

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ: TRG5780181

ชื่อโครงการ: การพิสูจน์ตัวบ่งชี้เมทิลเลชันที่จำเพาะต่อเซลล์ตับของดีเอ็นเอในกระแสเลือดของผู้ป่วยโรคตับ

ชื่อนักวิจัย และสถาบัน: ดร. นริศร คงรัตนโชค

อีเมล: Ruttivan@gmail.com

ระยะเวลาโครงการ: 2 มิถุนายน 2557 ถึงวันที่ 1 มิถุนายน 2559

บทคัดย่อ:

ความเป็นมา: การเปลี่ยนแปลงของภาวะเหนือพันธุกรรมของดีเอ็นเอในเลือดผู้ป่วยถูกวิเคราะห้เพื่อใช้ในการวินิจฉัย และการพยากรณ์ของโรค ระดับดีเอ็นเอเมทิลเลชันของยีน SHP1P2 ถูกนำมาใช้เพื่อเป็นตัวบ่งชี้เฉพาะเจาะจงของเยื่อบุผิว สำหรับตัวบ่งชี้เฉพาะเจาะจงของตับเราทำการตรวจสอบความถูกต้องของระดับดีเอ็นเอเมทิลเลชันของยีน DSU ก่อน จากนั้นเราจึงตรวจสอบว่าระดับดีเอ็นเอเมทิลเลชันของยีน DSU และ SHP1P2 สามารถนำมาใช้เป็นตัวบ่งชี้ภาวะเหนือพันธุกรรมสำหรับตรวจวินิจฉัย และการพยากรณ์ของโรคตับได้หรือไม่

วิธีการ: ไฟโรซีควนซ์ถูกนำมาใช้เพื่อระบุรูปแบบเมทิลเลชันของยีน DSU โดยการเปรียบเทียบระดับเมทิลเลชัน ระหว่างเนื้อเยื่อปกติชนิดต่างๆ เซลล์ไลน์ชนิดต่างๆ และ เนื้อเยื่อมะเร็งของตับและของท่อน้ำดี สำหรับ เทคนิคเรียลไทม์พีซีอาร์ถูกนำมาใช้เพื่อตรวจหาปริมาณระดับดีเอ็นเอเมทิลเลชันของยีน DSU และ SHP1P2 ในพลาสมาของผู้ป่วยโรคตับ (โรคตับอักเสบบีเรื้อรัง โรคตับแข็ง และ มะเร็งตับ) และผู้ที่มีสุขภาพดี

ผล: ระดับเมทิลเลชันสูงของยีน DSU พบได้เฉพาะในเนื้อเยื่อตับปกติและเซลล์ตับ นอกจากนั้นเนื้อเยื่อของตับปกติและของมะเร็งตับมีระดับเมทิลเลชันสูงกว่าเนื้อเยื่อของมะเร็งท่อน้ำดีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.001$ และ $P < 0.05$ ตามลำดับ) ระดับเมทิลเลชันของยีน DSU และ SHP1P2 ในผู้ป่วยมะเร็งตับมีค่าสูงกว่าผู้ที่มีสุขภาพดีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P = 0.045$ และ $P < 0.001$ ตามลำดับ) ระยะของโรคและอัตราการรอดชีวิตมีความสัมพันธ์กับระดับเมทิลเลชันของ SHP1P2 ที่สูงขึ้น ($P < 0.001$ และ $P = 0.018$ ตามลำดับ) แต่ไม่มีความสัมพันธ์กับยีน DSU

สรุป: ยีน SHP1P2 เป็นตัวบ่งชี้ภาวะเหนือพันธุกรรมสำหรับการตรวจวินิจฉัยมะเร็งตับที่ดีกว่ายีน DSU อย่างไรก็ตามยีน DSU มีความเป็นไปได้ที่จะใช้เป็นตัวบ่งชี้ทางนิติวิทยาศาสตร์สำหรับการสืบสวนอาชญากรรม เนื่องจากเป็นตัวบ่งชี้เมทิลเลชันดีเอ็นเอที่จำเพาะต่อตับ

คำหลัก : Epigenetic marker, hepatocellular carcinoma, tissue specific DNA methylation, Circulating DNA

Abstract

Project Code : TRG5780181

Project Title : The validation of hepatocyte-specific DNA methylation marker in circulating nucleic acids of patient with liver disease

Investigator : Narisorn Kongruttanachok

E-mail Address : Ruttiwan@gmail.com

Project Period : 2 June 2014 to 1 June 2016

Abstract:

Background: Epigenetic alterations of circulating DNA are detected in patients for diagnosis and progression of diseases. *SHP1P2* genes was utilized to be an epithelial-specific DNA methylation marker. For a hepatocyte-specific DNA methylation marker, we was validated methylation profile of *DSU* gene. Then, we investigated whether *DSU* and *SHP1P2* genes could be non-invasive epigenetic markers for liver diseases.

Method: Pyrosequencing was used to identify the methylation patterns of *DSU* gene by comparing the methylation levels among different normal tissue types, different cell lines and tissue samples of HCC and cholangiocarcinoma. Tissue-specific methylated multiplex real-time PCR technique was applied to quantify methylated DNA levels of *DSU* and *SHP1P2* genes in plasma of patients with liver disease (chronic hepatitis B, cirrhosis and HCC) and healthy controls.

Result: The hypermethylation status of *DSU* gene was only found in liver tissues and hepatocyte cell line. Moreover, the normal and tumor liver tissues had significant hypermethylation levels when compared with cholangiocarcinoma ($P<0.001$ and $P<0.05$, respectively). The methylation levels of *DSU* and *SHP1P2* were significantly higher in patients with HCC than healthy controls ($P=0.045$ and $P<0.001$, respectively). Stages and survival rate were associated with higher *SHP1P2* methylation level ($P<0.001$ and $P=0.018$, respectively), but not *DSU* gene.

Conclusion: *SHP1P2* gene is a better epigenetic marker for HCC than *DSU* gene. However, *DSU* gene is a potential forensic marker for criminal investigations because it is a hepatocyte-specific DNA methylation marker.

Keywords: Epigenetic marker, hepatocellular carcinoma, tissue specific DNA methylation, Circulating DNA