บทความฟื้นวิชา

Epigenetics and Myelodysplastic Syndrome

จันทนา รักแผน
คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

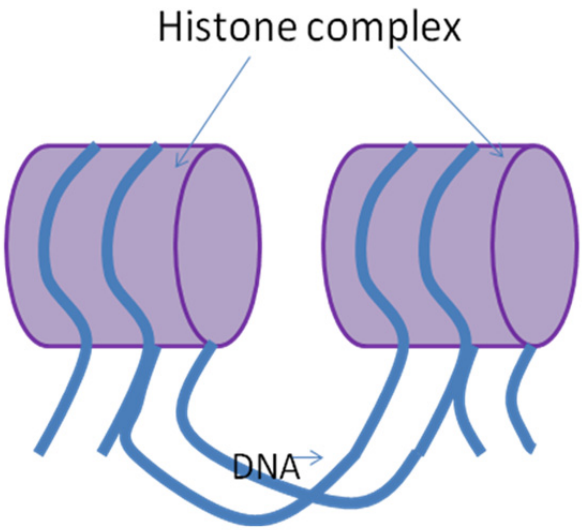
กลไกด้าน epigenetics มีความสำคัญในการควบคุมการแสดงออกของยีน ซึ่งกลไกจะประกอบไปด้วยการใส่หมู่ methyl กับ DNA (DNA methylation), การเปลี่ยนแปลง histone และการควบคุมโดย micro RNA (miRNA) แต่ละกลไกย่อยๆนั้นจะมีโปรตีนเฉพาะที่คอยควบคุมระบบนั้นๆ การศึกษาถึงการควบคุมกลไก epigenetics จะช่วยให้สามารถเข้าใจถึงพยาธิการเกิดของโรคมะเร็งต่างๆได้ดีขึ้นโดยเฉพาะโรค myelodysplastic syndrome ซึ่งจะนำไปสู่การคิดค้นยาใหม่ๆที่ได้ผลในการรักษาได้ในอนาคต

แต่ดั้งเดิมนั้นนักพันธุศาสตร์ได้ศึกษาถึงการกลายพันธุ์ของลำดับเบสของ DNA ที่นำไปสู่การเกิดโรคต่างๆ อย่างไรก็ตามพบว่าลำดับ DNA ที่เหมือนกันสามารถทำให้เกิดลักษณะที่แสดงออก (phenotype) ต่างๆกันได้ ซึ่งเกิดจากการปรับเปลี่ยนทางเคมีที่ทำให้การแสดงออกของยีนเปลี่ยนไป การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวเรียกว่า epigenetics[1] การเปลี่ยนแปลงด้าน epigenetics นั้น พบว่าเป็นกลไกที่สามารถเปลี่ยนแปลงย้อนกลับได้ (reversible) โดยการใช้ยา ต่างจากการเปลี่ยนแปลงทางพันธุศาสตร์ (genetics) ซึ่งย้อนกลับไม่ได้ (irreversible) ดังนั้น epigenetics จึงเป็นจุดที่น่าสนใจที่นำไปสู่การคิดค้นวิธีรักษาโรคมะเร็งโดยเฉพาะโรค myelodysplastic syndrome ได้

Epigenetics คืออะไร

Epigenetics หมายถึง การศึกษาถึงการแสดงออกของยีนที่ถ่ายทอดทางพันธุกรรมที่ต่างกันออกไป ซึ่งไม่ได้เกิดจากการเปลี่ยนแปลงของลำดับ DNA แต่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างโครมาติน 3 มิติ โดยเอนไซม์ จะทำให้ transcription factor และโปรตีนต่างๆที่เกี่ยวข้องสามารถเข้ามาทำปฏิกิริยาเกิดผลต่อการแสดงออกของยีนที่ต่างกันออกไป[1-3]

สารถ่ายทอดทางพันธุกรรมของ eukaryotic cell คือโครมาติน โดยหน่วยย่อยๆเรียกว่า nucleosome ซึ่งประกอบไปด้วย DNA และ โปรตีน histone ที่รวมกันเป็น histone complex โดย histone complex ประกอบไปด้วยโปรตีน histone 8 โมเลกุลซึ่งมี 4 คู่ ได้แก่คู่ของ histone H2A, H2B, H3 และ H4 ทางด้าน histone H2A และ H2B มีบทบาทเกี่ยวกับโครงสร้าง ส่วน H3 และ H4 นั้นเป็นทำหน้าที่เกี่ยวกับการควบคุมการ transcription



รูปที่ 1 Chromatin structure comprising nucleosomes (Modified from reference 5)

ของยีน nucleosome ประกอบด้วยสาย DNA พันรอบ histone complex 2 รอบ ดังรูปที่ 1 แต่ละ nucleosome จะมี DNA จำนวน 147 คู่เบส (base pairs) และมาขดรวมกันเรียกว่าโครมาติน โครมาตินมี 2 ชนิด[3] ได้แก่

1. Euchromatin เป็นโครมาตินที่มีการคลายตัวในช่วง interphase เป็นโครมาตินที่ active ยีนที่อยู่ในบริเวณนี้สามารถเกิดการ transcription ได้
2. Heterochromatin เป็นโครมาตินที่ขดตัวแน่น (condensed) ตลอดช่วงของ cell cycle ดังนั้น transcription factor จึงไม่สามารถเข้ามาจับได้ ยีนในบริเวณนี้จึงไม่แสดงออก

