ความสัมพันธ์ของซีเอจีไตรนิวคลีโอไทด์ที่ซ้ำในยีนอะแทกซิน – 1 กับความรุนแรงของโรคสไปโนซีรีเบลลาอะแทกเซีย แบบที่1

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

นาวสาวสุภัค ยังเจริญ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาพันธุศาสตร์ ภาควิชาพฤกษศาสตร์
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2545

ISBN 974 – 17 –1286 - 3

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

I20652574

RELATIONSHIP OF CAG TRINUCLEOTIDE REPEAT IN ATAXIN – 1 GENE WITH SEVERITY OF SPINOCEREBELLAR ATAXIA TYPE I

Miss Supak Youngcharoen

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Genetics

Department of Botany
Faculty of Science
Chulalongkorn University

Academic Year 2002

ISBN 974 - 17 – 1286 - 3

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ความสัมพันธ์ของซีเอจีไตรนิวคลีโอไทด์ที่ซ้ำในยีนอะแทกซิน – 1 กับความรุนแรงของโรคสไปโนซีรีเบลลาอะแทกเซีย แบบที่ 1
โดย	นางสาวสุภัค ยังเจริญ
สาขาวิชา	พันธุศาสตร์
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ มุกดา คูหิรัญ
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ ธันยชัย สุระ

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

.....คณบดีคณะวิทยาศาสตร์
(รองศาสตราจารย์ ดร. วันชัย โพธิ์พิจิตร)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ สุมิตรา คงชื่นสิน)

.....อาจารย์ที่ปรึกษา
(รองศาสตราจารย์ มุกดา คูหิรัญ)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ ธันยชัย สุระ)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ เดือนใจ โก้สกุล)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ สุพจน์ ตุลยาเดชานนท์)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สุภัค ยังเจริญ : ความสัมพันธ์ของซีเอจีไตรนิวคลีโอไทด์ที่ซ้ำในยีนอะแทกซิน – 1 กับความรุนแรงของโรคสไปโนซีรีเบลลาอะแทกเซีย แบบที่ 1 (RELATIONSHIP OF CAG TRINUCLEOTIDE REPEAT IN ATAXIN – 1 GENE WITH SEVERITY OF SPINOCEREBELLAR ATAXIA TYPE I) อ.ที่ปรึกษา : รศ. มุกดา คูหิรัญ , อ.ที่ปรึกษาร่วม : รศ. นายแพทย์ ธันยชัย สุระ , 76 หน้า. ISBN 974 – 17 – 1286 - 3

โรค Spinocerebellar ataxia type I จัดอยู่ในกลุ่ม autosomal dominant cerebellar ataxia type I (ADCA I) ลักษณะการถ่ายทอดเป็นยีนเด่น โดยมีการเสื่อมของระบบประสาท การสูญเสียเซลล์ประสาทในส่วนที่เป็นซีรีเบลลัม brain stem และ spinocerebellar tracts ยีน SCA1 หรือยีน ataxin – 1 อยู่บนโครโมโซมแท่งที่ 6p 22 – 23 ลักษณะในการเกิดมิวเตชั่น พบว่าจะมีการเพิ่มของไตรนิวคลีโอไทด์ที่ซ้ำ ในคนปกติจะมีลำดับเบส CAG อยู่ในช่วง 6 – 39 ซ้ำ แต่ในผู้ป่วย SCA1 จะมีลำดับเบส CAG ที่ซ้ำมากกว่า 40 ซ้ำขึ้นไป

