

บทความพื้นวิชา

ความรู้เกี่ยวกับธาลัสซีเมียชนิดอัลฟา

วิพร วิประภิต และ วรวรรณ ต้นไผจิต

สาขาวิชาโลหิตวิทยา ภาควิชากุมารเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล

ธาลัสซีเมียชนิดอัลฟา (α -thalassemia) เป็นภาวะที่มีการสร้างสายโกลบินชนิดอัลฟา (α -globin) ลดลง (α^+) หรือยุติการสร้างโดยสิ้นเชิง (α^-) เป็นสาเหตุที่นำไปสู่โรคโลหิตจางธาลัสซีเมียชนิด H (Hb H disease) ภาวะฮีโมโกลบินบาร์โฟไฮดรอป (Hb Bart's hydrops fetalis) และ กลุ่มอาการที่เกิดจากการมี abnormal hemoglobin คือ ฮีโมโกลบินอี (Hb E) และ β -thalassemia ร่วมกับ ได้แก่ AE Bart's disease และ EF Bart's disease

ยีน α -thalassemia ถือเป็นยีนพันธุกรรม ที่มีความชุกมากที่สุดในโลก¹ พบได้มากในแถบเอเชียตะวันออกเฉียง (จีน ไต้หวัน เกาหลี) เอเชียตะวันออกเฉียงใต้ รวมทั้งบางส่วนของประเทศในแถบเมดิเตอร์เรเนียน ซึ่งเป็นถิ่นที่มีการระบาดของเชื้อมาลาเรียอันเป็นปัจจัยสำคัญที่เกี่ยวข้องกับการพบความชุกของยีนดังกล่าว²

ความก้าวหน้าในทางอณูชีววิทยา ทำให้มีการค้นพบกลุ่มอาการใหม่ๆ ที่เกี่ยวข้องกับ α -thalassemia เพิ่มขึ้น นอกจากนี้ยังสามารถสร้างความเข้าใจในรายละเอียดของความผิดปกติของยีนที่เกิดขึ้น เพื่อนำไปสู่การปรับใช้ทางคลินิก และการพยากรณ์โรค ตลอดจนผลของยีน α -thalassemia ที่มีต่อประเด็นอื่นๆ เช่นการป้องกันการติดเชื้อมาลาเรีย ภาวะความดันโลหิตสูง ซึ่งบทความนี้จะได้กล่าวในรายละเอียดต่อไป

ได้รับต้นฉบับ 8 พฤศจิกายน 2542 และให้ตีพิมพ์ 19 พฤศจิกายน 2542
ต้องการสำเนาต้นฉบับติดต่อ ศ.พญ.วรวรรณ ต้นไผจิต สาขาวิชาโลหิตวิทยา ภาควิชากุมารเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล 2 ถนนพหลโยธิน เขตบางกอกน้อย กรุงเทพฯ 10700

Molecular biology ของ α -globin gene³⁻⁶

ยีนอัลฟาโกลบินอยู่บนโครโมโซมที่ 16 ในตำแหน่ง 16p 13.3 ซึ่งอยู่ก่อนไปทางปลายสุดของแขนโครโมโซมข้างสั้น (subtelomeric region) ประกอบด้วยยีน 7 ตำแหน่ง ได้แก่ ζ_2 , $\psi \zeta$, $\psi \alpha_2$, $\psi \alpha_1$, α_2 , α_1 และ θ_1 เรียงลำดับจากปลายด้าน 5' ไปยัง 3' รวมเรียกว่า α -globin gene cluster

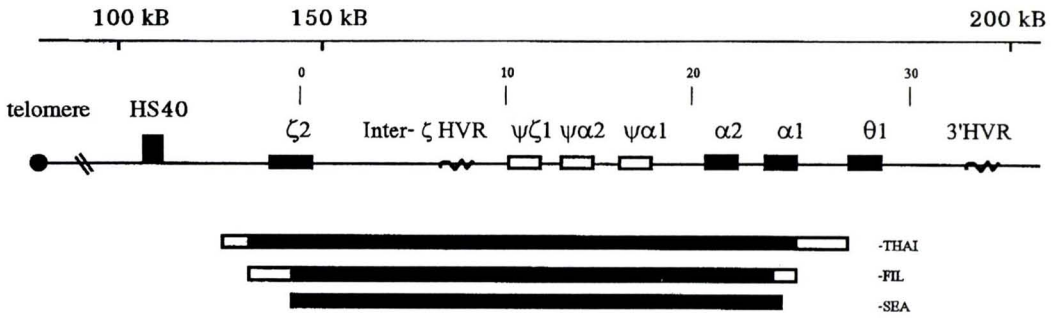
ยีน ζ_2 สร้างสายโกลบินชนิดซีสตาร์ ซึ่งเป็นส่วนประกอบของฮีโมโกลบินในระยะเอ็มบริโอ คือ Hb Gower¹ ($\zeta_2 \epsilon_2$) และ Hb Portland ($\zeta_2 \gamma_2$) ซึ่งจะลดบทบาทลงภายหลังอายุครรภ์ 8 สัปดาห์

ส่วนยีน α_2 และ α_1 เป็นยีนสำคัญในการสร้างสายอัลฟาโกลบิน เพื่อประกอบเป็น Hb F ($\alpha_2 \gamma_2$) ในระยะฟิโตส และ Hb A ($\alpha_2 \beta_2$) ในระยะหลังคลอด การทำงานตามปกติต้องอาศัยยีนดังกล่าว ทั้ง 4 โคลัส จากโครโมโซม 16 ที่เข้าคู่กัน

สำหรับ $\psi \zeta$, $\psi \alpha_2$, $\psi \alpha_1$ เป็นยีนเทียม (pseudogene) ที่ไม่สร้างสายโกลบิน ส่วน θ_1 (ซีสตาร์) เป็นยีนที่ยังไม่ทราบหน้าที่และบทบาทในปัจจุบัน

ส่วนประกอบและโครงสร้างของยีนอัลฟาโกลบิน (รูปที่ 1)

1. ส่วนควบคุม α -major regulatory element (α MRE) หรือ HS-40 เนื่องจากเป็นตำแหน่งของ erythroid specific DNAase I hypersensitive site (HS) อยู่ห่างจากยีน ζ_2 ไปทาง 5' (upstream) เป็นระยะ 40 kb คล้ายคลึงกับตำแหน่ง LCR (locus control region)



รูปที่ 1 แสดงการวางตัว และตำแหน่งที่สำคัญใน α -globin gene cluster และภาวะ α -thalassemia ที่เกิดจากการขาดหายของยีน α_2 และ α_1 ในประเทศไทย

ใน β -thalassemia ตำแหน่งดังกล่าวจะเป็นที่จับของ trans acting factor ได้แก่ NFE2/AP1, GATA-1 และ CAC box protein ซึ่งหากส่วนของ HS 40 นี้ขาดหายไป α -globin gene ก็จะไม่สามารถทำงานได้

2. ส่วน α -globin gene cluster ซึ่งประกอบด้วย ยีน 7 ตำแหน่งดังกล่าว มีขนาดสั้นและตำแหน่งอยู่ห่างจากปลายสุด (telomere) ได้หลากหลาย ตั้งแต่ 170-340 kb เนื่องจากมี polymorphic length variation

ส่วนของ α -globin gene cluster และ DNA ที่อยู่รายรอบ ประกอบด้วย ตำแหน่งที่มีเบสชนิด G-C เป็นหลัก รวมทั้ง Alu family repeat ซึ่งเป็นกลุ่มของ DNA ที่มีลำดับเบสซ้ำกัน และถูกตัดย่อยได้ด้วย restriction enzyme Alu I ชุดเบสที่ซ้ำๆ กัน (variable number of tandem repeats : VNTRs) และ Cp G island ส่วนของ G-C riched DNA และ Alu repeat คิดเป็น 54% และ 26% ของความยาวของสาย DNA ทั้งหมด

เช่นเดียวกับยีนที่สร้างสายโกลบินทุกชนิด ยีนอัลฟาประกอบด้วย 3 exon ที่ใช้แปลรหัสเป็นโปรตีน และ 2 intervening sequence (IVS) หรือ intron ที่อยู่คั่น

ยีน α_2 และ α_1 มีความคล้ายคลึงกันอย่างมาก สามารถถอดรหัสสร้างเป็นสายโกลบินชนิดอัลฟาที่ไม่แตกต่างกัน เฉพาะในส่วน IVS 2 และ 3' non-coding regions เท่านั้น ที่แตกต่างกันเพียงลำดับเบสบางตัว

การแสดงออกของยีน α_2 จะมากกว่ายีน α_1 ในสัดส่วน 3:1 ตั้งแต่ยีนทั้งสองเริ่มต้นทำงาน

ความหลากหลายในทางโครงสร้าง (structural variability)

โครงสร้างของ α -globin gene cluster มีความหลากหลายมาก จากการเปลี่ยนแปลงในลำดับเบสของ DNA และจำนวนชุดของยีน ซึ่งเป็นผลมาจาก point mutation gene rearrangement และ gene conversion ความหลากหลายดังกล่าว ไม่มีผลต่อการสร้างสาย α -globin และต่อการสร้างฮีโมโกลบินแต่อย่างใด แต่จะมีประโยชน์ในการศึกษาทางมานุษยวิทยา เพื่อบอกถึงการสืบสายพันธุ์ในกลุ่มชนต่างๆ

ความหลากหลายนี้เกิดขึ้นได้จาก

1. Hypervariable regions (HVR) เนื่องจาก VNTRs หรือ minisatellites ในตำแหน่งต่างๆ เช่น α -globin 3'-HVR, inter ζ HVR และภายใน ζ -like genes (ζ intron HVRs) และ 5'-HVR ซึ่งเป็นตำแหน่งที่มี HS -40 วางตัวอยู่

2. ความแตกต่างในจำนวนของ α -like globin gene

ในระหว่างวิวัฒนาการอาจมีการแลกเปลี่ยนชิ้นส่วนของโครโมโซมที่ไม่เท่ากัน เกิดขึ้นในกระบวนการแบ่งเซลล์จึงทำให้มี unequal genetic exchange คนปกติบางคนจึงอาจมียีน α ได้ 4, 5 หรือ 6 ยีน และ ζ -like

gene ได้ตั้งแต่ 3, 4, 5 และ 6 ยีน

โครโมโซมที่มียีน α 3 ตำแหน่ง (triplicated α -globin gene) พบได้ในประชากรตั้งแต่ร้อยละ 0.01-0.08 แต่ไม่พบความผิดปกติ แม้จะเป็น homozygous state ของ ภาวะดังกล่าว

นอกจากนี้ยังอาจพบยีน ζ เพียงยีนเดียว แทนที่จะเป็น ζ_2 , $\psi \zeta_1$ ตามปกติ ในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ พบ triplicated ζ -globin gene (ζ_2 , $\psi \zeta_1$, $\psi \zeta_1$) ได้ถึงร้อยละ 0.09-0.2 โดยเฉพาะในหมู่เกาะ Melane-sia

3. Gene conversion เกิดในระหว่างวิวัฒนาการ ทำให้เกิดเป็น ζ -globin gene 2 ตำแหน่ง คือ ζ_2 , ζ_1 แทนที่จะเป็น ζ_2 และ $\psi \zeta_1$ ตามปกติ โดย ζ_1 ที่เกิดขึ้นใหม่เปลี่ยนมาจาก ζ_2 โดยมีลำดับเบสและการทำงานได้ไม่แตกต่างกัน

ความผิดปกติที่ทำให้เกิด α -thalassemia

ความผิดปกติในโครงสร้างระดับโมเลกุลที่ทำให้การสร้างสายอัลฟาโกลบินลดลง หรือ สร้างไม่ได้ เลยจำแนกออกได้เป็น 2 กลุ่ม

1. ชนิดที่มีการขาดหายของ α -globin gene (deletion type α -thalassemia) ซึ่งเป็นส่วนใหญ่ของ α -thalassemia ในประเทศไทย แบ่งออกได้เป็น 2 ชนิด

● α^0 -thalassemia: เกิดจากการขาดหายของ α -globin gene ทั้งหมด (α_2 และ α_1) หรือเกือบทั้งหมดบนโครโมโซมที่ 16 ข้างหนึ่ง เชื่อว่าเกิดจากการย้ายสลับที่ของ DNA ระหว่างโครโมโซม แบบไม่มีกฎเกณฑ์ (illegitimate recombination) จาก recombination ของ non-homologous regions ปัจจุบันพบชนิดของการขาดหายทั้งสิ้น 14 แบบที่มีขนาดของยีนที่ขาดหายแตกต่างกันไป โดยส่วนใหญ่ α -globin gene จะขาดหายไปทั้ง 2 ยีน

● ชนิดของ mutation ที่มีรายงานในประเทศไทย^{7,8} ได้แก่ South East Asian type ($-\alpha^{SEA}$) ซึ่งพบบ่อยที่สุด มีการขาดหายในขนาด 17.5 kb ตั้งแต่บริเวณของ $\psi \zeta$ จนถึง 3' HVR (แผนภาพที่ 1)

● ชนิด THAI ($-\alpha^{THAI}$) และ FIL ($-\alpha^{FIL}$)

mutation พบว่าการขาดหายมีความยาวมากตลอด α -globin gene cluster รวมทั้ง ζ -gene ทำให้ไม่มีการสร้าง embryonic hemoglobin เลย ในกรณีที่เป็น homozygous state ของ mutation ดังกล่าว จะทำให้แท้งตั้งแต่อายุครรภ์น้อยๆ แตกต่างจากกลุ่มที่เป็น homozygous ของ SEA type ที่จะคลอดออกมาเป็นทารกบวมน้ำ (Hb Bart's hydrops fetalis) และเสียชีวิตในภาวะ compound heterozygotes ของ $-\alpha^{SEA}$ และ $-\alpha^{FIL}$ จะทำให้เกิดทารกแบบ Hb Bart's hydrops fetalis ได้⁹

นอกจากนี้ การขาดหายของส่วน regulatory element โดยไม่เกี่ยวข้องกับเนื้อยีนของ α -globin gene cluster เลย ก็มีผลเป็นลักษณะ α -thalassemia โดยสร้างสายอัลฟาโกลบินไม่ได้เช่นกัน^{10,11}

● α^+ -thalassemia: เกิดจากการขาดหายไปของ α -globin gene เพียงยีนเดียว หรือ ขาดหายไปบางส่วน เกิดเป็นยีนลูกผสม (hybrid) เสมือนหนึ่งเหลือ α -globin gene 1 gene

สาเหตุเนื่องจาก ยีน α_2 และ α_1 มีลำดับเบสที่เหมือนกัน (homology sequence) ใน 3 ตำแหน่ง เรียกว่า X, Y, Z boxes เมื่อโครโมโซมมาเข้าคู่กัน และตำแหน่งของ DNA คลาดเคลื่อนไปจากปกติ (misalignment) เนื่องจากตำแหน่งที่มี homology นั้น ทำให้ยีน α_2 และ α_1 อยู่เหลื่อมกัน เมื่อเกิด crossing over ของ DNA บริเวณที่มี homology sequence ทำให้เกิดการย้ายสลับที่ของ DNA ระหว่างโครโมโซม (reciprocal recombination) เมื่อการแบ่งเซลล์สิ้นสุด จะเกิดเป็นโครโมโซมที่มี α -globin gene 1 ยีน และอีกโครโมโซมมี 3 ยีน (triplicated α -globin genes)

ชนิดของ α^+ -thalassemia จำแนกได้เป็น 2 แบบ (รูปที่ 2)

1. 4.2 kb deletion ($-\alpha^{4.2}$) เกิดจาก unequal crossing over ในบริเวณ X box ทำให้ DNA บริเวณ

α_2 -globin gene ขาดหายไป 4.2 kb เรียกว่า ชนิด leftward deletion เหลือเฉพาะ α_1 -globin gene บน chromosome หนึ่ง อีกโครโมโซมจะเป็น $\alpha\alpha\alpha$ -anti 4.2 มี α -globin gene 3 ตำแหน่ง (รูปที่ 2B)

2. 3.7 kb deletion ($-\alpha^{3.7}$) เกิดจาก unequal crossing over ในบริเวณ Z box ทำให้ DNA ระหว่าง α_1 และ α_2 ขาดหายไป 3.7 kb เรียกว่า ชนิด rightward deletion ได้ $-\alpha^{3.7}$ และ $\alpha\alpha\alpha$ -anti 3.7

การขาดหายแบบนี้ยังแบ่งเป็นชนิดย่อยตาม independent recombination ที่เกิดขึ้นด้วย restriction enzyme ได้ 3 ชนิด คือ $-\alpha^{3.7I}$ เหลือเป็น α -1 like gene หนึ่งยีน $-\alpha^{3.7II}$ เป็น hybrid ของยีน α_2 และ α_1 และ $-\alpha^{3.7III}$ เกิดจาก crossing over ในตำแหน่งปลายสุดทาง 3' ของ Z box ทำให้เหลือแต่ยีน α^2 -globin gene เพียง 1 ยีน (รูปที่ 2C)

ปัจจุบันสามารถตรวจชนิดย่อยของ $-\alpha^{3.7}$ thalassemia ด้วยเทคนิค polymerase chain reaction (PCR)¹²

เชื่อว่ายีนชนิดที่เป็น triplicated α ($\alpha\alpha\alpha$ anti 3.7 และ $\alpha\alpha\alpha$ anti 4.2) จะสูญหายไปในช่วงวิวัฒนาการ เนื่องจากยีนดังกล่าวไม่ได้เพิ่มความต้านทานต่อเชื้อมาลาเรีย เช่นเดียวกับยีน α -thalassemia อย่างไรก็ตาม จากรายงานของ วรวรรณ ตันไพจิตร และคณะ พบภาวะ triplicated gene ดังกล่าวถึงร้อยละ 16.58¹³ ซึ่งน่าจะได้มีการศึกษาต่อไปถึงความถี่ที่แท้จริงของยีนดังกล่าวในประชากรไทย

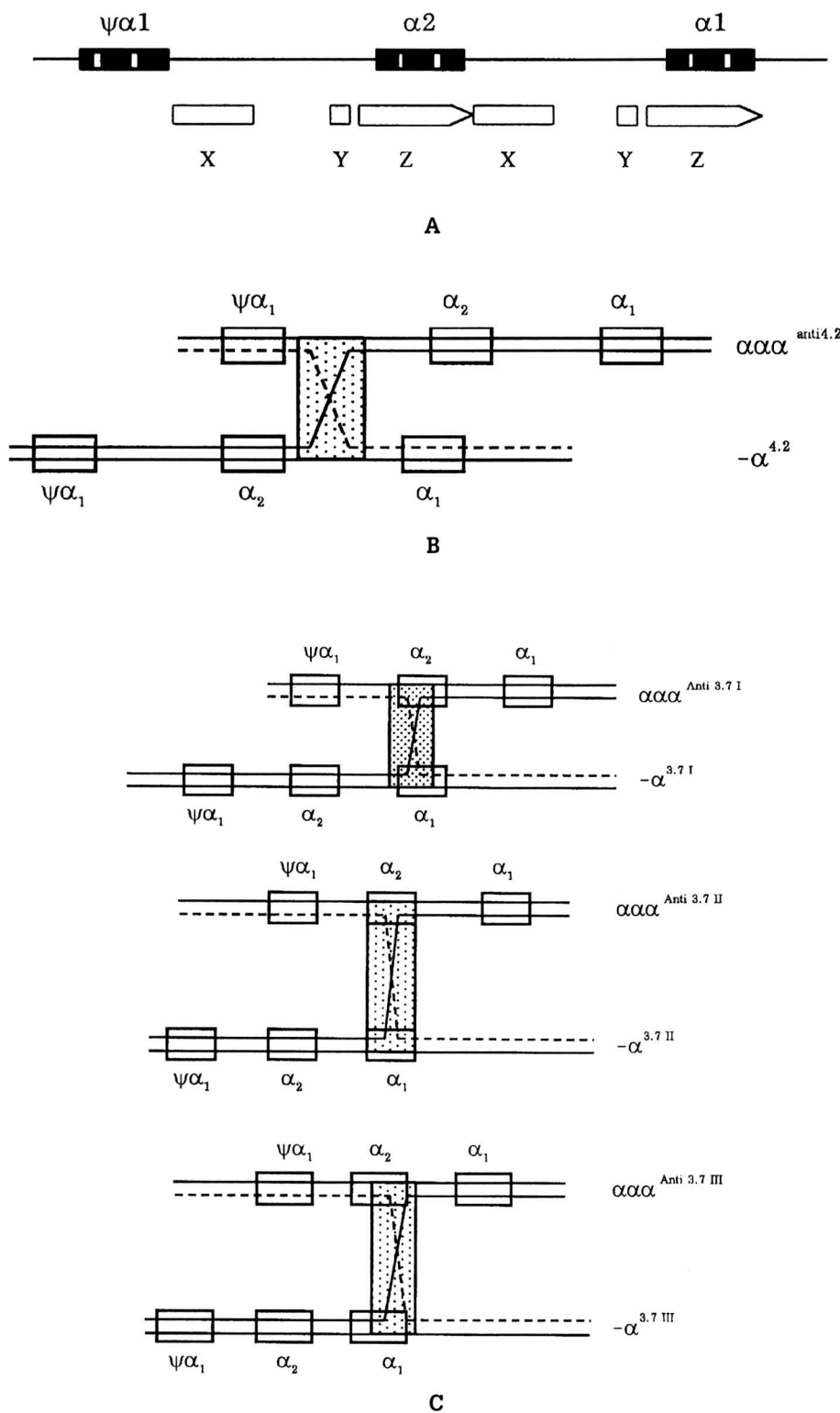
มีรายงานถึงการศึกษาความสามารถในการสร้างสายอัลฟาโกลบินโดยการประเมินจากระดับ Hb Barts ใน α^+ -thalassemia¹⁴ พบว่าผู้ที่มิ $-\alpha^{3.7III}$ ซึ่งยังมียีน α_2 เหลืออยู่จะสร้างสายอัลฟาโกลบินได้ดีกว่า $-\alpha^{4.2}$ ซึ่งเหลือแต่ยีน α_1 นอกจากนี้กลุ่มที่เป็น $-\alpha^{3.7I}$ ซึ่งเป็น α_1 like gene ส่วนของยีนทาง 5' จะคล้ายกับ ยีน α_2 แต่ส่วนที่เหลือทาง 3' จะเหมือนกับยีน α_1 ยังสามารถสร้างสายโกลบินได้ดีกว่า $-\alpha^{4.2}$ ด้วย ซึ่งจะเป็นเพราะ promo-

tor ของยีน α_2 มี effect ที่ทำให้การแสดงออกของยีน α_2 มากกว่ายีน α_1

เมื่อ α^+ -thalassemia พบร่วมกับ α -thalassemia จะทำให้ตำแหน่งของยีนอัลฟาโกลบินลดลงจาก 4 เหลือเพียง 1 ทำให้การสร้างสาย α - และ β -globin ไม่สมดุลอย่างมาก สาย β -globin ที่เกิน เนื่องจากไม่มี α -globin พอดีเป็นคู่จับ จะรวมกันเป็น β_4 หรือ Hemoglobin H (Hb H) ซึ่งเป็น unstable hemoglobin จะตกตะกอนในเซลล์เม็ดเลือดแดงเมื่อมีไข้¹⁵ (อุณหภูมิกายมากกว่า 40°C) ทำให้เม็ดเลือดแดงแตกทำลายง่าย และผู้ป่วยซีดลง อย่างไรก็ตามยังไม่พบรายงานว่า ชนิดของ α^+ -thalassemia ที่ต่างกันจะมีผลต่ออาการและอาการแสดงในผู้ป่วย hemoglobin H disease ที่แตกต่างกันด้วย¹⁶

2. ชนิดที่มีความผิดปกติในโครงสร้างของ α -globin gene (non-deletion type α -thalassemia, $\alpha^T\alpha$) ที่มีรายงาน ได้แก่ กลุ่ม point mutation ในยีน α_2 ที่ทำให้เกิด unstable globin เช่น $\alpha^{Guang\ size}$, $\alpha^{Suan\ Dok}$, $\alpha^{Evanston}$, α^Q (Mahidol) ซึ่งทำให้ฮีโมโกลบินที่เกิดขึ้นไร้เสถียรภาพ เมื่อร่วมกับ α -thalassemia ก็จะทำให้เกิดลักษณะอาการแบบ Hb H disease ได้¹⁷

ชนิดของ non-deletion type α -thalassemia ซึ่งพบบ่อยที่สุดในคนไทย (ประมาณร้อยละ 1-8) คือ ความผิดปกติที่ terminal codon (TAA $\rightarrow$ CAA) ที่ทำให้เกิดการแปลรหัสต่อ และมีการสร้างกรดอะมิโนเพิ่มอีก 31 ตัว (รวมเป็น 172 ตัว) เกิดเป็น α^{CS} ซึ่งมีโครงสร้างที่ผิดปกติ และปริมาณที่ลดลงเนื่องจาก mRNA ของ α^{CS} ถูกทำลายด้วย RNase enzyme ง่าย ความผิดปกติดังกล่าว จึงเสมือนกับ α^+ -thalassemia เมื่อพบร่วมกับ α -thalassemia ก็จะทำให้เกิดกลุ่มอาการ Hb H ชนิดที่มี Hb Constant Spring (CS) ด้วย ซึ่งมักจะมียาอาการรุนแรงกว่า Hb H ตามปกติ¹⁸⁻²⁰ ทั้งในแง่ของอาการซีดเฉียบพลัน ความจำเป็นในการได้รับเลือด การตัดม้าม การตรวจพบจำนวน inclusion body และ



รูปที่ 2 แสดงกลไกการเกิด α^+ -thalassemia จาก DNA crossing over และมี reciprocal recombination (B = leftward crossover, C = rightward crossover)

ปริมาณ Hb H และผู้ที่ เป็น homozygous Hb CS ก็อาจมีอาการซีดระดับฮีโมโกลบินประมาณ 9-11 กรัม/ดล. และมีม้ามโตได้เช่นกัน

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงของผนังเซลล์เม็ดเลือดแดงของ Hb CS²¹⁻²³ พบว่า α^{CS} สามารถจับตัวและตกตะกอนบนผนังของเซลล์เม็ดเลือดแดงได้เช่นเดียวกับสาย α โกลบินที่เกิน และจับตัวบนผนังเซลล์เม็ดเลือดแดงของ β -thalassemia ทำให้เกิดการ oxidize ผนังเซลล์จาก free oxygen radical ที่สร้างจากเหล็ก heme หรือ hemichrome ทำให้พยาธิสภาพของกลุ่ม Hb H ชนิดที่มี Hb CS มีความรุนแรงกว่า Hb H ธรรมดา และในบางรายอาการจะรุนแรงคล้ายคลึงกับกลุ่ม β -thalassemia

ยังมีความผิดปกติในโครงสร้างของ α -globin อีกหลายชนิด ซึ่งโดยส่วนใหญ่มักจะเกิดขึ้นกับยีน α_2 และมีผลต่อการสร้างสายอัลฟาโกลบินมาก เช่น initial codon mutation (ATG $\rightarrow$ ACG or GTG)^{24,25} และ dinucleotide deletion ที่ตำแหน่งใกล้จุดเริ่มต้นการแปลรหัส (CCCACCATG $\rightarrow$ CCCCATG) ซึ่งมีรายงานจากแถบเมดิเตอร์เรเนียนว่า มีผลรบกวนการทำงานของยีน α_2 ในการถ่ายแปล เป็น mRNA โดยไม่มีกระบวนการ compensate ในการทำงานของยีน α_1 เพิ่มขึ้น

มีรายงานที่ α^T ที่มีผลเด่นต่อยีน α_2 เมื่อจับคู่กันเป็น $\alpha^T\alpha/\alpha^T\alpha$ เช่น mutation จากการแทนที่เบส (substitution) ในตำแหน่ง poly (A) addition signal (AATAAA $\rightarrow$ AATAAG)²⁶ ซึ่งมีผลลดการทำงานของยีน α_2 ด้วยการเปลี่ยนตำแหน่งเบสกลายเป็น RNA cleavage site ทางปลาย 3' และทำให้หยุดการแปลรหัส เป็น mRNA ก็มีอาการรุนแรงเพิ่มขึ้นแบบ Hb H หรือเมื่อความผิดปกติชนิด non deletion type ($\alpha^T\alpha$) นี้พบร่วมกับภาวะ α^+ -thalassemia ซึ่งตามปกติ homozygous α^+ -thalassemia น่าจะมีลักษณะอาการแบบ α^+ -thalassemia trait ก็จะกลับมีอาการหนัก ซีด

ดับม้ามโต แบบ Hb H disease ได้เช่น α^T ที่พบร่วมกับ $-\alpha^{3,7}$ II เป็น $-\alpha^T/-\alpha^{3,7}$ II

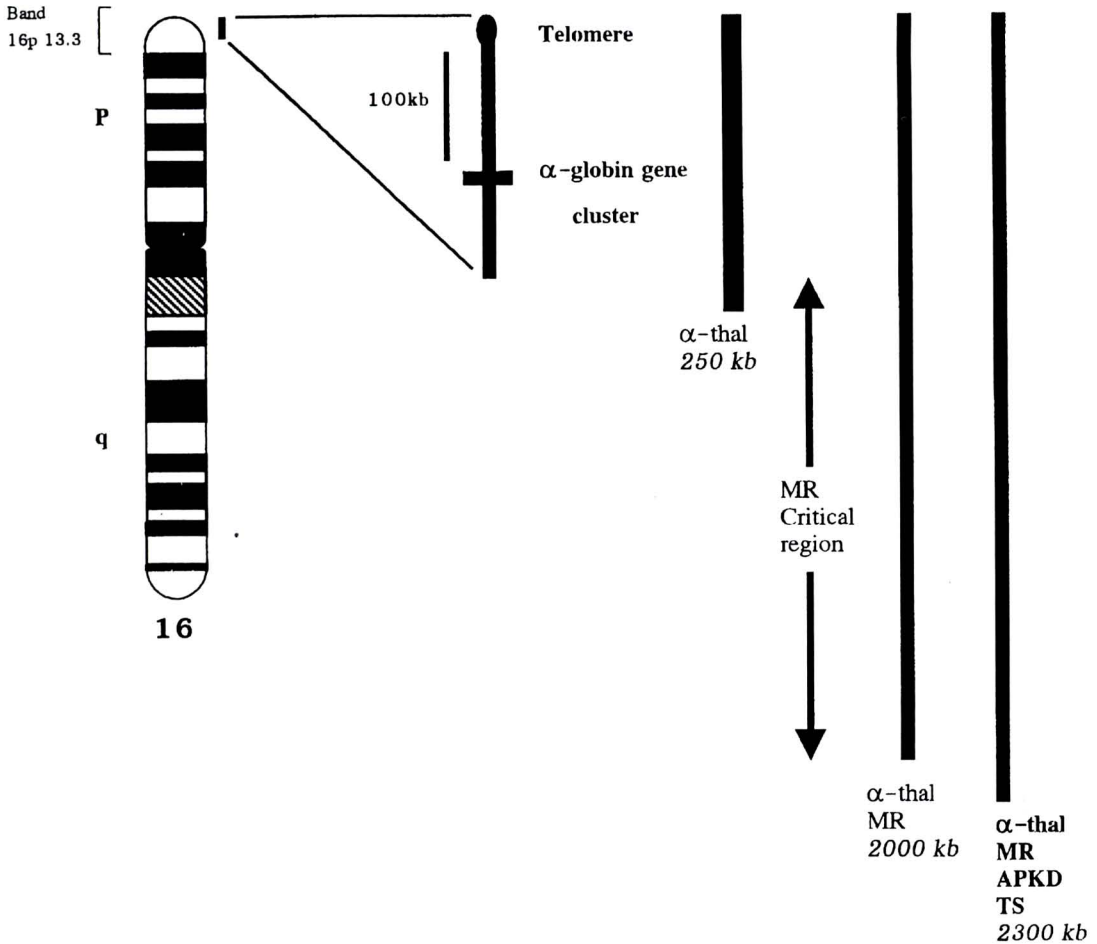
กลุ่มอาการที่เกี่ยวข้องกับ α -thalassemia

จากรายงานในวารสารที่พบภาวะ α -thalassemia ร่วมกับภาวะปัญญาอ่อน ซึ่งในระยะแรกเข้าใจว่าเป็นการพบร่วม (co-incidence) เนื่องจากทั้งสองภาวะต่างก็พบได้บ่อยในกลุ่มประชากร แต่ต่อมาจากการศึกษาทางอนุชีววิทยาทำให้ทราบถึงกลไกทางพันธุกรรมที่ทำให้ภาวะทั้งสองนี้เกิดขึ้นร่วมกัน และนำไปสู่ความรู้และความเข้าใจในแง่การควบคุมการทำงานของ α -globin gene ได้ดียิ่งขึ้น

ATR-16 (alpha-thalassemia-mental retardation syndrome associated chromosome 16)²⁷

เกิดจากการขาดหายไปของยีนที่อยู่บริเวณปลาย (telomere) ของโครโมโซม 16 อาจเรียกว่า contiguous gene syndrome เนื่องจากมีการเปลี่ยนที่ย้ายตำแหน่งของชิ้นส่วนของโครโมโซมขนาดใหญ่ (large chromosome rearrangement) จาก translocation ของโครโมโซมในพ่อหรือแม่ แล้วถ่ายทอดมายังลูก หรือเกิดขึ้นใหม่แบบ de novo ก็ได้ นอกจากนี้ยังเกิดจากภาวะ truncation ที่เกิดขึ้นบริเวณ telomeric sequence ทำให้ chromosome ความยาว 2,000 kb ทำงานไม่ได้

โดยจากปลายสุดของแขนข้างสั้นของโครโมโซม 16 (Band 16 p 13.3) เป็นระยะประมาณ 100 kb จะเป็นตำแหน่งของ α -globin gene cluster ห่างไปจากนั้นจะเป็นส่วนของยีนที่ควบคุมด้านพัฒนาการของสมอง การเจริญเติบโตของไต และยีน tuberlin ซึ่งเป็น tumor suppressor gene กลุ่มของผู้ป่วย ATR-16 จะมีการขาดหายของยีนจากปลายโครโมโซมนี้ในขนาดที่ต่างกัน (รูปที่ 3) หากขาดหายในขนาดสั้นเพียง 250 kb ก็จะมีผลเฉพาะเกิด α -thalassemia หากขาดหายไป 2,000 kb ซึ่งจะครอบคลุมส่วนของ MR critical region ก็จะทำให้เกิดภาวะปัญญาอ่อน (mental retardation: MR)



รูปที่ 3 แสดงแผนที่ของ α -globin gene cluster ซึ่งอยู่บริเวณปลายของโครโมโซม 16 (ภายใน band 16 p 13.3) และ ขนาดของชิ้นส่วนที่ขาดหายไป (size of deletion) กับผลในทางคลินิกต่อกลุ่มอาการ ATX-16 (ดัดแปลงจาก : Gibbon RJ. the α -thalassemia/ mental retardation syndromes. Medicine 1996; 75(2): 45-52)

ร่วมด้วย และหากขาดถึง 2,300 kb ก็จะทำให้เกิดทั้ง α -thalassemia ปัญญาอ่อน โรคไตชนิด adult polycystic kidney disease (APKD) และโรค tuberous sclerosis

เนื่องจากกลไกการเกิดภาวะ ATR-16 มีความหลากหลายตามขนาดของโครโมโซมที่ขาดหาย อาการและอาการแสดงของกลุ่มอาการ ATR-16 จึงมีความแตกต่างกันได้มาก ทั้งในแง่ความรุนแรงของภาวะปัญญาอ่อน พัฒนาการที่ผิดปกติ และลักษณะวิกลรูป (dysmorphic feature) ที่พบร่วมด้วย สำหรับการวินิจฉัยภาวะ α -

thalassemia จะต้องอาศัย การตรวจพบ inclusion body เมื่อนำเม็ดเลือดแดงไป incubate ด้วยสี 1% brilliant cresyl blue

กลไกของ ATR-16 ทำให้เกิดภาวะ monosomy ของยีน เนื่องจากการขาดหายของโครโมโซม 16 ไปหนึ่งข้าง และมีผลทำให้เกิดอาการทางคลินิก เชื่อว่าน่าจะเกิดจากยีนที่หายไปเป็นส่วนของยีนที่ควบคุมการสร้างโปรตีนที่มีความสำคัญในการเจริญเติบโตและพัฒนาการ (critical trans-acting factor) หรือ อาจเป็นรหัสของ receptor และ signal transduction ที่มีความสำคัญใน

กระบวนการ embryogenesis ก็ได้ ซึ่งยีนลักษณะดังกล่าวจัดเป็น dosage sensitive gene การขาดหายไปเหลือเพียง 1 ยีน จึงทำให้ปริมาณ ผลผลิตที่จำเป็นไม่เพียงพอ และมีความผิดปกติในการเจริญเติบโตและพัฒนาการของสมองและอวัยวะอื่นๆ ตามมา

ATR-X (X-linked α -thalassemia/mental retardation syndrome)^{27,28}

เป็นกลุ่มอาการที่มีรายงานครั้งแรกในเด็กชายซึ่งมีภาวะปัญญาอ่อนร่วมกับปัญหาซิด และพบ inclusion body ในเม็ดเลือดแดง แต่จากการตรวจสอบด้วยวิธีการทางอณูชีววิทยากลับไม่พบความผิดปกติของ α -globin gene cluster แต่อย่างใด²⁸

จากการศึกษาด้วยวิธี linkage analysis ร่วมกับรูปแบบการถ่ายทอดทางพันธุกรรม ที่มักจะพบในเด็กชายผ่านทางสายของมารดา (X-linked pattern) สามารถกำหนดตำแหน่งของยีนที่น่าจะเกี่ยวข้องได้ที่ Xq 13.3 ซึ่งเป็นตำแหน่งของยีนที่สร้าง XH_2 ซึ่งเป็นโปรตีนในตระกูลของ SW1/SNF ซึ่งมีหน้าที่เป็น DNA-dependent ATPase และ putative helicase activity สามารถควบคุมและกระตุ้นการทำงานของยีน การซ่อมแซม DNA และการแยกของโครโมโซมในระยะ mitotic

XH_2 จะเป็นตัวควบคุมการทำงานของ α -globin gene ซึ่งผู้ป่วยกลุ่มอาการ ATR-X จะตรวจพบว่ามี mutation เกิดขึ้นกับยีนในตำแหน่งดังกล่าว และมีผลต่อ XH_2 mRNA

นอกเหนือจาก α -globin gene แล้วเชื่อว่า XH_2 ยังมีผลต่อการเจริญและพัฒนาการของสมองและอวัยวะอื่นๆ²⁹⁻³² จึงทำให้ผู้ป่วย ATR-X มีลักษณะอาการที่ค่อนข้างคล้ายคลึงกันมากกว่า ATR-16 ได้แก่ การพบลักษณะใบหน้าผิดปกติ คือ หน้าผากเถิก ตาห่าง มี epicanthic fold จมูกแบน mid-face hypoplasia จมูกเล็กเป็นรูปสามเหลี่ยมและเซด โดยมีปีกจมูกกว้างริมฝีปากบนโค้ง ริมฝีปากล่างอัม และยื่น คล้ายปลาการ์ฟ ลิ้นจุกและมักมีน้ำลายไหล

ลักษณะสำคัญอีกประการคือ พบความผิดปกติของอวัยวะเพศตั้งแต่ undescended testes, hypospadias, micropenis หรือ อวัยวะเพศภายนอกคล้ายผู้หญิง แบบกระเทยเทียม (male pseudo hermaphrodites)^{31,32}

สำหรับทางโลหิตวิทยานั้น กลับพบความหลากหลายในระดับฮีโมโกลบิน ที่ส่วนใหญ่จะมีค่าต่ำกว่า 10 g/dL, MCH ต่ำกว่า 28 pg และ MCV เล็ก (< 80 fL) แต่ผู้ป่วยอีกเป็นจำนวนมากก็ไม่พบการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวเลย^{29,31} การวินิจฉัยจึงต้องอาศัยการตรวจพบ inclusion body (ต้อง incubate สีเป็น เวลานาน 4-24 ชั่วโมง) ซึ่งไวกว่าการตรวจหา Hb H ด้วยวิธี electrophoresis แต่ก็มีบางรายที่พบ inclusion body น้อยมาก (0.01%)³³ ดังนั้นการวินิจฉัยจึงต้องอาศัยการคิดถึงแบบแผนของกลุ่มอาการดังกล่าว ร่วมกับการตรวจหา Hb H อย่างถ่วงถี่ และ อาจต้องทำซ้ำหลายๆ ครั้งก็ได้ แต่หากไม่พบการตรวจ mutation screening ของยีนในตำแหน่งดังกล่าว จะสามารถวินิจฉัยภาวะ ATR-X ได้ถึงร้อยละ 28³⁴

α -thalassemia ต่อผลทางสุขภาพด้านอื่นๆ

จากระบาดวิทยาที่พบว่ามีความชุกของยีน α -thalassemia สูงในดินแดนที่เป็นถิ่นระบาดของมาลาเรีย เนื่องจากยีน α -thalassemia ทำให้มี selective advantage ต่อการติดเชื้อมาลาเรีย³⁵ เพราะการเติบโตของเชื้อมาลาเรียในเซลล์ผู้ป่วย Hb H disease และ α -thalassemia trait เป็นไปได้ไม่ดี^{36,37}

นอกจากนี้เซลล์เม็ดเลือดแดง thalassemia ที่ติดเชื้อมักถูกจับโดยแอนติบอดีต่อเชื้อมาลาเรียได้ดีกว่าเซลล์ปกติ³⁹ ซึ่งยังไม่ทราบกลไกที่แน่ชัดว่าเกิดจากการที่เซลล์เม็ดเลือดแดง thalassemia ทำให้ antigen ของเชื้อมาลาเรีย *P. falciparum* ปรากฏบนผิวได้ดี หรือจาก red cell neoantigen ของผู้ป่วย thalassemia ที่แสดงออกได้ดีมากกว่าเม็ดเลือดแดงปกติ เมื่อมีการติดเชื้อ

มีรายงานที่พบความเกี่ยวข้องกันระหว่าง α^+ -thalas-

semia ($-\alpha^{37}$) กับภาวะความดันเลือดสูง^{39,40} ในผู้ป่วยชาวแอฟริกันที่เข้ามารับการรักษาตัวในโรงพยาบาล พบความดันเลือดสูงในผู้ที่มี α^+ -thalassemia เป็น 3.48 เท่า ของคนปกติ และพบว่า 6 ใน 9 รายของผู้ที่มียีน $-\alpha^{37}/-\alpha^{37}$ มีความดันเลือดสูง โดยกลไกที่น่าจะเกี่ยวข้องได้แก่ blood viscosity ที่เพิ่มขึ้น เนื่องจากเม็ดเลือดของ α -thalassemia มีภาวะ rigid และ overhydrate ร่วมกับการพบว่า free hemoglobin และ Hb H สามารถจับและรบกวนการทำงานของ nitric oxide ซึ่งเป็น endothelium derived relaxing factor ในการควบคุมความดันเลือดไม่ให้สูงเกินไป

นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าภาวะ α -thalassemia ที่พบร่วมในผู้ป่วย sickle cell anemia จะมีผล reno-protection โดยลด glomerulopathy ที่เป็น consequence จากภาวะ sickle ได้⁴¹ โดยเชื่อว่าน่าจะเกี่ยวข้อง กับขนาดของเม็ดเลือดที่เล็กลง และมีระดับ mean corpuscular hemoglobin (MCH) ที่ลดลง

อย่างไรก็ตาม ยังจำเป็นที่จะต้องมีการศึกษาอีกมาก เพื่อให้ได้ข้อสรุปที่ชัดเจน ในประเด็นต่างๆ เหล่านี้

การศึกษา α -thalassemia ในประเทศไทย^{13,16,42-45}

ในอดีตการศึกษาเพื่อหาความชุกของพาหะ (α -thalassemia trait) และความถี่ของยีน α -thalassemia จะใช้เทคนิคการตรวจระดับของ Hb Bart ใน

เลือดสายสะดือ ซึ่งไม่แม่นยำนัก โดยเฉพาะในกลุ่ม α^+ -thalassemia อาจจะไม่พบ Hb Bart ด้วยเทคนิค electrophoresis เลยก็ได้

ได้มีการศึกษาความชุกของ α -thalassemia และมีรายงานในภาคกลาง ภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือตรวจโดยเทคนิค DNA mapping และ PCR ดังที่แสดงไว้ในตารางที่ 1 จะเห็นได้ว่าชนิดของ α^+ -thalassemia ที่พบในประเทศไทย ส่วนใหญ่เป็นชนิด rightward-deletion ($-\alpha^{37}$) และเกือบทั้งหมดเป็น $-\alpha^{37}$ III

สรุป

α -thalassemia เป็นยีนธาลัสซีเมียที่พบบ่อยและมีความสำคัญในทางคลินิก ความก้าวหน้า ในทางอนุชีววิทยาทำให้สามารถตรวจพบและเข้าใจถึงกลไกในระดับโมเลกุลของการเกิดพยาธิสภาพของภาวะ α -thalassemia ได้ดีขึ้น นอกจากนี้ ความรู้ที่เริ่มต้นจากการศึกษา ยีน α -globin ได้เปิดประตูไปสู่ความรู้และความเข้าใจในแง่การควบคุมการทำงานของยีนอื่นๆ ที่เกี่ยวข้อง ตลอดจนเป็นพื้นฐานความรู้ในด้านชาติพันธุ์วิทยาและมานุษยวิทยาอีกด้วย

ยังจะต้องมีการศึกษาต่อไปถึงผลในทางบวกของยีน α -thalassemia ต่อสุขภาพในประเด็นอื่นๆ นอกเหนือจากการติดเชื้อมาลาเรียในเขตร้อน ตลอดจน แสวงหา

ตารางที่ 1 อุบัติการณ์ของภาวะ α -thalassemia ชนิดต่างๆ ในประเทศไทย

Genotype	ภาคกลาง ¹³			ภาคเหนือ ⁴³			ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ⁴⁴		
	No/ Total	(%)	ความถี่ ของยีน	No/ Total	(%)	ความถี่ ของยีน	No/ Total	(%)	ความถี่ ของยีน
α -thalassemia (SEA type)	13/406	3.45	0.0185	5/106	4.70	0.0236	21/192	11.3	0.0336
α^+ -thalassemia ($-\alpha^{37}$)	55/406	13.54	0.0735	20/106	18.80	0.0867	34/192	18.0	0.0848
α^+ -thalassemia ($-\alpha^{42}$)	11/406	2.70	0.0328	1/106	0.94	0.0193	6/192	3.3	0.0363
Triplicated α -globin gene	68/406	16.58	0.0814	3/106	2.80	0.0334	-	-	-
Hb CS	6/406	1.47	0.0242	9/151	5.90	0.0485	5/192	2.8	0.0330

ความรู้เกี่ยวกับปัจจัยที่ควบคุมการทำงานของยีนดังกล่าวอย่างกว้างขวางและครบถ้วน เพื่อประโยชน์ในแง่ของการรักษาด้วยยีนบำบัดต่อไปในอนาคต

เอกสารอ้างอิง

1. Cavalli-S LL, Menozzi P, Piazza A. *The History and Geography of Human Genes*. Princeton: Princeton University Press, 1994.
2. Hill AVS, Flint J, Weatherall DJ, et al. Alpha-thalassemia and the malaria hypothesis. *Acta Haematol* 1987;78:173-9.
3. Weatherall DJ. The thalassemias. In: Beutler E, Lichtman MA, Coller BS, Kipps TJ, eds. 5th ed. *New York: Williams Hematology*. Mc Graw-Hill, Inc., 1995: 481-615.
4. Higgs DR, Sharpe JA, Wood WG. Understanding α -globin gene expression: A step towards effective gene therapy. *Semin in Hematol*. 1998;35:93-104.
5. Weatherall DJ. The thalassemias. In: Stamatoyannopoulos G, eds. *The Molecular basis of blood diseases*. 2nd ed. Philadelphia: Saunders 1998:157-205.
6. ประพนธ์ วิไลรัตน์, ยุวดี วัฒนโกศลสิน. Molecular biology of globin genes ใน: ปราณี พูเจริญ, สุทัศน์ พูเจริญ. *Thalassemia: from molecular biology to clinical medicine*. กรุงเทพมหานคร: โครงการวิจัยธาลัสซีเมีย สถาบันวิจัยและพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหิดล 2541:5-1:6-22.
7. Winichagoon P, Higgs DR, Good bourn SEY, et al. The molecular basis of α -thalassemia in Thailand. *EMBO J* 1984;3:1813-8.
8. Fischel-Ghodsian N, Vickers MA, Seip M, Winichagoon P, Higgs DR. Characterization of two deletions that remove the entire human ζ - α globin gene complex ($_ _^{Thal}$ and $_ _^{Fil}$). *Br J Haematol* 1988;70:233-8.
9. Higgs DR, Chong SS. The $_ _^{Thal}$ and $_ _^{FIL}$ determinants of α -thalassemia in Taiwan. *Am J Hematol* 1999;60:80-1.
10. Hatton CSR, Wilkie AOM, Drysdale HC, et al. α -thalassemia caused by a large (62 kb) deletion upstream of the human α -globin gene cluster. *Blood* 1990;76:221-7.
11. Romao L, Osorio-Almeida L, Higgs DR, et al. α -thalassemia resulting from deletion of regulatory sequences far upstream of the α -globin structural gene. *Blood* 1991;78:1589-95.
12. Bowie LJ, Reddy PL, Nowak EM. Alpha-thalassemia subtyping and the detection of silent mutations by high-resolution fragment analysis and DNA sequencing. *Mol Diagn* 1998;3:43-53.
13. Tanphaichitr VS, Pung-amritt P, Puchaiwatananon O, et al. Studies of Hemoglobin Barts and deletion of α -globin genes from cord blood in Thailand. *Birth Defect* 1988;23:15-21.
14. Bowden DK, Hill AVS, Higgs DR, et al. Different hematologic phenotypes are associated with the leftward ($-\alpha^{42}$) และ right ward ($-\alpha^{37}$) α^+ -thalassemia deletions. *J Clin Invest* 1987;79:39-43.
15. Chinprasertsuk S, Piankijagum A, Wasi P. In Vivo induction of intraerythrocytic inclusion bodies in Hemoglobin H disease: an electron microscopic study. *Birth Defects* 1998;23:317-26.
16. Chen FE, Ha SY, Chan TK, Chan V. Characterisation of genotype and phenotype of Hb H disease in Hong Kong. Program and abstracts: the 2nd international conference on thalassemia in China, Thalassemia in Millennium. 1998;13-4.
17. Fucharoen S, Winichagoon P. Hemoglobinopathies in southeast asia. *Haemoglobin* 1987;11:65-88.
18. Wongchanchailert M, Laosombat V, Maipang M. Haemoglobin H disease in children. *J Med Assoc Thai* 1992;75:611-8.
19. Tanphaichitr VS. Different severity in Hb H disease (unpublished data)
20. Winichagoon P, Adirojanon P, Wasi P. Level of haemoglobin H and proportions of red cells with inclusion bodies in the two types of haemoglobin H disease. *Br J Haematol* 1980;46:507.

21. Schrier SL, Mohandas N. Globin-chain specificity of oxidation-induced changes in red blood cell membrane properties. *Blood* 1992;79:1586-92.
22. Schrier SL, Bunyaratavej A, Khuapinant A, Fucharoen S. The unusual pathobiology of hemoglobin Constant Spring red blood cells. *Blood* 1997;89:1762-9.
23. Bunyaratavej A, Fucharoen S, Butthep P, et al. Alterations and pathology of thalassemic red cells comparison between alpha and beta-thalassemia. *Southeast Asian J Trop Med Publ Hlth* 1995;26:257-60.
24. Pirastu M, Saglio G, Chang JC, et al. Initiation codon mutation as a cause of α -thalassemia. *J Biol Chem* 1984;259:12315-7.
25. Moi P, Cash FE, Liehaber SA, et al. An initiation codon mutation (AUG $\rightarrow$ GUG) of the human α -globin gene: structural characterisation and evidence for a mild thalassemic phenotype. *J Clin Invest* 1987; 80:1416-21.
26. Thein SL, Wallace RB, Pressley L, et al. The polyadenylation site mutation in the α -globin gene cluster. *Blood* 1988;71:313-9.
27. Gibbons RJ, Higgs DR. The α -thalassemia/Mental retardation syndromes. *Medicine* 1996;75:45-52.
28. Wilkie AOM, Zeitlin HC, Lindenbaum RH, Higgs DR, et al. Clinical features and molecular analysis of the α -thalassemia/Mental retardation syndromes. II. Cases without detectable abnormality of the α -globin complex. *Am J Hum Genet* 1990;46:1127-40.
29. Gibbons RJ, Brueton L, Buckle VJ, et al. Clinical and hematologic aspects of the X-linked α -thalassemia/Mental retardation syndrome (ATR-X). *Am J Hum Genet* 1995;55:288-99.
30. Wilkie AOM, Gibbon RJ, Higg DR, Pembrey ME. X-linked α -thalassemia/Mental retardation: spectrum of clinical features in three related males. *J Med Genet* 1991;28:738-41.
31. McPherson EW, Clemens MM, Gibbons RJ, Higgs DR. X-linked α -thalassemia/mental retardation (ATR-X) syndrome: A new kindred with severe genital anomalies and mild hematologic expression. *Am J Hum Genet* 1995;55:302-6.
32. Reardon W, Gibbons RJ, Winter RM, Baraitser M. Male pseudohermaphroditism in sibs with the α -thalassemia/Mental retardation (ATR-X) syndrome. *Am J Hum Genet* 1995;55:285-7.
33. Logie LJ, Gibbons RJ, Higgs DR, et al. Alpha-thalassemia mental retardation (ATR-X): An atypical family. *Arch Dis Child* 1994;70:439-40.
34. Villard L, Bonino MC, Abidi F, et al. Evaluation of a mutation screening strategy for sporadic cases of ATR-X syndrome. *J Med Genet* 1999;36:183-6.
35. Hill AVS, Flint J, Weatherall DJ, Clegg JB. α -thalassemia and the malaria hypothesis. *Acta Haematol* 1987; 78:173-9.
36. Yuthavong Y, Butthep P, Bunyaratavej A, et al. Impaired parasite growth and increased susceptibility to phagocytosis of *Plasmodium falciparum*-infected alpha-thalassemia or hemoglobin Constant Spring red blood cells. *Am J Clin Pathol* 1988;89:521-5.
37. Pattanapanyasat K, Yongvanitchit K, Tongtawe P, et al. Impairment of *Plasmodium falciparum* growth in thalassemic red blood cell: further evidence by using biotin labeling and flow cytometry. *Blood* 1999;93: 3116-9.
38. Luzzi GA, Merry AH, Newbold CI, et al. Surface antigen expression on *Plasmodium falciparum*-infected erythrocytes is modified in α and β -thalassemia. *J exp Med* 1991;173:785-91.
39. Reddy PL, Bowie LJ, Beck KR. An association between hypertension and the "silent carrier" state for alpha thalassemia. *Clin Chem* 1994;41:1682.
40. Bowie LJ, Reddy PL, Beck KR. Alpha thalassemia and its impact on other clinical conditions. *Clini Lab Med* 1997;17:97-108.
41. Guasch A, Zayas CF, Eckman JR, Muralidharan K, Zhang W, Elsas LJ. Evidence that microdeletions in the alpha globin gene protect against the development of sickle cell glomerulopathy in humans. *J Am Soc*

- Nephrol* 1999;10:1014-9.
42. Winichagoon P, Fucharoen S. Molecular mechanisms of thalassemia in Thailand. *J Sci Soc Thai* 1986;12:9-21.
 43. Hundrieser J, Sanguansermisri T, Papp T, Flatz G. Alpha-thalassemia in Northern Thailand. *Hum Hered* 1988;38:211-5.
 44. กุลนภา พุเจริญ, กันยารัตน์ แคนตะ, รุ่งฤดี ประทุมชาติ และคณะ. ธาลัสซีเมียและภาวะขาดเหล็กในกลุ่มประชากรที่ให้ผลบวกต่อการตรวจกรอง OF test และ KCU-DCIP-Clear. วารสารโลหิตวิทยาและเวชศาสตร์บริการโลหิต 2542;9:111-8.
 45. Laig M, Michael P, Hundrieser J, et al. The distribution of the Hb Constant Spring gene in Southeast Asian populations. *Human Genet* 1990;84:188-90.