การเปลี่ยนแปลงทาง epigenetics ประกอบไปด้วย 3 ชนิด ได้แก่ DNA methylation, histone modification และ miRNA regulation ซึ่งการเกิดโรคมะเร็งพบว่าเกี่ยวข้องกับ DNA methylation และ histone modification ที่ทำให้เกิดการหยุดการแสดงออกของยีน (gene silencing) ซึ่งส่งผลไปสู่การเปลี่ยนแปลงทางกลไกชีวภาพ[2,3] ดังจะอธิบายในรายละเอียด ดังต่อไปนี้

1. DNA methylation[2,3,4]

ในช่วงการเจริญเติบโตของเซลล์นั้นจะมีการปรับเปลี่ยนของโครโมโซมอย่างมาก เซลล์ตัวอ่อน (embryonic stem cell) ซึ่ง

สามารถเจริญกลายเป็นเซลล์ได้มากมายหลายชนิด (multipotent) จะมีโครงสร้างของโครมาตินที่เปิด (euchromatin) และสามารถเกิดการ transcription ได้มาก ซึ่งคุณสมบัติดังกล่าวนี้จะค่อยๆ ลดลงไปเมื่อเซลล์เติบโตแบบจำเพาะขึ้น พร้อมทั้งมีการเพิ่มขึ้นของ heterochromatin และการเปลี่ยนแปลงของ histone แบบที่ลดการเกิด transcription (repression) ซึ่งโครงสร้างของโครมาตินจะมีความเสถียรเพิ่มขึ้นด้วย

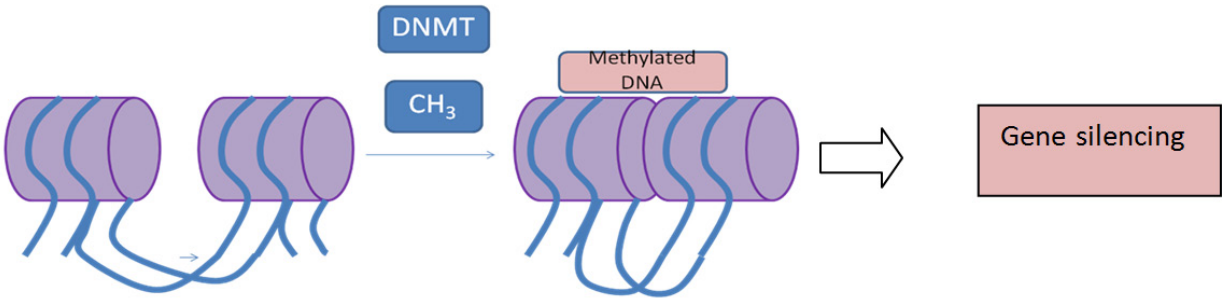
กลไกการใส่หมู่ methyl (methylation) ของ DNA เกิดที่ตำแหน่ง CpG nucleotide ซึ่งเป็นตำแหน่งที่ลำดับเบส cytosine (C) อยู่หน้าต่อ guanine (G) ซึ่งบริเวณที่มี CpG nucleotide นี้อยู่อย่างหนาแน่นเรียกว่า CpG island โดยมักพบภายในบริเวณ transcription promoter ของ DNA ในเซลล์ปกตินั้น การเกิด methylation มักจะเกิดที่ cytosine บริเวณที่มีรหัสของยีน แต่ไม่พบที่ตำแหน่ง promoter บน CpG island เมื่อตำแหน่งของ CpG island เกิดการ methylation ขึ้น จะทำให้หยุดการ transcription ของ promoter นั้นๆ ซึ่งกลไกนี้สามารถอธิบายการเกิดการยับยั้งการทำงานของโครโมโซม X ในเพศหญิงไปข้างหนึ่ง (X inactivation) และ genetic imprinting ซึ่งการแสดงออกของยีนบางยีนที่ได้จากบิดาหรือมารดามีการแสดงออกต่างกัน

การเกิด DNA methylation จะเป็นการปรับเปลี่ยนตำแหน่ง cytosine ให้เป็น 5-methylcytosine (5mC) โดยการเติมกลุ่ม methyl ที่ตำแหน่ง C-5 ของ cytosine residue ซึ่งอาศัยเอนไซม์ DNA methyltransferase (DNMT) หลังจากนั้น CpG island ที่ถูก methylation แล้วจะเป็นตำแหน่งที่เหมาะสมที่ methylated-DNA binding proteins เช่น MECP2 มาจับ ซึ่งโปรตีนเหล่านี้มักจะมีคุณสมบัติที่หยุดการเกิด transcription (transcriptional co-repressors) หลังจากนั้นจะทำให้เกิด histone modification ต่อไป เช่น เกิดการยึดจับของ histone deacetylases (HDAC) ซึ่งนำไปสู่การขดตัวของโครมาตินทำให้ transcription factor ต่างๆ ไม่สามารถเข้าจับได้ ซึ่งจะทำให้ยีนนั้นไม่มีการแสดงออก (gene silencing) ดังแสดงในรูปที่ 2 นอกจากการเกิด DNA methylation แล้ว ยังมีการใส่หมู่ methyl กับโปรตีน histone ตำแหน่งที่สำคัญได้แก่ histone H3 lysine9 (H3K9)[6] ซึ่งควบคุมการแสดงออกของยีนด้วย DNA methylation ที่ตำแหน่ง promoter ที่เป็นเป้าหมายนั้นมีความสำคัญมากในการควบคุมการเจริญเติบโตโดยเฉพาะเซลล์เม็ดเลือด โดยจะถูกควบคุมผ่านทาง growth factor, cytokine และโมเลกุลอื่นๆ

