

ความถี่ของการตรวจพบการขยายตัวของเบสซ้ำสาม (CAG) บนยีน ATXN สามยีนในผู้ป่วยโรคสมองน้อยเสื่อมจากพันธุกรรม

Frequency of CAG-Triplet Repeat Expansions in Three ATXN Loci in Patients with Spinocerebellar Ataxia (SCA)

กาญจนา หลงสะ¹, ธีระพงศ์ โพธิ์เอี่ยม¹, วรณา ทองนพคุณ², มานพ พิทักษ์ภากร^{1,2,3} และ ชนินทร์ ลิ้มวงศ์^{1,2,3}

Kanjana Longsa¹, Theeraphong Pho-iam¹, Wanna Thongnoppakhun², Manop Pithukpakorn^{1,2,3}, and Chanin Limwongse^{1,2,3,*}

¹เครือข่ายโรคพันธุกรรมระบบประสาท หน่วยวิจัยและพัฒนาบริการสุขภาพ; ²หน่วยอณูพันธุศาสตร์ สถานส่งเสริมการวิจัย; ³สาขาวิชาเวชพันธุศาสตร์ ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล กรุงเทพฯ 10700

¹Neurogenetic Network, Division of Health Service Research and Development; ²Division of Molecular Genetics, Department of Research and Development; ³Division of Medical Genetics, Department of Medicine, Faculty of Medicine Siriraj Hospital, Mahidol University, Bangkok, 10700

*Corresponding author: siclw@mahidol.ac.th

บทคัดย่อ

โรคสมองน้อยเสื่อมจากพันธุกรรม (spinocerebellar ataxia หรือ SCA) เป็นโรคที่มีการถ่ายทอดทางพันธุกรรมแบบยีนเด่น (autosomal dominant) อาการของโรคเกิดจากผลกระทบต่อสมองน้อยและระบบประสาทที่เชื่อมโยงกันทำให้มีการทำงานที่ไม่ประสานกันของการเดิน (เดินเซ) การพูด และการเคลื่อนไหวของแขนขา ปัจจุบันมีการจำแนกชนิด (subtype) ของโรคสมองน้อยเสื่อมไว้อย่างน้อย 31 ชนิด โดยที่ส่วนหนึ่งทราบยีนที่เป็นสาเหตุของโรคแล้วและความถี่ของสาเหตุที่เกิดจากแต่ละยีนแตกต่างกันไปในแต่ละเชื้อชาติ ซึ่งจำเป็นต้องใช้การตรวจทางพันธุศาสตร์เพื่อวินิจฉัยแยกชนิดที่แน่นอนของโรคในผู้ป่วยเนื่องจากแต่ละชนิดมีอาการแสดงคล้ายๆ กัน ชนิดที่พบได้บ่อยที่สุดในประชากรทั่วโลก คือชนิดที่ 1-3 (SCA1, SCA2 และ SCA3 หรือ Machado-Joseph disease, MJD) ซึ่งมีสาเหตุจากการขยายตัวของเบสซ้ำสาม (CAG) มากกว่าช่วงซ้ำของคนปกติในยีน *ATXN1*, *ATXN2* และ *ATXN3* ตามลำดับ คณะผู้วิจัยได้ศึกษาความถี่ของโรคสมองน้อยเสื่อมทั้งสามชนิดดังกล่าว โดยตรวจหาการขยายตัวของเบสซ้ำสาม (CAG) จากผู้ป่วยโรคสมองน้อยเสื่อมที่เข้ารับการตรวจทางพันธุศาสตร์ที่ห้องปฏิบัติการอณูพันธุศาสตร์ตั้งแต่ปี 2544-2556 จำนวนทั้งหมด 480 ราย เป็นชาย 232 (48.33%) ราย และหญิง 248 (51.67%) ราย โดยอาศัยเทคนิคดั้งเดิมคือ isotopic-PCR ตามด้วย polyacrylamide-gel electrophoresis และเทคนิคปัจจุบันเป็น fluorescent PCR ร่วมกับ capillary electrophoresis ผลการศึกษาพบผู้ป่วยโรคสมองน้อยเสื่อมซึ่งมีการขยายตัวของเบส CAG ทั้งสิ้น 146 ราย (30.4%) แบ่งเป็น (เรียงจากโรคที่พบมากไปหาน้อย) SCA3 79 ราย (16.5%), SCA1 38 ราย (7.9%), และ SCA2 29 ราย (6.0%) ช่วงขยายตัวของเบส CAG ในยีนที่เป็นสาเหตุของแต่ละโรคคือ ยีน *ATXN3* 42-82 ซ้ำ (พบบ่อยที่ 80 ซ้ำ มี 11%) ยีน *ATXN1* 40-66 ซ้ำ (พบบ่อยที่ 45 และ 46 ซ้ำ มีอย่างละ 18%) และ ยีน *ATXN2* 35-54 ซ้ำ (พบบ่อยที่ 41 และ 42 ซ้ำ มีอย่างละ 14%) ตามลำดับ ที่น่าสนใจคือ ผู้ป่วยรายหนึ่งมีการซ้ำของเบส CAG ในยีน *ATXN3* เท่ากับ 42 ซ้ำ ซึ่งเป็นค่าก้ำกึ่งของจำนวนซ้ำระหว่างคนปกติและผู้ป่วย พบว่าโรค SCA3 หรือ MJD เป็นชนิดที่พบบ่อยที่สุดในคนไทย รองลงมาคือ SCA1 และ SCA2 ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานในประเทศไทยก่อนหน้านี้ การตรวจพบการขยายตัวของเบส CAG เหล่านี้ทำให้สามารถวินิจฉัยแยกโรคสมองน้อยเสื่อมทั้งสามชนิดได้และเป็นประโยชน์ต่อการให้คำปรึกษาแนะนำทางพันธุศาสตร์เพื่อการวางแผนครอบครัวของผู้ป่วย ส่วนผู้ป่วยที่ไม่พบการขยายตัวของเบส CAG จากทั้งสามยีน จำนวน 333 ราย (69.4%) อาจเป็นเพราะเป็นโรคสมองน้อยเสื่อมชนิดอื่น ได้แก่ โรค SCA6, SCA7, SCA17 และโรค dentatorubral-pallidolusian atrophy (DRPLA) ซึ่งควรมีการศึกษาการขยายตัวของเบส CAG ในยีนอื่นเพิ่มเติมต่อไปเพื่อให้ทราบสาเหตุของโรคได้มากขึ้น นอกจากนี้ผู้ป่วยในกลุ่มนี้ยังอาจเป็นโรคของระบบประสาทแบบ ataxia ที่ยังไม่ทราบสาเหตุอีกเป็นจำนวนมากรวมอยู่ด้วย

ABSTRACT

Autosomal dominant spinocerebellar ataxias (SCAs) are a complex group of neurodegenerative disorders. The diseases affect the cerebellum and its main connections causing of a generalized incoordination of gait, speech, and limb movements. There are at least 31 subtypes of spinocerebellar ataxias. The causative genes have been partly characterized and the frequency of each gene mutation varies among ethnics. Genetic testing is needed to determine the certain type of SCA in an affected person due to an overlap of symptoms among the different types of SCAs. The most three commonest subtypes found worldwide are SCA1, SCA2 and SCA3 (Machado-Joseph disease, MJD) of which the defect caused by an expanded-CAG repeat in coding sequence of the particular genes, including *ATXN1*, *ATXN2* and *ATXN3*, respectively. We studied here the frequencies of the three SCA subtypes from 480 unrelated SCA patients subjected to genetic testing at our laboratory (2001-2013) including 232 (48.33%) men and 248 (51.67%) women. CAG-repeat expansion analysis was performed by initially isotopic-PCR followed by polyacrylamide gel electrophoresis and finally fluorescence-PCR together with capillary electrophoresis. The positive cases of SCA due to the presence of CAG-repeat expansions were found in 146 (30.42%) patients. Subtyping by molecular results revealed that SCA3 was found in 16.5 % (79/480), SCA1 in 7.9% (38/480) and SCA2 in 6.0% (29/480) of all patients. The number of expanded CAG repeats varies from 42-82 repeats (common allele = 80 repeats, 11%) in SCA3, 40-66 repeats (common allele = 45 and 46 repeats, 18% for each) in SCA1 and 35-54 repeats (common allele = 41 and 42 repeats, 14% for each) in SCA2. Interestingly, one patient was found to carry the intermediate/borderline size of *ATXN3*-CAG repeats (42 repeats) with no *ATXN1* and *ATXN2* mutations. The CAG-repeat expansion in *ATXN3* was the most common cause of SCA in Thailand, while those in *ATXN1* and *ATXN2* should be ordered as the second one with similar frequency. These frequencies are concordant with the previous report in Thailand (Sura T *et al.*, 2009). The identification of the causative CAG expansion enables the molecular diagnosis of the different SCA subtypes and facilitates genetic counseling for family planning of the patients. Mutation-negative patients (333 patients, 69.4%) from this study may be of other SCA subtypes i.e. SCA6, SCA7, SCA17 and dentatorubral-pallidolusian atrophy (DRPLA) which are still remained for investigation of CAG expansion in other genes. Furthermore, these patients may be affected by neurological disorders with ataxia with unknown etiological factors.

คำสำคัญ: โรคสมองน้อยเสื่อม, โรค SCA, การเพิ่มของเบสชนิดซ้ำสามแบบ CAG

Keywords: spinocerebellar ataxia, SCA, CAG-repeat expansion