


ความโน้มเอียงทางพันธุกรรมของโรคปากแห้งเพดานโหว่ที่ไม่เกิดร่วมกับกลุ่มอาการ



นางสาวศิริประภา ทองกอบเพชร

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การแพทย์  
คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2547

ISBN974-53-1154-5

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

GENETIC PREDISPOSITION FOR NON-SYNDROMIC ORAL CLEFT

Miss Siraprapa Thongkobpetch

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

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

Faculty of Medicine

Chulalongkorn University

Academic Year 2004

ISBN974-53-1154-5



ศิริประภา ทองกอบเพชร : ความโน้มเอียงทางพันธุกรรมของโรคปากแหว่งเพดานโหว่ที่ไม่เกิดร่วมกับกลุ่มอาการ. (GENETIC PREDISPOSITION FOR NON-SYNDROMIC ORAL CLEFT )  
 อ. ที่ปรึกษา : รศ.นพ.วรศักดิ์ โชติเลอศักดิ์, อ.ที่ปรึกษาร่วม : นพ. พิชิต ศิริวรรณ, จำนวน 63 หน้า.  
 ISBN 974-53-1154-5.

โรคปากแหว่งเพดานโหว่ (Oral Cleft) เป็นความพิการแต่กำเนิดที่เกิดขึ้นกับกะโหลกศีรษะและใบหน้า ที่พบได้บ่อย โรคปากแหว่งเพดานโหว่ จำแนกเป็นสองกลุ่มคือ มีปากแหว่งเพียงอย่างเดียว หรือปากแหว่งร่วมกับเพดานโหว่ (cleft lip with or with our cleft palate, CL/P) และมีเพดานโหว่เพียงอย่างเดียว (cleft palate only, CPO) อุบัติการณ์การเกิดนั้นแตกต่างกันออกไปในแต่ละกลุ่มประชากร ตั้งแต่ 1/500 – 1/2000 ในประเทศไทยมีอุบัติการณ์เกิดประมาณ 1/600 ในการศึกษา นี้ มุ่งเน้นหาการกลายพันธุ์ของยีนที่เป็นสาเหตุของปากแหว่งเพดานโหว่ที่ไม่เกิดร่วมกับกลุ่มอาการ ได้แก่ยีน *MSX1* และยีน *PVRL1* โดยใช้ข้อมูลจาก association studies, linkage analyses, linkage disequilibrium และ animal model ที่สนับสนุนต่อการเกิดปากแหว่งเพดานโหว่ ในการศึกษา นี้ ตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงเบสในผู้ป่วย 100 คน และคนปกติ 100 คน เพื่อวิเคราะห์หาการกลายพันธุ์ในยีน *MSX1* และยีน *PVRL1* ที่เป็นสาเหตุของปากแหว่งเพดานโหว่ที่ไม่เกิดร่วมกับกลุ่มอาการ และทำการศึกษาเพิ่มเติมในผู้ป่วย 81 คน และคนปกติ 100 คน สำหรับอัลลิล V396M ในยีน *PVRL1* ผลการตรวจหาการกลายพันธุ์ในยีน *MSX1* พบการเปลี่ยนแปลงทั้งหมด 8 ตำแหน่ง แบ่งเป็นการกลายพันธุ์ที่ยังไม่มีการรายงานมาก่อน 2 ตำแหน่ง (G267C และ P278S) โดยทั้งสองตำแหน่งอยู่ใน exon 2 และโพลิมอร์ฟิซึม 6 ตำแหน่ง ซึ่งมี 2 ตำแหน่งที่เคยมีรายงานว่าเป็นการกลายพันธุ์ (A30A และ P147Q) และมี 1 ตำแหน่งที่ไม่เคยมีรายงานมาก่อน (452-14delT) ส่วนยีน *PVRL1* พบการเปลี่ยนแปลงเบสที่สันนิษฐานว่าเป็นการกลายพันธุ์ 1 ตำแหน่ง (V396M ใน exon 6) เนื่องจากไม่พบอัลลิลดังกล่าวในโครโมโซมปกติ 400 โครโมโซม การกลายพันธุ์พบเฉพาะแอลฟาไอโซฟอร์ม ส่งผลให้มีรูปแบบการถ่ายทอดแบบยีนเด่นบนออโตโซมซึ่งแตกต่างจากที่เคยมีรายงานมาก่อน จากการศึกษา นี้สรุปได้ว่าผู้ป่วยไทยที่เป็นโรคปากแหว่งเพดานโหว่พบการกลายพันธุ์ในยีน *MSX1* ประมาณ 2% และ 1% ในยีน *PVRL1* ส่งผลต่อการให้คำปรึกษาแนะนำทางพันธุศาสตร์กับผู้ป่วยและครอบครัว

สาขาวิชา วิทยาศาสตร์การแพทย์

ปีการศึกษา 2547

ลายมือชื่อนิสิต *ศิริประภา ทองกอบเพชร*

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา *วรศักดิ์ โชติเลอศักดิ์*

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม *พิชิต ศิริวรรณ*



## 457 52557 30 : MAJOR MEDICAL SCIENCE

KEYWORD: MSX1/ PVRL1/ NON-SYNDROMIC ORAL CLEFT/ SEQUENCE

SIRAPRAPA THONGKOBPETCH : GENETIC PREDISPOSITION FOR NON-SYNDROMIC ORAL CLEFT. THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF. VORASUK SHOTELERSUK, M.D., THESIS COADVISOR : PICHIT SIRIWAN, M.D., 63 pp, ISBN 974-53-1154-5.

Oral cleft is among the most severe congenital craniofacial malformations. Oral cleft consists of two major groups, cleft lip with or without cleft palate (CL/P) and cleft palate only (CPO). The variability incidence of cleft lip and/or palate is related to geographic origin, and is estimate to occur 1/600 live birth in Thailand. CL/P incidence is 1/600. Our study focused on the mutations that are causation of non-syndromic CL/P. Using information from association studies, linkage analyses, linkage disequilibrium and animal models, we selected *MSX1* and *PVRL1* as candidate genes. In this study, 100 cases of nonsyndromic CL/P and 100 controls were sequenced for mutation analysis. An additional 81 patients and 100 controls were analyzed for the *PVRL1* V396M. The results showed 8 genetic changes in *MSX1*. Six were nonpathogenic polymorphisms and the other two, G267C and P278S, were novel disease causing mutations. Of the six polymorphisms, one, 452-14delT, were novel and other two, A30A and P147Q, were previous reported as mutations. For *PVRL1* mutation analysis, one non synonymous change, V396M in exon 6, was found. It is presumably disease causing based on the nonexistence in 400 control chromosomes. It presents only in the alpha isoform of *PVRL1* and may inherited in an autosomal dominant manner. In conclusion, we found that *MSX1* and *PVRL1* mutations are observed in 2% and 1% of Thai patients with nonsyndromic CL/P, respectively, having an implications in genetic counseling.

Field of study..... Medical Science..... Student's signature..... Siraprapa Thongkobpetch  
 Academic year..... 2004..... Advisor's signature..... Vorasuk Shotelersuk  
 Coadvisor's signature..... Pichit Sirivan

## กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยดีเนื่องจากได้รับความกรุณาให้คำปรึกษาและช่วยแนะนำสั่งสอนอย่างดียิ่งจากรองศาสตราจารย์นายแพทย์วรศักดิ์ โชติเลอศักดิ์อาจารย์ที่ปรึกษา จึงกราบขอบพระคุณมา ณ โอกาสนี้

ขอขอบพระคุณนายแพทย์พิชิต ศิริวรรณ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ที่กรุณาให้ความช่วยเหลือในการเก็บตัวอย่างเลือดของผู้ป่วยและผู้มาบริจาคเลือดในจังหวัดต่าง ๆ พร้อมทั้งคำแนะนำที่เป็นประโยชน์และการตรวจทานแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้

ขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ นายแพทย์อภิวัฒน์ มุทิรางกูร ที่กรุณาให้เกียรติมาเป็นประธานกรรมการวิทยานิพนธ์และให้ความอนุเคราะห์ในเรื่องห้องปฏิบัติการในการวิจัยเครื่องมือและอุปกรณ์ต่างๆ อีกทั้งคำแนะนำต่างๆ