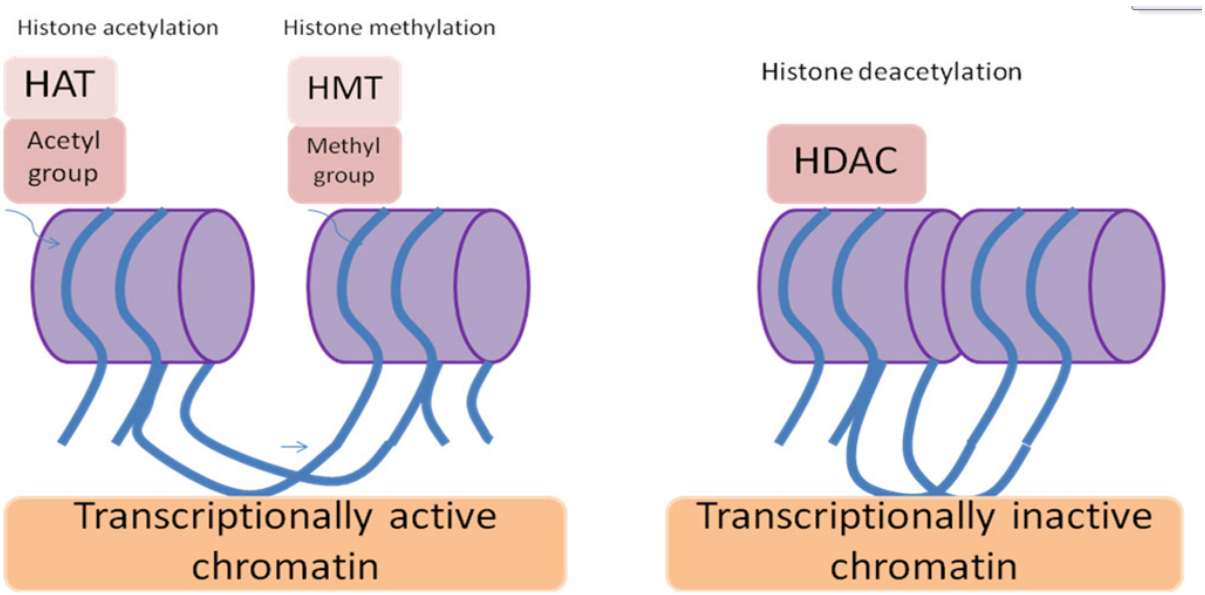
ในโรคมะเร็งพบว่ามีการเปลี่ยนแปลงของ DNA methylation แบบซับซ้อน โดยรวมแล้วจะเป็นลักษณะของการเกิด methylation โดยรวมพร้อมๆกันทุกตำแหน่ง พบการการเพิ่มขึ้นของ DNMTs และการเกิด methylation ในตำแหน่ง CpG ที่ไม่มีการ methylation มาก่อน นอกจากนี้การเพิ่มขึ้นของการเกิด methylation ที่ CpG island ทำให้หยุดการ transcription ซึ่งถ้าเป็นตำแหน่งของ tumor suppressor gene จะทำให้ยีนนั้นหยุดการทำงานไป ตัวอย่างเช่น ถ้ายีนบน allele ข้างหนึ่งเกิดการกลายพันธุ์ไป ในขณะที่อีก allele หนึ่งเกิดกลไก hypermethylation จะทำให้เกิดโรคมะเร็งขึ้นได้ ดังนั้นขบวนการ DNA methylation จึงเป็นกลไกที่สำคัญในการก่อให้เกิดโรคมะเร็ง

2. Histone modification[2,3,4]

Histone H3 และ H4 จะมี ส่วนที่ยื่นออกจากแกนกลางเรียกว่า tail ซึ่งจะมี amino acid จำเพาะเพื่อที่จะเกิดกระบวนการต่างๆ ได้แก่ methylation, acetylation, phosphorylation, ubiquination และ sumoylation ต่อไป ซึ่งเมื่อเกิดกระบวนการดังกล่าวแล้วจะมีปฏิกิริยาต่อโปรตีนเพื่อควบคุมการแสดงออกของยีน การเกิด histone modification จะต้องมีการเปลี่ยน histone ให้เกิดเป็นรหัสของ histone (histone code) และจะถูกอ่านโดยโปรตีนอื่นเพื่อควบคุมการ transcription ที่ตำแหน่งยีนนั้นๆ การทำให้เกิดเป็นรหัสของ histone นั้น ต้องอาศัยการปรับเปลี่ยนทางโครมาตินโดย histone acetyltransferases (HATs), histone deacetylase (HDACs), histone methyltransferases (HMTs) และ histone demethylases (HDMs) เป็นผลให้ nucleosome ขดตัวแน่นซึ่ง transcription factor จะไม่สามารถมาจับได้ทำให้ไม่



รูปที่ 2 DNA methylation (Modified from reference 4)



รูปที่ 3 Various mechanisms of histone modification (Modified from reference 4)

เกิดการแสดงออกของยีน หรือทำให้ nucleosome คลายตัวออก เป็นผลให้ transcription factor มาจับได้ เกิดการ transcription ของยีนได้ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของโปรตีนที่ควบคุม ขบวนการดังกล่าวเรียกว่า histone modification

ในกระบวนการเจริญเติบโตของเซลล์เม็ดเลือดนั้น พบว่า transcription factor สำหรับสายเม็ดเลือดนั้นๆ จะควบคุมการแสดงออกของยีนโดยการดึงเอ็นไซม์ที่ปรับเปลี่ยน histone เช่น HAT หรือ HDAC complex ไปยัง promoter ของยีนเป้าหมาย

ขบวนการเกิด histone modification ที่มีการศึกษามี 3 กลไก ดังแสดงในรูปที่ 3 คือ

1. Histone acetylation เริ่มจากการเติมกลุ่ม acetyl เข้าไปที่กรดอมิโน lysine ที่ N terminus ของ histone ทำให้เกิดประจุลบจากกลุ่ม acetyl ผลักประจุลบของ DNA ลดการจับกันระหว่าง DNA และ histone ส่งผลให้ RNA polymerase และ transcription factor สามารถเข้าถึงตำแหน่ง promoter ได้ โดย histone acetyltransferased (HATs) เป็นตัวเร่งปฏิกริยาได้มีการศึกษาถึงกระบวนการ acetylation ที่ตำแหน่ง histone H3 และ H4 ทำให้เกิดการแสดงออกของยีน

2. Histone deacetylation ขบวนการนี้จะทำให้ DNA จับติดกับ histone ซึ่งมีประจุบวกแน่นขึ้นทำให้ transcription factor เข้ามาจับที่ตำแหน่ง promoter ไม่ได้ เรียกว่า repression ซึ่งขบวนการนี้มี histone deacetylases (HDACs) เป็นตัวเร่งปฏิกริยา

3. Histone methylation เป็นการเติมกลุ่ม methyl ไปยัง histone ซึ่งเร่งปฏิกริยา โดย histone methyltransferases (HMT) และจะไปเปลี่ยนแปลง histone กระบวนการ methylation ที่ตำแหน่งต่างๆ บน histone จะทำให้เกิดการ transcription ของยีนหรือทำให้ไม่มีการแสดงออกของยีนได้ เช่น methylation ที่ histone H3K4 ทำให้เกิดการ transcription แต่ถ้าเป็นที่ตำแหน่ง H3K9 หรือ H3K27 ทำให้ยีนไม่มีการแสดงออก[7]

ดังนั้น นอกจากขบวนการ DNA methylation แล้ว ต้องอาศัยการเกิด histone modification ร่วมด้วยในการควบคุมการ transcription โดยทั่วไป ตำแหน่งที่มีการ transcription ของยีนอย่างต่อเนื่อง จะมีระดับของ DNA ที่เกิดการ methylation ต่ำและมี histone ที่เกิดการ acetylation ในระดับที่สูง ในทางตรงกันข้าม ยีนที่มีการทำงานน้อยหรือมีการ transcription น้อย จะมีระดับของ DNA ที่เกิดการ methylation สูง และมี histone ที่เกิดการ acetylation ในระดับที่ต่ำ ถึงแม้ว่าขบวนการ DNA methylation และ histone modification จะมีการควบคุมที่แยกกันไป แต่ทั้ง 2 ส่วนก็ยังมีความสัมพันธ์กันเช่น ขบวนการ DNA methylation เป็นส่วนที่ช่วยบอกแนวทางของการเกิด histone modification โดยผ่านทาง methyl-binding protein ในทางกลับกันชนิดของ histone methylation สามารถบอกถึงชนิดของการเกิด DNA methylation ได้ ความสัมพันธ์ของ 2 กลไกส่วนหนึ่งเกิดผ่านทาง โปรตีนที่ยึดติดกับ methylcytosine เช่น methyl CpG binding protein 2 (MECP2 หรือ MBD2) ซึ่งจะทำหน้าที่ยึดจับ histone deacetylase มายังตำแหน่งที่เกิดการ methylation

กลไก histone modification เกี่ยวข้องกับการเกิดมะเร็งในหลายทาง ในทางอ้อมนั้นเกิดจากมียีนจำนวนมากที่มีการเปลี่ยนแปลง ทำให้เกิดการแสดงออกของยีนและก่อให้เกิดโรคมะเร็ง เช่น การ translocation ของยีน PML-RARA ใน

โรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิด acute promyelocytic leukemia (AML-M3) ทำให้มีการดึงโปรตีน HDAC เข้ามา ยับยั้งการแสดงออกของยีนเป้าหมายจึงเกิดเป็นมะเร็งขึ้น[8] ส่วนทางตรงพบว่ามีการเปลี่ยนแปลงระดับโมเลกุลของตัวเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการปรับเปลี่ยน histone เอง จึงทำให้เกิดมะเร็ง เช่น การกลายพันธุ์ของเอนไซม์ acetyltransferase CBP ในโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาว[9], เอนไซม์ MLL gene และ H3K4 methylase มีการเปลี่ยนแปลงในมะเร็งเม็ดเลือดขาว[10] และ เอนไซม์ EZH2 และ H3K27 tri-methylase มีการแสดงออกมากขึ้นในโรคมะเร็งต่างๆ[11] อีกกลไกหนึ่งคือการเกิด methylation ของ promoter ที่ผิดปกติไป[12] ทำให้ไม่เกิดการแสดงออกของยีนนั้น

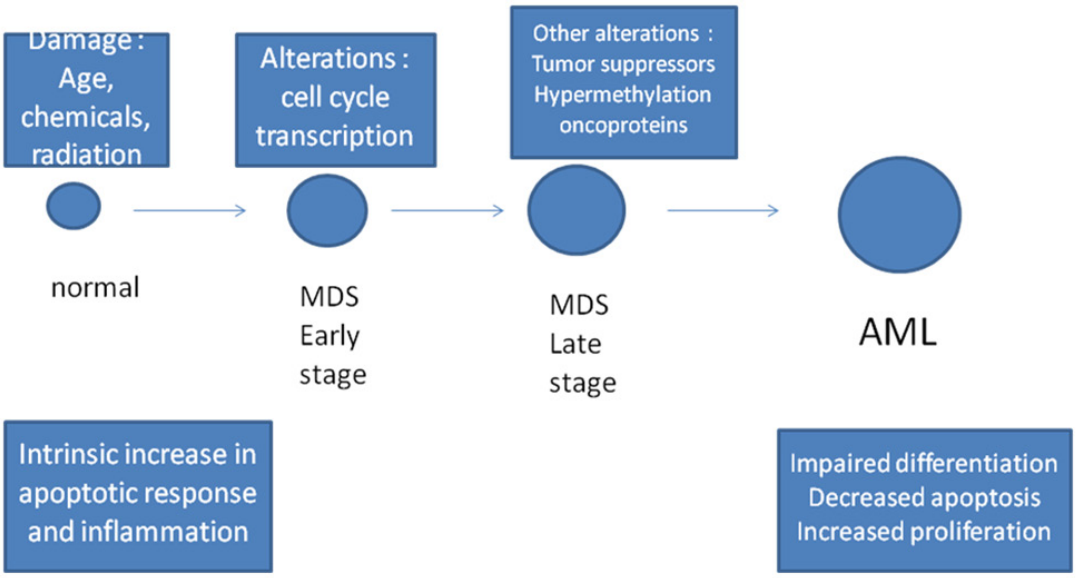
3. MicroRNA (miRNA) regulation[4]

miRNAs เป็น RNA ขนาดเล็กที่ไม่ได้ถูกถอดรหัสเป็นโปรตีน แต่มีผลต่อการแสดงออกของยีนโดยขบวนการควบคุมหลังจากเกิดการ transcription แล้ว miRNA จะถูกผ่านการ transcription หลังจากนั้นจะผ่านกลไกต่างๆ และรวมเข้าไปใน RNA-induced silencing complex (RISC) ซึ่งจะไปจับกับ mRNA เป้าหมายที่มีลำดับเบสเป็นคู่สม (complementary) กัน มีผลให้การ translation ของ mRNA เป้าหมายนั้นหยุดลง (translational repression) กลไกดังกล่าวเป็นกลไกหนึ่งที่ควบคุมการแสดงออกของยีนแบบจำเพาะเจาะจง นอกจากนี้ยังมีกลไกอื่น ได้แก่ การทำให้ mRNA สลายไป การยับยั้งการทำงานของ miRNAs โดย antago-miRNAs และ กระตุ้นการทำงานของ miRNA ที่เกี่ยวกับการยับยั้งการเจริญของเซลล์และการตายของเซลล์ ขณะนี้ได้มีการระบุ miRNA ได้มากกว่า 700 ชนิดที่สามารถควบคุมยีนเป้าหมายได้ถึง 10 หรือ 100 ยีน miRNA เป็นตัวที่สำคัญในการควบคุมระบบของเซลล์และเป็นกุญแจสำคัญในการเกิดมะเร็ง พบการแสดงออกที่ผิดปกติของ miRNA ในมะเร็งหลายชนิด ซึ่งบางชนิดก็ทำหน้าที่เป็น oncogene บางชนิดทำหน้าที่เป็น tumor suppressor gene การศึกษาที่น่าสนใจมากคือ ใน MDS ชนิด del(5q) พบว่ามีการเพิ่มขึ้นอย่างมากของ miR-145, miR-146a และ miR-150 เมื่อเทียบกับเซลล์ปกติ[13] อย่างไรก็ตามบทบาทของ miRNA ใน MDS ยังไม่ได้มีการศึกษามากนัก และยังต้องมีการศึกษาเพื่อหาข้อมูลถึงหน้าที่ของ miRNA เพิ่มเติม

การเปลี่ยนแปลงทางด้าน Epigenetic ในโรค MDS[4,14]

ถึงแม้ว่าจะเป็นที่แน่ชัดว่าโรค MDS เป็นโรคที่มีความผิดปกติทางพันธุกรรม (cytogenetic) ของเซลล์ต้นกำเนิดเม็ดเลือด แต่อย่างไรก็ตามพบว่ามีเพียงร้อยละ 50 ของโรค MDS ที่พบความผิดปกติทางพันธุกรรมจากการตรวจแบบพันธุกรรมพื้นฐาน (conventional cytogenetics) สาเหตุที่แน่ชัดทางด้านพยาธิวิทยาที่ทำให้เกิดโรค MDS นั้น ยังต้องทำความเข้าใจเพิ่มเติมอยู่

โรค MDS ในระยะเริ่มแรกที่ค่อยๆเปลี่ยนไปเป็นมะเร็งเม็ดเลือดขาวฉับพลันนั้น สนับสนุนทฤษฎีการเกิดมะเร็งเม็ดเลือดขาวที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงหลายขั้นตอนทั้งในด้านเซลล์และในระดับโมเลกุลตั้งแต่ระยะเริ่มต้นไปจนถึงที่เกิดมีการดำเนินของโรค ดังแสดงในรูปที่ 4 สิ่งหนึ่งที่เป็นที่สังเกตในโรค MDS คือการตรวจพบเซลล์ในไขกระดูกเพิ่มขึ้น (bone marrow hypercellularity) ซึ่งตรงกันข้ามกับในเลือดที่ตรวจ complete blood count พบเซลล์น้อยลง โดยน่าจะอธิบายได้จากการที่มีการเพิ่มการสร้างเซลล์ต้นกำเนิดเม็ดเลือดและในขณะเดียวกันก็มีการตายของเซลล์ (apoptosis) เพิ่มขึ้นด้วย



รูปที่ 4 The model demonstrating the pathogenesis of myelodysplastic syndrome (Modified from reference 4)

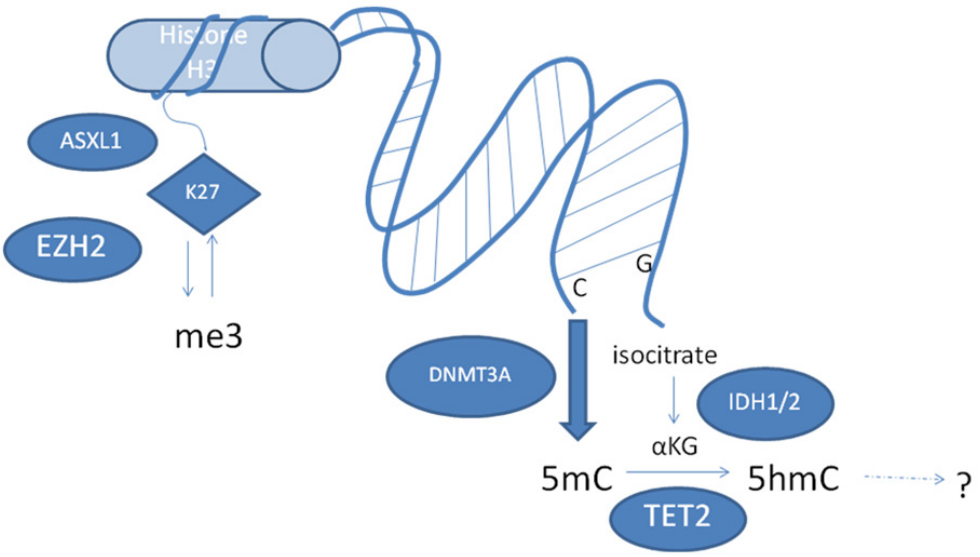
ความผิดปกติทางพันธุกรรมที่พบบ่อยในโรค MDS คือความผิดปกติแบบที่มีการขาดหายไปของโครโมโซม (chromosome loss) นอกจากนี้การเสียการทำงานของยีนยังอาจอธิบายได้จากกลไก epigenetics ทำให้ไม่มีการแสดงออกของยีนผ่านทางกลไกดังกล่าวข้างต้นในโครมโซมข้างที่ไม่ได้หายไป ดังนั้นโมเดลของ Knudson ที่อธิบายทฤษฎี two-hits ในการเกิดมะเร็งนั้นสามารถมาใช้ในการอธิบายการเกิดโรค MDS ได้ การศึกษาทางด้าน epigenetics ใน MDS จะมุ่งเน้นไปด้าน DNA methylation เป็นส่วนใหญ่ ซึ่งพบว่ามียีนหลายชนิดที่ไม่มีการ transcription เนื่องจากเกิด DNA methylation ที่ตำแหน่ง promoter ยีนดังกล่าวเกี่ยวข้องทั้งกับการควบคุม cell cycle (CKDN2A), การตายของเซลล์ (DAPK1, RIL), เกี่ยวข้องกับการยึดเกาะและการเคลื่อนที่ของเซลล์ (CDH1, CDH13) ใน MDS ส่วนมากจะพบการเกิด hypermethylation ของหลายๆยีนพร้อมๆกัน[4]

กลไกทางด้าน epigenetic 2 กลไกหลักที่ควบคุมยีนที่เกี่ยวข้องกับการเกิดมะเร็งใน MDS[4,15,16] ได้แก่

1. การเกิด hypermethylation ที่ผิดปกติของ gene promoter ในการเกิดโรค MDS และ AML พบว่าส่วนหนึ่งเกิดจากการที่ยีนไม่มีการแสดงออก (gene silencing) ที่ผิดปกติไป โดยเกิดจากกลไก hypermethylation ของ promoter ที่เกี่ยวข้องกับยีนที่ควบคุม cell adhesion molecule, cell cycle และ tumor suppressor gene ทำให้การควบคุมการเจริญเติบโตของเม็ดเลือดผิดปกติไป ใน MDS ยีน CDKN2B (P15) เป็นยีนที่มีรายงานว่าเกิดการ methylation ในร้อยละ 30-80 ของผู้ป่วย MDS และพบว่าสัมพันธ์กับอายุที่มากขึ้น deletion ของ 5q และ 7q และมีการพยากรณ์โรคที่ไม่ดี[17,18] ได้มีการตรวจแสกนยีนเพื่อหาการเกิด DNA methylation พบว่าตรวจพบจำนวนเป็นร้อยยีนที่มีการเกิด hypermethylation ในโรค MDS ซึ่งทำให้ได้ข้อสรุปเบื้องต้นได้ว่าการเริ่มต้นเกิด DNA methylation ทำให้เกิดโรค MDS ในระยะเริ่มต้น และเมื่อมีการเกิดการเปลี่ยนแปลงทางด้าน epigenetic อื่นๆร่วมด้วยให้โรคดำเนินรุนแรงมากขึ้นกลายเป็นมะเร็งเม็ดเลือดขาว (AML) ในที่สุด และเนื่องจากกลไก DNA methylation นี้เป็นกลไกที่สามารถทำให้ย้อนกลับได้ (reversible) จึงได้มีการศึกษาอย่างมากถึงยาที่จะมาใช้รักษาได้ ได้แก่ azacytidine, decitabine ซึ่งเป็น DNMT inhibitor ทำให้หยุดการเกิด methylation ได้[19,20] ยีนที่เกี่ยวข้องกับ DNA methylation ที่มีการศึกษาในการเกิดโรค MDS ได้แก่ DNMT3A, TET2 และ IDH1/2 ซึ่งมีความสัมพันธ์กับการเกิด DNA methylation ดังนี้

การเกิด methylation ที่ตำแหน่ง 5' ของ cytosine ใน CpG dinucleotides ต้องอาศัยเอนไซม์ DNA methyltransferases (DNMTs) ซึ่งตัวที่ทำหน้าที่เป็นหลักคือ DNMT3A และ DNMT3B ทำให้เกิด 5'-methylcytosine (5mC) ต่อจากนั้นจะถูกเปลี่ยนแปลงโดยโปรตีน Ten Eleven Translocation (TET) ได้แก่ TET1, TET2 และ TET3 เพื่อจะเปลี่ยน 5mC ให้เป็น 5'-hydroxymethylcytosine (5hmC) ซึ่งเป็นสารสื่อกลางที่จะนำไปสู่การเกิด demethylation ของ cytosine แต่ยังต้องทำการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับ 5hmC

โปรตีน TET ต้องอาศัย alpha-ketoglutarate (αKG) ในการออกฤทธิ์ โดย αKG ถูกสร้างมาจาก isocitrate ซึ่งต้องใช้เอนไซม์ isocitrate dehydrogenase1 และ 2 (IDH1/2) ในการเปลี่ยน isocitrate ให้เป็น αKG ดังนั้นจึงเป็นที่คาดการณ์ว่าการกลายพันธ์ของยีน DNMT3A, TET2 และ IDH1/IDH2 ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของ cytosine methylation และส่งผลต่อ gene



รูปที่ 5 Epigenetic changes in MDS both inDNA methylation and histone modification (modified from reference 21)

transcription โดยเกี่ยวข้องกับ 5mC หรือ 5hmC[21] ดังรูปที่ 5

1.1 การกลายพันธ์ของยีน DNMT3A พบครั้งแรกในโรค AML และพบ 8% ในโรค MDS การกลายพันธ์ที่พบบ่อยคือการเปลี่ยนของ arginine เป็น histidine ที่ตำแหน่ง 882 (R882H) ทำให้ลดการทำงานของเอนไซม์ DNMT3A ในหลอดทดลอง การกลายพันธุ์นี้พบใน MDS ทุกชนิด และพบว่าทำให้มีอัตราการรอดชีวิตที่เลวรวมไปถึงการเปลี่ยนไปเป็นมะเร็งเม็ดเลือดขาวที่เร็วขึ้นด้วย

1.2 การกลายพันธุ์ของยีน TET2 พบได้ทั้งแบบ missense, frame shift และ nonsense ในมะเร็งเม็ดเลือด myeloid ได้แก่ MDS พบร้อยละ 11-26, MDS/MPN (myelodysplastic syndrome/ myeloproliferative neoplasm) พบได้ร้อยละ 37-44 และใน sAML (secondary acute myeloid leukemia) ร้อยละ 11-24 พบว่าการกลายพันธุ์ทำให้การทำงานของ TET2 เสียไป ส่งผลให้เกิดการสร้าง 5hmC ลดลง แต่อย่างไรก็ตามยังไม่พบความสัมพันธ์ที่ชัดเจนของการกลายพันธุ์ของ TET2 กับอัตราการรอดชีวิต

1.3 การกลายพันธุ์ของยีน IDH1/IDH2 พบได้น้อยใน MDS คือร้อยละ 4-11 พบใน sAML ร้อยละ 8-10 พบว่าผู้ป่วยที่มีการกลายพันธุ์ของยีน IDH1 มีอัตราการรอดชีวิตโดยรวมที่ต่ำกว่า

2. การเกิด post-translational modification ของ histone

การศึกษาเกี่ยวกับ histone modification ยังไม่มีมากเหมือนดังเช่น DNA methylation ยาที่เกี่ยวข้องกับกลไกนี้ที่ใช้ในการรักษาโรค MDS ได้แก่ valproic acid ซึ่งเป็น HDAC inhibitor[22,23] การกลายพันธุ์ของยีนที่เกี่ยวข้องกับการควบคุม histone ได้แก่[24]

2.1 การกลายพันธุ์ของยีน EZH2 มีชื่อย่อมาจาก enhancer of zeste homolog 2 เป็นโปรตีนในกลุ่ม polycomb ทำหน้าที่ methylation ของโปรตีน histone H3 ที่ตำแหน่ง K27 (lysine 27) ทำให้ลดการเกิด transcription และพบว่าอาจจะสัมพันธ์กับอัตราการรอดชีวิตที่ต่ำ การกลายพันธุ์ของยีน EZH2 พบได้ร้อยละ 2-6 ในโรค MDS

2.2 การกลายพันธุ์ของยีน ASXL1 มีชื่อย่อมาจาก additional sex comb-like 1 ทำหน้าที่ดูแลการกระตุ้นหรือการลดการเกิด transcription ในเซลล์ต่างๆ พบการกลายพันธุ์ของ ASXL1 ในโรค MDS ได้ร้อยละ 11-15

ความผิดปกติของยีนที่พบในโรค Myelodysplastic syndrome/ myeloproliferative neoplasm (MDS/MPN)[24]

ความผิดปกติระดับโมเลกุลที่พบบ่อยใน CMML (chronic myelomonocytic leukemia) ซึ่งเป็นหนึ่งในกลุ่ม MDS/MPN คือ การกลายพันธุ์ของยีน NRAS หรือ KRAS โดยพบได้ถึง 1 ใน 3 ของทั้งหมด แต่ยังไม่พบความสำคัญที่เกี่ยวข้องกับพยาธิกำเนิดหรือการพยากรณ์ของโรค นอกจากนี้ยังพบการกลายพันธุ์ของยีนอื่นที่มีความสำคัญในโรค CMML ได้แก่ การกลายพันธุ์ของยีน TET2 และ CBL พบว่าเป็นตัวบ่งบอกถึงการเพิ่มจำนวนของโคลน CMML ในขณะที่การกลายพันธุ์ของยีน ASXL1, RUNX1 และ EZH2 สัมพันธ์กับการดำเนินของโรคที่เลวลง

กล่าวโดยสรุปแล้วกลไกของการควบคุม epigenetics มีบทบาทอย่างมากในพยาธิการเกิดโรคมะเร็งโดยเฉพาะโรค myelodysplastic syndrome ซึ่งการศึกษาและทำความเข้าใจถึงกลไกดังกล่าวให้ละเอียดมากขึ้น จะเป็นแนวทางนำไปสู่การคิดค้นยาที่นำไปใช้ในพัฒนาวิธีการรักษาให้ดีขึ้นในอนาคต

เอกสารอ้างอิง

1. *Jorde LB, "Chapter 10. Genomics and Epigenetics". Lichtman MA, Kipps TJ, Seligsohn U, Kaushansky K, Prchal, JT: Williams Hematology, 8e: http://www.accessmedicine.com/content.aspx?aID=6127928.*
2. *Musolino C, Sant'Antonio E, Penna G, Alonci A, Russo S, Granata A, et al. Epigenetic therapy in myelodysplastic syndrome. Eur J Haemat 2010;84:463-73.*
3. *Issa JP. Epigenetic changes in the myelodysplastic syndrome. Hematol Oncol Clin North Am 2010;24:317-30.*
4. *Vigna E, Recchia AG, Madeo A, Gentile M, Bossio S, Mazzone C, et al. Epigenetic regulation in myelodysplastic syndrome. Expert Opin. Investig. Drugs 2011;20:465-293.*
5. *Downloadable at http://scienceblogs.com/transcript/upload/2006/08/nucleosome.gif*
6. *Jenuwein T, Allis CD. Translating the histone code. Science 2001;293:1074-80.*
7. *Lachner M, Jenuwein T. The many faces of histone lysine methylation. Curr Opin Cell Biol 2002;14:286-98.*
8. *Mistry AR, Pedersen EW, Solomon E, Grimwade D. The molecular pathogenesis of acute promyelocytic leukaemia: implications for the clinical management of the disease. Blood Rev 2003;17:71-97.*
9. *Lehrmann H, Pritchard LL, Harel-Bellan A. Histone acetyltransferases and deacetylases in the control of cell proliferation and differentiation. Adv Cancer Res 2002;86:41-65.*
10. *Armstrong SA, Golub TR, Korsmeyer SJ. MLL-rearranged leukemias: insights from gene expression profiling. Semin Hematol 2003;40:268-73.*
11. *Varambally S, Dhanasekaran SM, Zhou M, Barrette TR, Kumar-Sinha C, Sanda MG, et al. The polycomb group protein EZH2 is involved in progression of prostate cancer. Nature 2002;419:624-9.*
12. *Herman JG, Baylin SB. Gene silencing in cancer in association with promoter hypermethylation. N Engl J Med 2003;349:2042-54.*
13. *Starczynowski DT, Kuchenbauer F, Argiropoulos B, et al. Identification of miR-145 and miR-146a as mediators of the 5q-syndrome phenotype.*

Nat Med 2010;16:49-58.

14. *Orazi A, Czader MB. Myelodysplastic syndromes. Am J Clin Pathol 2009;132:290-305.*
15. *Stintzing S, Kemmerling R, Kiesslich T, Alinger B, Ocker M, Neureiter D. Myelodysplastic syndrome and histone deacetylase inhibitors: "To be or not to be acetylated"? J Biomed Biotechnol 2011;2011:214143.*
16. *Fathi AT, Abdel-Wahab O. Mutations in epigenetic modifiers in myeloid malignancies and the prospect of novel epigenetic-targeted therapy. Adv Hematol 2012;2012:469592.*
17. *Au WY, Fung A, Man C, Ma SK, Wan TS, Liang R, et al. Aberrant p15 gene promoter methylation in therapy-related myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukemia: clinicopathological and karyotypic associations. Br J Haematol 2003;120:1062-5.*
18. *Christiansen DH, Andersen MK, Pedersen-Bjergaard J. Methylation of p15(INK4B) is common, is associated with deletion of genes on chromosome arm 7q and predicts a poor prognosis in therapy-related myelodysplasia and acute myeloid leukemia. Leukemia 2003;17:1813-9.*
19. *Silverman LR, Demakos EP, Peterson BL, et al. Randomized controlled trial of azacitidine in patients with the myelodysplastic syndrome: a study of the cancer and leukemia group B. J Clin Oncol 2002;20:2429-40.*
20. *Daskalakis M, Nguyen TT, Nguyen C, et al. Demethylation of a hypermethylated P15/INK4B gene in patients with myelodysplastic syndrome by 5-Aza-2'-deoxycytidine (decitabine) treatment. Blood 2002;100:2957-64.*
21. *Graubert T, Walter MJ. Genetics of myelodysplastic syndromes: new insights. Hematology 2011:543-9.*
22. *Blum W, Klisovic RB, Hackanson B, et al. Phase I study of decitine alone or in combination with valproic acid in acute myeloid leukemia. J Clin Oncol 2007;25:3884-91*
23. *Garcia-Manero G, Kantarijian HM, Sanchez-Gonzalez B, et al. Phase ½ study of the combination of 5-aza-2'-deoxycytidine with valproic acid in patients with leukemia. Blood 2006;108:3271-9.*
24. *Cazzola M, Malcovati L, Invernizzi R. Myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms. Hematology 2011:264-72.*