวผู้ป่วย การศึกษาครั้งนี้ นับเป็นรายงานแรกของมิวเทชันของยีน *FVII* ในคนไทย และยังเป็น การค้นพบครั้งแรกในโลกของมิวเทชันแบบเฮเทอโรไซโกตเชิงซ้อนคู่นี้ (IVS6+1G>T และ p.R364Q) ซึ่งรายงานก่อนหน้าที่เกี่ยวข้องกับเฮเทอโรไซโกตเชิงซ้อนของมิวเทชันหนึ่งในสองชนิดนี้กับมิวเทชันชนิดอื่นๆ ได้แสดงความเกี่ยวข้องกับอาการแสดงของโรคระดับปานกลางถึงรุนแรงของโรคขาดปัจจัยการแข็งตัวของเลือดชนิดที่ 7

#### ABSTRACT

Factor VII (FVII) deficiency is an autosomal recessive bleeding disorder, being the most common among the rare congenital coagulation defect. Its clinical manifestation is highly variable ranging from asymptomatic condition to severe bleeding phenotype. The underlying molecular defects are heterogeneous mutations of *FVII* gene. There are inconsistencies existing between the clinical phenotype and causative genotype of this disease. This study thus aimed to investigate the molecular basis of *factor VII (FVII)* deficiency in a Thai family. The proband was a 64-year-old female with prolonged prothrombin time (PPT) and low FVII activity (11.4% of normal). Mutation screening of *FVII* gene was performed in all nine exons using either polymerase chain reaction-single strand conformation polymorphism (PCR-SSCP) or -denaturing high performance liquid chromatography (PCR-DHPLC) followed by direct DNA sequencing. The proband was found to be a compound heterozygote for two recurrent mutations, a splicing defect (c.681+1G>T or IVS6+1G>T) in intron 6 and a missense mutation (c.1091G>A, p.R364Q) in exon 8 encoding the catalytic domain of FVII protein. The p.R364Q is one of the mutational hotspot in *FVII* gene, occurring in CpG dinucleotides. This compound heterozygous mutation was also found in additional four proband's siblings, three of whom had clinical manifestations with a low FVII activity (3% of normal) in the two, while another one being asymptomatic. However, the other two proband's siblings who were also asymptomatic had normal *FVII* gene sequences. The proband's son was found to carry only the p.R364Q mutation. His genotype has supported that the compound heterozygosity is responsible for the FVII deficiency in this family. These findings are useful for genetic counseling and clinical management in the family. This is the first report for *FVII* gene mutations in Thai people and a firstly described compound heterozygosity of the two mutations (IVS6+1G>T and p.R364Q) worldwide. Previous reports of compound heterozygosity of either of these mutations with others have demonstrated the correlation to moderate to severe phenotypes of FVII deficiency.

**คำสำคัญ:** เฮเทอโรไซโกตเชิงซ้อน, ยีน *Factor VII*, โรคขาดปัจจัยการแข็งตัวของเลือดชนิดที่ 7

**Keywords:** compound heterozygote, *FVII* gene, Factor VII (FVII) deficiency