ในการศึกษาครั้งนี้ พบว่าลักษณะอาการทางคลีนิคของผู้ป่วยในคนไทย มักมีลักษณะอาการทางคลีนิคที่แสดงออกมาให้เห็น คือ มีการเดินเซ มี cerebellar signs ตาของผู้ป่วยจะมีการกระตุก พูดแบบตะกุกตะกัก และมีอาการสำลักน้ำหรือกลืนอาหารลำบาก นอกจากนั้นพบว่าผู้ป่วยบางรายมีอาการ tandem gait มีการเพิ่มของ deep tendon reflexes พบผู้ป่วย SCA1 และสมาชิกในครอบครัวของผู้ป่วยที่มีความผิดปกติ 54 ราย จากจำนวนทั้งสิ้น 200 ราย ใน 79 ครอบครัว ซึ่งมีจำนวนซ้ำของลำดับเบส CAG ตามที่คาดหมายไว้ อายุที่เริ่มแสดงอาการ และความรุนแรงของโรค SCA1มีความสัมพันธ์กัน กล่าวคือ จำนวนซ้ำของลำดับเบส CAG จะมีความสัมพันธ์แบบผกผันกับอายุเริ่มแสดงอาการ แต่พบความสัมพันธ์โดยตรงระหว่างจำนวนซ้ำของลำดับเบส CAG กับความรุนแรงของการแสดงออกทางคลีนิคของโรค SCA1 ยกเว้นอาการ cerebellar signs

ภาควิชา ....พฤกษศาสตร์..... ลายมือชื่อนิสิต.....สุภัค ยังเจริญ.....

สาขาวิชา ....พันธุศาสตร์..... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....มุกดา คูหิรัญ.....

ปีการศึกษา .....2545..... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....ธันยชัย สุระ.....

4272444123 : MAJOR GENETICS

KEY WORD : SPINOCEREBELLAR ATAXIA TYPE I / AUTOSOMAL DOMINANT CEREBELLAR ATAXIA

SUPAK YOUNGCHAROEN : RELATIONSHIP OF CAG TRINUCLEOTIDE REPEAT IN ATAXIN – 1 GENE WITH SEVERITY OF SPINOCEREBELLAR ATAXIA TYPE I. THESIS ADVISOR. : ASSOC.PROF. MUKDA KUHIRUN. THESIS CO – ADVISOR : ASSOC.PROF. THANYACHAI SURA. 76 pp. ISBN 974 – 17 – 1286 - 3

Spinocerebellar ataxia type I (SCA1) is a group of autosomal dominant cerebellar ataxia type I (ADCA I). It is a dominantly inherited neurodegenerative disorder characterizes by progressive neuronal loss in the cerebellum brainstem and spinocerebellar tracts. The gene, SCA1 gene or ataxin – 1 gene has been locized to 6p 22 – 23. The mutation for SCA1 has been determined to be an expansion of a CAG trinucleotide repeat. In SCA1, the repeat size ranges from 6 – 39 in normal and more than 40 in expanded SCA1 alleles.

In this study, the main clinical features of patients are ataxic gait cerebellar signs, nystagmus, dysarthria, dysphagia and some patients have tandem gait, increased deep tendon reflexes. Fifty four of two hundred in 79 families had expansion of CAG trinucleotide repeat of SCA1 gene. Anticipation of disease, the age of onset and severity of ataxia, was found and was inversely correlated with the number of CAG trinucleotide repeat.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Department / Program .....Botany..... Student's signature ...Supak Youngcharoen

Field of study .....Genetics..... Advisor's signature ...Mukda Kuhirun

Academic year .....2002..... Co – advisor's signature ...T. Sura

กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ มุกดา คูหิรัญ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ที่ได้กรุณาให้ความรู้ คำแนะนำ ข้อคิดเห็น และความช่วยเหลือต่าง ๆ ตลอดจนได้กรุณาปรับปรุงวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ ธันยชัย สุระ อาจารย์แพทย์ ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ โรงพยาบาลรามาธิบดี อาจารย์ที่ปรึกษาร่วมที่กรุณาให้ความรู้ คำแนะนำต่าง ๆ และข้อคิดเห็นต่าง ๆ ในการวิจัย ซึ่งเป็นประโยชน์ รวมทั้งได้กรุณาสละเวลาปรับปรุงแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ สุมิตรา คงชื่นสิน ประธานกรรมการ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ เตือนใจ โก้สกุล และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ สุพจน์ ตุลยาเดชานนท์ อาจารย์แพทย์ ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ โรงพยาบาลรามาธิบดี กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำในการปรับปรุงแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณคุณมานิสา บุษบารัตน์ นักวิทยาศาสตร์ ภาควิชาอายุรศาสตร์ โรงพยาบาลรามาธิบดี และคุณสุวรรณี ชั้นประเสริฐโยธิน นักเทคนิคการแพทย์ 7 สำนักงานวิจัย โรงพยาบาลรามาธิบดี ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำ ความรู้ และสารเคมีที่ต้องนำมาใช้ในการวิจัย