ขอขอบพระคุณนายแพทย์วีรยุทธ ประพันธ์พจน์ ที่กรุณาให้เกียรติมาเป็นกรรมการวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้

ขอขอบคุณ คุณชูพงศ์ อธิธิวุฒิ คุณรุ่งนภา หิรัญสถิตย์ คุณวิชัย พรชนเกษม คุณนริศร คงรัตน์โชค คุณทิวรัตน์ สินธุวิวัฒน์ คุณวาณี เปล่งพาณิชย์ คุณนุสรรา หั่วไผ่ รวมทั้งรุ่นน้องทุกคนในแล็บ สำหรับคำแนะนำ ความช่วยเหลือต่าง ๆ ในการทำการวิจัย และทุกๆ กำลังใจที่มีให้เสมอมา

และกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ ที่เป็นกำลังใจช่วยเหลือสนับสนุนและส่งเสริมจนประสบความสำเร็จ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากสำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ซ
สารบัญรูปภาพ.....	ณ
บทที่	
1. บทนำ.....	1
2. เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	6
3. วิธีดำเนินการวิจัย.....	15
4. ผลการวิเคราะห์ข้อมูล.....	25
5. สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ.....	40
รายการอ้างอิง.....	46
ภาคผนวก .....	50
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....	54

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## สารบัญตาราง

ตาราง		หน้า
1	อัตราการเกิดซ้ำในครอบครัวที่มีสมาชิกเป็นโรคปากแห้งเพดานโหว่ที่ไม่เกิดร่วมกับกลุ่มอาการ.....	9
2	ยีนที่เป็นสาเหตุของปากแห้งเพดานโหว่ร่วมกับกลุ่มอาการ.....	10
3	primer สำหรับการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ.....	21
4	ปริมาณของสารเคมีสำหรับการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ.....	22
5	อุณหภูมิสำหรับการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ.....	22
6	primer สำหรับตรวจหาการกลายพันธุ์ในยีน <i>MSX1</i> exon 1.....	23
7	เอนไซม์ตัดจำเพาะ ชนิดและเปอร์เซ็นต์ของ gel.....	24
8	Mutagenesis primer สำหรับตำแหน่ง P147Q และ G267C.....	24
9	ข้อมูลการกลายพันธุ์ที่พบในยีน <i>MSX1</i> และ <i>PVRL1</i> .....	29
10	ข้อมูลการตรวจการกลายพันธุ์ในคนปกติ โดยตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ.....	33
11	สรุปการกลายพันธุ์ที่พบในยีน <i>PVRL1</i> และยีน <i>MSX1</i> ในผู้ป่วยปากแห้งเพดานโหว่ที่ไม่เกิดร่วมกับกลุ่มอาการ.....	42



## สารบัญรูปภาพ

รูป	หน้า
1 แสดงลักษณะทางคลินิกที่หลากหลายของโรคปากแห้งเพดานโหว่.....	6
2 การพัฒนาของริมฝีปากบนและเพดานแข็งส่วนหน้า.....	7
3 การพัฒนาของเพดานอ่อน.....	7
4 โครงสร้างของโปรตีน nectin-1.....	13
5 โครงสร้างของยีน <i>PVRL1</i> และไอโซฟอร์มทั้งสามแบบของโปรตีน nectin-1.....	26
6 โครมาโทแกรมเปรียบเทียบลำดับเบสปกติกับลำดับเบสที่พบการกลายพันธุ์ในยีน <i>PVRL1</i> และ <i>MSX1</i> .....	28
7 โครงสร้างกรดอะมิโนที่เปลี่ยนแปลงในแต่ละตำแหน่งการกลายพันธุ์.....	31
8 ผลการตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะในแต่ละตำแหน่งการกลายพันธุ์.....	32
9 การเปรียบเทียบลำดับโปรตีนตำแหน่งที่พบการกลายพันธุ์ในยีน <i>MSX1</i> ของสิ่งมีชีวิต 7 ชนิด.....	36
10 การเปรียบเทียบลำดับโปรตีนตำแหน่งที่พบการกลายพันธุ์ในยีน <i>PVRL1</i> ของสิ่งมีชีวิต 3 ชนิด.....	39

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย