

ลักษณะแอสไฟโลไทป์ของยีนบีตาโกลบินของฮีโมโกลบินผิดปกติที่พบไม่บ่อยในภาคใต้ประเทศไทย

Beta Globin Gene Haplotype Analysis of Rare Hemoglobin Variants in Southern Thailand

วรรณรัตน์ แซ่ซัน*, จ้านงค์ นพรัตน์ และ สุทัศน์ ฟูเจริญ

Vannarat Saechan, Chamnong Nopparatana and Suthat Fucharoen

โครงการจัดตั้งคณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ สงขลา 90110

Faculty of Veterinary Science (Establishment Project), Prince of Songkla University, Songkhla 90110

*Corresponding author: svannarat2002@yahoo.com

บทคัดย่อ

ฮีโมโกลบินผิดปกติเป็นภาวะทางพันธุกรรมที่พบได้บ่อยในประเทศไทยและอีกหลายประเทศในเอเชีย ยุโรป และแอฟริกา เกิดจากยีนที่ควบคุมการสังเคราะห์สายโกลบินเบต้าผิดปกติ ทำให้มีความผิดปกติในแง่คุณภาพของฮีโมโกลบิน จำนวนและชนิดของฮีโมโกลบินผิดปกติที่พบในภาคใต้ของประเทศไทยมีความแตกต่างกับฮีโมโกลบินผิดปกติที่พบในภาคอื่นๆ รวมทั้งแตกต่างจากประเทศเพื่อนบ้านและประเทศในแถบเอเชียด้วยกัน เพื่อศึกษาและเปรียบเทียบความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของฮีโมโกลบินผิดปกติที่พบไม่บ่อยในภาคใต้ของประเทศไทย กับจุดกำเนิดทางเชื้อชาติของกลุ่มประชากร ตัวอย่างดีเอ็นเอของฮีโมโกลบินผิดปกติชนิด Hb C จำนวน 21 ราย Hb D-Punjab จำนวน 14 ราย Hb Tak จำนวน 4 ราย และ Hb G-Makassar จำนวน 4 ราย นำมาวิเคราะห์รูปแบบแอสไฟโลไทป์ของยีนบีตาโกลบินด้วยหลักการ Polymerase Chain Reaction – Restriction Fragment Length Polymorphism (PCR-RFLP) ประกอบด้วยตำแหน่งตัดจำเพาะ 7 ตำแหน่งดังนี้ *HincII* 5'ε, *XmnI* 5'^Gγ, *HindIII* ^Gγ, *HindIII* ^Aγ, *HincII* 5'ψβ, *HincII* 3'ψβ และ *AvaI* 5'β ผลการศึกษาพบว่าชนิดของแอสไฟโลไทป์ของฮีโมโกลบินผิดปกติแต่ละชนิดในกลุ่มประชากรในภาคใต้ของไทย มีความแตกต่างจากรูปแบบของแอสไฟโลไทป์ที่เคยมีรายงานมาก่อน และได้รายงานรูปแบบของแอสไฟโลไทป์ของฮีโมโกลบินผิดปกติชนิด Hb G-Makassar และ ฮีโมโกลบินผิดปกติชนิด Hb Tak ครั้งแรกในภาคใต้ของประเทศไทย ซึ่งรูปแบบของแอสไฟโลไทป์ของฮีโมโกลบินผิดปกติแต่ละชนิด แสดงให้เห็นว่ากลุ่มประชากรในภาคใต้ของไทยมีความหลากหลายทางพันธุกรรม ถิ่นกำเนิด รวมถึงเชื้อชาติ และความถี่ในการแพร่กระจายของรูปแบบแอสไฟโลไทป์

ABSTRACT

Hemoglobin variant is an inherited disorder that results in the abnormal structure of globin chains of the hemoglobin (Hb) molecule. Many hemoglobin variants have been characterized worldwide and the distribution of hemoglobin variants in southern Thailand is associated with geographic and/or ethnic backgrounds. The aim of this study was to investigate the genetic origin of rare hemoglobin variants in Thailand by characterized the *beta-globin* gene cluster haplotype pattern in Hb C 21 cases, Hb D-Punjab 14 cases, Hb Tak 4 cases and Hb G-Makassar 4 cases. Haplotype analysis was done by Polymerase Chain Reaction – Restriction Fragment Length Polymorphism (PCR-RFLP) for *beta globin* gene cluster of the following polymorphic restriction sites: *HincII* 5'ε, *XmnI* 5'^Gγ, *HindIII* ^Gγ, *HindIII* ^Aγ, *HincII* 5'ψβ, *HincII* 3'ψβ and *AvaI* 5'β. This study found that the type of haplotype of hemoglobin variants in southern Thailand is apparently different from previously report. The haplotypes of Hb G-Makassar and Hb Tak were reported for the first time in southern Thailand. This finding suggests that the history of population admixture might contribute to the present distribution pattern of the haplotype variants.

คำสำคัญ: ฮีโมโกลบินผิดปกติ, แอสไฟโลไทป์ยีนบีตาโกลบิน, พีซีอาร์-อาร์เอฟแอลพี

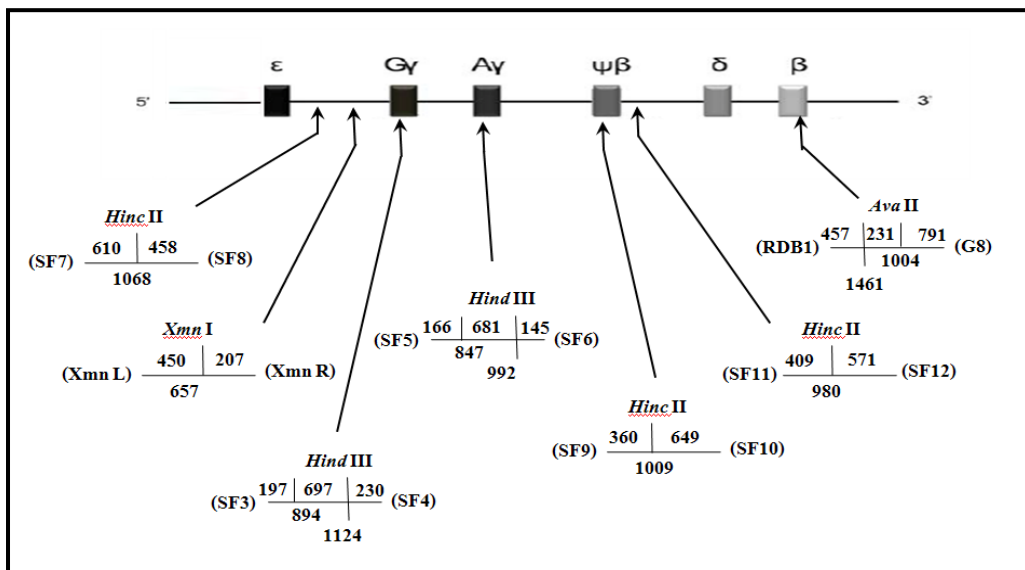
Keywords: hemoglobin variants, *beta globin* gene haplotype, PCR-RFLP