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการหน่วยเวชพันธุศาสตร์ เจ้าหน้าที่สถิติ โรงพยาบาลรามาธิบดี รวมทั้ง จสอ.พงษ์ศักดิ์ นาคอินทร์ ช่างถ่ายวีดีโอ ททบ.5 และ พี่ ๆ เพื่อน ๆ และน้อง ๆ ที่ไม่อาจเอ่ยนามได้ทั้งหมด สำหรับความช่วยเหลือ และกำลังใจที่มีให้เสมอมา

ทุนอุดหนุนและส่งเสริมวิทยานิพนธ์ระดับปริญญาโท – เอก ในสถาบันอุดมศึกษาของรัฐ ทบวงมหาวิทยาลัย และทุนอุดหนุนโครงการวิจัยหรือค้นคว้าเพื่อทำวิทยานิพนธ์ บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ทุนสนับสนุนในการวิจัยครั้งนี้

และสุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณ มารดา คุณยาย ที่คอยให้กำลังทรัพย์ และกำลังใจตลอดมา

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

บทคัดย่อภาษาไทย.....ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....จ
กิตติกรรมประกาศ.....ฉ
สารบัญ.....ช
สารบัญตาราง.....ซ
สารบัญรูป.....ฌ

บทที่

1 บทนำ.....1
2 ตรวจเอกสาร.....4
Autosomal dominant cerebellar ataxias.....7
Spinocerebellar Ataxia type I 9
ผลงานการค้นคว้าวิจัยในการศึกษาโรค SCA1.....17
3 อุปกรณ์และวิธีดำเนินการศึกษา.....23
วัสดุอุปกรณ์ และสารเคมี.....23
วิธีดำเนินการศึกษา.....26
4 ผลการทดลอง.....36
ศึกษาอาการทางคลีนิคจากแฟ้มประวัติของผู้ป่วย.....36
การเก็บตัวอย่างเลือดของผู้ป่วย.....40
การสกัดจีโนมิกดีเอ็นเอ จากตัวอย่างเลือดของผู้ป่วย.....41
การเพิ่มขยายส่วนของลำดับเบส CAG ที่ซ้ำ.....41
การวิเคราะห์หาจำนวนซ้ำของลำดับเบส CAG.....43
การศึกษาลำดับเบส โดยใช้วิธี sequence DNA.....47
5 สรุปผลการทดลอง.....54
6 วิจารณ์ผลการทดลอง.....61
รายการอ้างอิง.....63
ภาคผนวก ก.....67
ภาคผนวก ข.....72
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....76

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

1 รายละเอียดต่าง ๆ ของโรค autosomal dominant cerebellar ataxia type I.....8

2 จำนวนผู้ป่วยและสมาชิกของผู้ป่วยบางครอบครัวที่ไม่เป็น SCA1 และผู้ป่วย รวมทั้งสมาชิกของผู้ป่วยบางครอบครัวที่ป่วยด้วยโรค SCA1 หลังจาก ที่ได้ทำการทดลองด้วยวิธี PCR และ gene scan.....36

3 ลักษณะอาการทางคลีนิคของผู้ป่วย SCA1 และสมาชิกของผู้ป่วย บางครอบครัวที่พบว่ามียีน SCA1 จากโรงพยาบาลต่าง ๆ จำนวน 30 ครอบครัว มีจำนวนทั้งสิ้น 54 ราย.....38

4 สรุปลักษณะอาการของผู้ป่วย SCA1 (Clinical features of Spinocerebellar ataxia type I).....40

4 จำนวน CAG ที่ซ้ำในคนปกติ และผู้ป่วยรวมทั้งสมาชิกในครอบครัวของผู้ป่วย บางคนที่พบยีน SCA1.....44

6 รายละเอียดของจำนวนซ้ำของลำดับเบส CAG ในคนไข้ และสมาชิกในครอบครัว ของคนไข้บางคนที่พบยีน SCA1 และอายุที่เริ่มแสดงอาการจำนวน 30 ราย.....45

7 ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของอายุที่เริ่มแสดงอาการ และจำนวนซ้ำของ ลำดับเบส CAG.....75

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
1	ส่วนประกอบภายในส่วนต่าง ๆ ของสมอง	5
2	ส่วนของสมองเล็กตามยาวในชั้นต่าง ๆ	5
3	โครงสร้างของยีนที่ก่อให้เกิดโรคต่าง ๆ ที่เกิดจากการซ้ำกันของลำดับเบส CAG	12
4	ยีน SCA1 ในโครโมโซมแท่งที่ 6. และยีนอื่น ๆ ที่อยู่บริเวณตำแหน่งต่าง ๆ	13
5	โครงสร้างการถอดรหัส SCA1 ซึ่งประกอบไปด้วย 9 เอกซอน	14
6	ช่วง 5' UTR และลำดับเบสของการถอดรหัส SCA1	15
7	แผนภูมิขั้นตอนการสกัดจีโนมิกดีเอ็นเอ วันที่ 1. และวันที่ 2	29
8	แถบชิ้นส่วนดีเอ็นเอของผู้ป่วยโรค SCA1 และคนปกติ ซึ่งแยกด้วย 2 % agarose : nusieve และย้อมด้วยเอธิเดียมโบรไมด์	41
9	ก. พงศาวลีของครอบครัวที่ 1 ประกอบด้วย พ่อ แม่ที่มีอาการ และลูก 4 คน ซึ่ง 2คนแสดงอาการ	42
	ข. แถบดีเอ็นเอของครอบครัวที่ 1	42
10	ก. gene scan ของคนปกติ	43
	ข. gene scan ของผู้ป่วยที่ป่วยด้วยโรค SCA1	43
11	ลำดับเบส CAG ในผู้ป่วย SCA1 โดยใช้ไพรเมอร์ Rep – 1	48
12	ลำดับเบส CAG ในผู้ป่วย SCA1 โดยใช้ไพรเมอร์ Rep – 2	49
13	ความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนซ้ำของลำดับเบส CAG กับอายุที่เริ่มแสดงอาการของผู้ป่วย SCA1	50
14	ความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนซ้ำของลำดับเบส CAG กับระดับอาการของผู้ป่วยที่แสดงอาการเดินเซ	51
15	ความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนซ้ำของลำดับเบส CAG กับระดับอาการของผู้ป่วยที่แสดงอาการ cerebellar signs	52
16	ความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนซ้ำของลำดับเบส CAG กับระดับอาการของผู้ป่วยที่แสดงอาการพูดไม่ชัด	52

สารบัญรูปภาพ (ต่อ)

17 ความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนซ้ำของลำดับเบส CAG กับระดับอาการของผู้ป่วยที่แสดงอาการตากระตุกไปมา.....53

18 ความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนซ้ำของลำดับเบส CAG กับระดับอาการของผู้ป่วยที่แสดงอาการสำลักหรือกลืนลำบาก.....53

19 พยาธิสภาพของซีรีเบลลาร์ในผู้ป่วย SCA1.....56

20 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของอายุที่เริ่มแสดงอาการ และจำนวนซ้ำของลำดับเบส CAG ในยีนอะแทกซิน – 1 กับความรุนแรงของโรค Spinocerebellar ataxia type I.....74

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย