

รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

การศึกษาความสัมพันธ์ของยีน *RELN* และยีน *MET*
ในเด็กไทยที่มีภาวะออทิซึมสเปกตรัม

รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ พรพรด ลี้มประเสริฐ
ภาควิชาพยาธิวิทยา
คณะแพทยศาสตร์
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

บทคัดย่อ

ออทิซึมสเปกตรัม เป็นกลุ่มอาการของโรคทางระบบประสาท โดยผู้ป่วยมีพัฒนาการล่าช้าและมีความผิดปกติ 3 ด้านหลัก ได้แก่ พัฒนาการด้านสังคม พัฒนาการด้านการสื่อสารและภาษา การมีพฤติกรรมและความสนใจซ้ำๆ การศึกษาจีโนมไวต์สแกนหลายการศึกษาพบตำแหน่งยีนบนโครโมโซม 7 แขนข้างยาว ความสัมพันธ์กับภาวะออทิซึม การศึกษานี้เลือกศึกษา 2 ยีนที่อยู่บริเวณดังกล่าวคือ ยีน *RELN* ที่ตำแหน่ง 7q22 ทำหน้าที่สร้างโปรตีนที่มีบทบาทสำคัญในการเคลื่อนย้ายเซลล์และการพัฒนาของการเชื่อมโยงเซลล์ประสาท และยีน *MET* ที่ตำแหน่ง 7q31.2 เป็นยีนที่สร้างโปรตีนตัวรับไทโรซีนไคเนสซึ่งจะจับกับ hepatocyte growth factor (HGF) ซึ่งเกี่ยวข้องกับกระบวนการทำงานของเซลล์ กระบวนการพัฒนาของเซลล์ และกระบวนการซ่อมแซม วัตถุประสงค์ของการวิจัยนี้เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของยีน *RELN* และยีน *MET* กับเด็กไทยที่มีภาวะออทิซึมสเปกตรัม ศึกษาจำนวนซ้ำ GGC บริเวณ 5'UTR ของยีน *RELN* ในผู้ป่วยออทิซึมสเปกตรัมจำนวน 188 ราย และกลุ่มควบคุมจำนวน 272 ราย ด้วยวิธี fluorescent PCR และศึกษา SNP 14 ตำแหน่งบนยีน *RELN* และยีน *MET* จากฐานข้อมูล SNP สNP 7 ตำแหน่งบนยีน *RELN* ประกอบด้วย rs2299388 rs607755 rs2072403 rs362691 rs2159676 rs362746 rs736707 และ SNP อีก 7 ตำแหน่งบนยีน *MET* ประกอบด้วย rs1858830 rs38845 rs10243024 rs38859 rs13223756 rs2299439 rs2023748 ศึกษาจีโนไทป์ SNP ด้วยวิธีไบแอลลีลิกอาร์มพีซีอาร์และวิธีพีซีอาร์อาร์เอฟแอลพี ทำการศึกษา SNP ทั้งหมดในผู้ป่วยออทิซึมสเปกตรัม 188 ราย พ่อแม่ 320 คน และกลุ่มควบคุม 250 คน ผู้ป่วยทุกรายได้ผ่านการประเมินภาวะออทิซึมโดยใช้แบบประเมิน DSM-IV และทดสอบระดับสติปัญญา (non-verbal IQ) โดยใช้แบบทดสอบ Stanford-Binet Intelligence Scale: Fifth Edition (SB:V) ศึกษาความสัมพันธ์ของแอลลีลและจีโนไทป์โดยวิธี Population based case control โดยใช้ไคสแควร์ และการถ่ายทอดแอลลีลในครอบครัวด้วยวิธี Transmission Disequilibrium Test (TDT) ผลการศึกษาพบความถี่แอลลีลและจีโนไทป์ของจำนวนซ้ำ GGC ≥ 14 ซ้ำในผู้ป่วยออทิซึมสเปกตรัมสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P = 0.0061$ สำหรับแอลลีล และ $P = 0.0025$ สำหรับจีโนไทป์) การศึกษาความสัมพันธ์ของ SNP บนยีน *RELN* และยีน *MET* ไม่พบความแตกต่างทางสถิติจากการศึกษาแบบ Population based case control และการศึกษาแบบ Family based association ของ SNP ทั้ง 14 ตำแหน่ง การทดสอบความสัมพันธ์แฮพลไทป์พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของแฮพลไทป์แบบ T-A-G-A ของ SNP rs38859-rs13223756-rs2299439-rs2023748 บนยีน *MET* มีการถ่ายทอดจากพ่อแม่มาสู่ลูกมากกว่าที่คาดไว้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P = 0.040$) การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่ายีน *RELN* และยีน *MET* เป็นยีนที่เป็นปัจจัยหนึ่งในการส่งเสริมการเกิดภาวะออทิซึมในเด็กไทย ในอนาคตควรมีการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อยืนยันผลความสัมพันธ์ดังกล่าวนี้

ABSTRACT

Autism Spectrum Disorders (ASD) are a group of neurodevelopmental disorder with complex genetic etiology. They are characterized by impairments in three domains, reciprocal social interaction, communication deficits and repetitive and restricted patterns of behavior and interests. Several genome-wide scan studies have indicated the presence of an autism susceptibility locus within the long arm of chromosome 7 (7q). Two prominent candidate genes are the *RELN* gene (7q22) which encodes a signaling protein that plays an important role in the migration and in the development of neural connections and the *MET* gene (7q31.2) which encodes the MET receptor tyrosine kinase that is involved in mediating hepatocyte growth factor (HGF) signaling in a number of physiological, developmental, and repair processes. The objective of this study was to investigate associations of the *RELN* and *MET* genes with ASD in Thai children. Genotyping of GGC repeats polymorphisms at 5'UTR of the *RELN* gene was performed in 188 autistic subjects and 272 controls by fluorescent PCR. For the Single Nucleotide Polymorphism (SNP) study, we selected 14 SNPs in the *RELN* and *MET* genes through the SNP database. Seven of them are located in the *RELN* gene including rs2299388, rs607755, rs2072403, rs362691, rs2159676, rs362746, rs736707, and the other seven are located in the *MET* gene including rs1858830, rs38845, rs10243024, rs38859, rs13223756, rs2299439, rs2023748 which were identified genotyping by Biallelic-ARMS PCR and PCR-RFLP techniques. The SNP study included 188 autistic patients, 320 parents and 250 controls. All patients were given a clinical diagnosis of autism based on the DSM-IV and non verbal-IQ was tested by the Stanford-Binet Intelligence Scale: Fifth Edition (SB:V). Two statistical methods were used in this study; the population based case control study used the Chi-square test and the family based association study used the Transmission Disequilibrium Test (TDT). Results; Allele frequencies and genotype distributions of GGC \geq 14 repeats showed strong associations between cases and controls by Chi-square test ($P = 0.0061$ for allele, $P = 0.0025$ for genotype). No significant association was found between SNPs of either the *RELN* and *MET* genes in either the population based case control or the family-based association studies using TDT. In addition, haplotype T-A-G-A for markers rs38859, rs13223756, rs2299439 and rs2023748 of the *MET* gene was overtransmitted to the affected offspring ($P = 0.040$). Overall, our findings suggest that the *RELN* and *MET* genes are associated with autism spectrum disorders in Thai children. Further studies will be required to confirm this association.