บทนำ

ฮีโมโกลบินผิดปกติเป็นภาวะทางพันธุกรรมที่พบได้บ่อยในประเทศไทยและอีกหลายประเทศในเอเชีย ยุโรป และแอฟริกา เกิดจากยีนที่ควบคุมการสังเคราะห์สายโกลบินเบบไทด์ผิดปกติมีผลทำให้มีความผิดปกติในแง่คุณภาพของฮีโมโกลบิน ปัจจุบันมีรายงานชนิดของฮีโมโกลบินผิดปกติที่พบทั่วโลกมากกว่า 1,018 ชนิด (Hardison, 2002) สำหรับในประเทศไทยพบแล้วมากกว่า 20 ชนิด และจากการศึกษาถึงอุบัติการณ์ของชนิดฮีโมโกลบินผิดปกติที่พบในภาคใต้ของประเทศไทย (Saechan, 2010a) พบว่า จำนวนและชนิดของฮีโมโกลบินผิดปกติที่พบในภาคใต้ของประเทศไทยมีความแตกต่างกับฮีโมโกลบินผิดปกติที่พบในภาคอื่นๆ รวมทั้งแตกต่างจากประเทศเพื่อนบ้านและประเทศในแถบเอเชียด้วยกัน โดยพบว่าฮีโมโกลบินชนิดซี พบมากที่สุดในภาคใต้ของประเทศไทยสูงถึงร้อยละ 48.3 ของฮีโมโกลบินผิดปกติทั้งหมด ซึ่งเป็นตัวอย่างจากคนไทยที่มีภูมิลำเนาและบรรพบุรุษเป็นคนภาคใต้ทั้งสิ้น และจากการศึกษาก่อนหน้านี้ถึงลักษณะทางพันธุกรรมของยีน HLA (Scheltinga, 1999) และลักษณะของการติดเชื้อของไวรัสเอดส์ไทรัน-บาร์ ในคนภาคใต้ของประเทศไทย (Saechan, 2010b) ก็แสดงถึงลักษณะทางพันธุกรรมที่มีความเฉพาะตัวแตกต่างจากคนภาคอื่นของประเทศไทย ซึ่งผลของความแตกต่างเหล่านี้สาเหตุอาจมาจากคนภาคใต้ส่วนใหญ่มีเชื้อสายผสมของชนชาติไทย จีน และมุสลิม ที่ย้ายถิ่นฐานมาจากชาวมองโกลอยด์ (Scheltinga, 1999 และ Phongphaibun, 2004) ทำให้ลักษณะทางพันธุกรรมของคนภาคใต้รวมถึงการพบอุบัติการณ์ของฮีโมโกลบินผิดปกติดังกล่าวข้างต้นแตกต่างจากคนภาคอื่นๆ ของประเทศ การศึกษาค้นคว้าครั้งนี้เป็นการศึกษาถึงต้นกำเนิดทางพันธุกรรม (genetic origin) ของฮีโมโกลบินผิดปกติแต่ละชนิดที่พบได้ในภาคใต้ของไทยโดยเปรียบเทียบลักษณะแฮพลไทป์ของยีนบีตาโกลบินของฮีโมโกลบินผิดปกติแต่ละชนิดที่พบในภาคใต้ของประเทศไทย

อุปกรณ์และวิธีการ

1. ตัวอย่างดีเอ็นเอของฮีโมโกลบินผิดปกติที่พบไม่บ่อยในภาคใต้ของประเทศไทย ที่ได้จากคณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ประกอบด้วยฮีโมโกลบินผิดปกติชนิด Hb C จำนวน 21 ราย Hb D-Punjab จำนวน 14 ราย Hb Tak จำนวน 4 ราย และ Hb G-Makassar จำนวน 4 ราย
2. นำตัวอย่างดีเอ็นเอจากข้อ 1 มาเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในส่วนของยีนโกลบินที่ต้องการด้วยเทคนิคพีซีอาร์ และทำการตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ (restriction enzyme) ชนิดต่างๆ ประกอบด้วยตำแหน่งตัดจำเพาะ 7 ตำแหน่ง ดังนี้ *HincII* 5'ε, *XmnI* 5'γ, *HindIII* γ, *HindIII* α, *HincII* 5'ψβ, *HincII* 3'ψβ และ *AvaII* 5'β ดังแสดงในแผนภูมิรูปที่ 1 และวิเคราะห์ลักษณะของแฮพลไทป์ของยีนบีตาโกลบินที่ได้



รูปที่ 1 แผนภูมิแสดงตำแหน่งการตัดของเอนไซม์ตัดจำเพาะของแฮพลไทป์ของยีนบีตาโกลบิน

ผลการทดลองและวิจารณ์

ผลการวิเคราะห์รูปแบบลักษณะแอสไฟลโทป์ของยีนบีตาโกลบินจากตัวอย่างฮีโมโกลบินผิดปกติชนิด Hb C จำนวน 21 ราย พบลักษณะแอสไฟลโทป์ของยีนบีตาโกลบิน ประกอบด้วย (+ - - - - ±), (+ - - - - -), (- - - - - -) คิดเป็นร้อยละ 38.0, 19.0, 9.4 ตามลำดับ และพบลักษณะต่อไปนี้อีกชนิดละร้อยละ 4.8 คือ (- + + - ± + -), (- ± ± ± ± ±), (± - - - - ± -), (± ± ± ± ± ±), (± ± ± ± ± ±), (+ ± - - - -) และ (+ - - - - ± ±) ส่วนฮีโมโกลบินผิดปกติชนิด Hb D-Punjab จำนวน 14 ราย พบลักษณะของแอสไฟลโทป์ของยีนบีตาโกลบิน ประกอบด้วย (- - ± + - + +), (± - ± ± - ± ±) คิดเป็นร้อยละ 21.6 และ 14.5 ตามลำดับ และพบลักษณะต่อไปนี้อีกชนิดละร้อยละ 7.1 คือ (- - ± ± - ± ±), (- ± ± ± ± ±), (- - ± + ± + +), (± - - ± - ± +), (± - ± ± - ± +), (± ± ± ± ± ±), (± ± + ± ± ±), (+ - - - - ±) และ (+ ± + + - + +) สำหรับฮีโมโกลบินผิดปกติชนิด Hb Tak จำนวน 4 ราย พบลักษณะของแอสไฟลโทป์ของยีนบีตาโกลบิน ประกอบด้วย (- ± ± ± ± ±), (- ± ± ± ± ±), (+ - - - - -), และ (+ - - + - - -) คิดเป็นชนิดละร้อยละ 25 และ ฮีโมโกลบินผิดปกติชนิด Hb G-Makassar จำนวน 4 ราย พบลักษณะของแอสไฟลโทป์ของยีนบีตาโกลบิน ประกอบด้วย (- + ± - + + +), (+ - - - - +), (+ - - + - - +) และ (+ ± ± ± ± ±) คิดเป็นชนิดละร้อยละ 25

จากผลการศึกษาพบว่าชนิดของแอสไฟลโทป์ของฮีโมโกลบินผิดปกติแต่ละชนิดในกลุ่มประชากรในภาคใต้ของประเทศไทยมีความแตกต่างจากรูปแบบของแอสไฟลโทป์ที่เคยมีรายงานมาก่อน และได้รายงานรูปแบบของแอสไฟลโทป์ของฮีโมโกลบินผิดปกติชนิด Hb G-Makassar และ ฮีโมโกลบินผิดปกติชนิด Hb Tak ครั้งแรกในภาคใต้ของประเทศไทย

สรุปผลการทดลอง

ชนิดของแอสไฟลโทป์ของฮีโมโกลบินผิดปกติแต่ละชนิดในกลุ่มประชากรในภาคใต้ของประเทศไทยมีรูปแบบของแอสไฟลโทป์ของฮีโมโกลบินผิดปกติแต่ละชนิดหลากหลาย แสดงให้เห็นว่ากลุ่มประชากรในภาคใต้ของประเทศไทยมีความหลากหลายทางพันธุกรรม ถิ่นกำเนิด รวมถึงเชื้อชาติ และความถี่ในการแพร่กระจายของรูปแบบแอสไฟลโทป์

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษานี้ได้รับทุนอุดหนุนจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย และมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

เอกสารอ้างอิง

Hardison RC, Chui DH, Giardine B, Riemer C, Patrinos GP, Anagnou N, et al. HbVar: A relational database of human hemoglobin variants and thalassemia mutations at the *globin* gene server. Hum Mutat. 2002;19(3):225-33.

Saechan V, Nopparatana C, Fucharoen S. Molecular basis and hematological features of hemoglobin variants in Southern Thailand. Int J Hematol. 2010a;92(3):445-50.

Scheltinga SA, van der Zwan AW, Mongkolsuk T, Sujirachato K, Chiewsilp P, Tilanus MG. Characterization of a novel HLA-A2 variant, A*02012, in the Southern Thai-Muslim population. Tissue Antigens. 1999;53(5):507-9.

Saechan V, Settheetham-Ishida W, Kimura R, Tiwawech D, Mitarnun W, Ishida T. Epstein-Barr virus strains defined by the latent membrane protein 1 sequence characterize Thai ethnic groups. J Gen Virol. 2010b;91(Pt 8):2054-61.

Phongphaibun S. Ties of Brotherhood: Cultural Roots of Southern Thailand and Northern Malaysia [database on the Internet]. [online] http://kyotoreview.cseas.kyoto-u.ac.jp/issue/issue4/article_352.html. 2004, Accessed 1 May 2012. [cited 25 May 2012].