บทคัดย่อ

รหัสโครงการ : RMU 5080064

ชื่อโครงการ : บทบาทของดีเอนเอ methylation กับการเกิดโรคสะเก็ดเงินและกลไกการควบคุมภาวะ methylation ในโรคสะเก็ดเงิน

ชื่อนักวิจัย : รศ.ดร.พญ. จงกลนี วงศ์ปิยะบวร

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

E-mail Address: jongkonnee.w@chula.ac.th, jongkonneew@gmail.com

ระยะเวลาโครงการ : 3 ปี (1 มิถุนายน 2550 - 31 พฤษภาคม 2553)

โรคสะเก็ดเงินเป็นโรคผิวหนังที่พบได้บ่อย อุบัติการณ์ของโรคสะเก็ดเงินประมาณร้อยละ 1-3 ของประชากรโลก สาเหตุของการเกิดโรคยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด จากข้อมูลที่ผ่านมาพบว่า การเปลี่ยนแปลงแบบนอกหนือยีน (epigenetics) มีความสำคัญต่อการเกิดโรคสะเก็ดเงิน คณะผู้วิจัยทำการศึกษาการเกิดดีเอนเอเมทิลเลชั่นของยีนทั้งแบบครอบคลุมทั้งยีโนมและแบบจำเพาะแต่ละยีนกับการแสดงออกของยีนดังกล่าวในเซลล์ผิวหนัง และเซลล์เม็ดเลือดขาวต่างๆเปรียบเทียบระหว่างคนปกติและผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงินชนิดพลาคกลุ่มละ 20 ราย โดยการศึกษาแบบครอบคลุมทั้งยีโนมทำโดยศึกษาระดับดีเอนเอเมทิลเลชั่นของ long-interspersed nuclear element-1 (LINE-1) repetitive sequences ส่วนการศึกษายีนที่จำเพาะได้เลือกศึกษายีน ID4 และยีน BCAP31 จากผลการศึกษาโดยวิธีเมทิลเลชั่นไมโครอะเร (methylation microarray) และทำการศึกษาระดับดีเอนเอ เมทิลเลชั่นโดยวิธีเมทิลเลชั่น สเปสิฟิก พลายเมอร์ (MSP) และ ไบเซลไฟล์โคลนนิ่งแอนซีเควนซิ่ง (bisulfite cloning and sequencing) จากนั้นศึกษาระดับการแสดงออกของยีน ID4 และ BCAP31 พร้อมทั้งดูความสัมพันธ์กับระดับดีเอนเอเมทิลเลชั่นของยีนดังกล่าวนอกจากนี้ยังศึกษาระดับ IL-22ในซีรั่มก่อนและหลังการรักษาด้วยยาเมโทรเทคเซต ซึ่งเป็นยาที่มีรายงานว่าเปลี่ยนแปลงระดับดีเอนเอเมทิลเลชั่น

พบว่าเซลล์ผิวหนังกำพร้าและเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดนิวโตรฟิลของผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงินจะมีการลดลงของระดับดีเอ็นเอเมทิลเลชั่นของยีน LINE-1 เมื่อเทียบกับคนปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p=0.002 และ p=0.019 ตามลำดับ) และพบการเกิดภาวะโปรโมเตอร์ไฮเปอร์เมทิลเลชั่นของยีน ID4สัมพันธ์กับการลดการแสดงออกของยีนบริเวณที่เกิดพาราเคอราโตซีส(parakeratosis) เกิดภาวะโปรโมเตอร์ไฮเปอร์เมทิลเลชั่นของยีนBCAP31สัมพันธ์กับการลดการแสดงออกของยีนในเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดนิวเคลียสเดียว(peripheral monomuclear cells) ของผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงินอย่างมีนัยสำคัญ(p<0.0001) นอกจากนี้ยังพบว่าระดับซีรั่ม IL-22 ในผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงินสูงกว่าคนปกติอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.001) และยังสัมพันธ์กับความรุนแรงของโรค (r=0.63, p=0.004) ระดับซีรั่ม IL-22 ลดลงอย่างมีนัยสำคัญหลังการรักษาโดยยาเมตโทรเทคเซต (p<0.001)

จากผลการศึกษาดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าภาวะดีเอนเอเมทิลเลชั่นทั้งที่เกิดทั่วทั้งยีโนมและยีนที่จำเพาะมีความสำคัญต่อพยาธิกำเนิด และการดำเนินโรคสะเก็ดเงิน

คำหลัก : โรคสะเก็ดเงิน, ดีเอนเอเมทิลเลชั่น, LINE-1, ID4, BCAP31, IL-22

Abstract

Project Code: RMU 5080064

Project Title: Roles of DNA methylation in psoriasis and mechanisms which control methylation in psoriasis

Investigator: Assoc. Prof. Jongkonnee Wongpiyabovorn

Faculty of Medicine, Chulalongkorn University

E-mail Address: jongkonnee.w@chula.ac.th, jongkonneew@gmail.com

Project Period: 3 years (1 June 2007 – 31 May 2010)

Psoriasis is a common autoimmune skin disease, affecting approximately 1-3% of the population worldwide. Etiology of the disease is still unclear. Recently, epigenetic phenomena have also been implicated in the pathogenesis of psoriasis. We investigated genome-wide and gene-specific DNA methylation in 20 chronic plaque type psoriasis patients compared to 20 healthy controls. Long-interspersed nuclear element-1 (LINE-1) repetitive sequences were used for genome-wide methylation. The candidate genes, ID4 and BCAP31, were selected from methylation microarray data and analyzed using methylation specific primer (MSP) and bisulfite cloning and sequencing. Moreover, serum IL-22 level was analyzed before and after treatment with methotrexate which is the methylation modifying drug.

The LINE-1 methylation level of keratinocytes and total leukocytes from psoriasis patients were significantly lower than from healthy subjects ($p < 0.002$ and $p=0.019$, respectively). For candidate gene, inverse correlation between *ID4* promoter hypermethylation and mRNA expression associated with parakeratosis was found in psoriasis. Additionally, inverse correlation between *BCAP31* promoter hypermethylation and mRNA expression was found in peripheral mononuclear cells from psoriasis patients. Moreover, serum IL-22 levels were significantly higher in psoriasis patients than in controls. There was a significant positive correlation between IL-22 levels and PASI ($r=0.63$, $p=0.004$). Methotrexate significantly reduced serum levels of IL-22 in psoriasis patients ($p<0.001$).

In conclusion, our study demonstrated genome-wide and gene-specific DNA methylation play important role in pathogenesis and course of psoriasis

Keywords: psoriasis, DNA methylation, LINE-1, ID4, BCAP31, IL-22