

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ การกลายพันธุ์ของยีน *TP63* ในผู้ป่วยที่มีภาวะฟันหายแต่กำเนิดและปากแหว่งและเพดานโหว่ทั้งที่ร่วมและไม่ร่วมกับกลุ่มอาการอื่น

ผู้เขียน นางสาว วริศรา ศรีปฐมสวัสดิ์

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ทันตแพทยศาสตร์)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ รศ.ทพ.ธีระวัฒน์ โชติกเสถียร

บทคัดย่อ

การกลายพันธุ์ของยีน *TP63* มีความเกี่ยวข้องกับโรคที่มีภาวะ ectodermal dysplasia ที่พบร่วมกับกลุ่มอาการอื่น (syndrome) อย่างน้อย 5 โรค ดังนี้คือ Ectrodactyly-Ectodermal dysplasia-Cleft lip/palate (EEC) syndrome, Ankyloblepharon-Ectodermal defects-Cleft lip/palate (AEC) syndrome, Rapp-Hodgkin Syndrome (RHS), Limb-Mammary Syndrome (LMS) และ Acro-Dermato-Ungual-Lacrimal-Tooth (ADULT) syndrome นอกจากนี้ยังพบว่าการกลายพันธุ์ของยีน *TP63* เกี่ยวข้องกับอย่างน้อย 2 ภาวะที่ไม่พบร่วมกับกลุ่มอาการอื่น (non-syndrome) ดังนี้คือ ภาวะมือ/เท้าพิการแต่กำเนิดที่ไม่พบร่วมกับกลุ่มอาการอื่น (non-syndromic Split Hand-Split Foot Malformation) และภาวะปากแหว่งที่ไม่พบร่วมกับกลุ่มอาการอื่น (non-syndromic cleft lip) ที่น่าสนใจคือในผู้ป่วยที่มีโรคที่มีภาวะที่พบร่วมกับกลุ่มอาการอื่นที่มีการกลายพันธุ์ของยีน *TP63* ดังกล่าวข้างต้นพบว่ามีการหายแต่กำเนิดร่วมด้วยบ่อยมาก นอกจากนั้นในอดีตยังไม่มีการศึกษาเกี่ยวกับการวิเคราะห์การกลายพันธุ์ของยีน *TP63* ในผู้ป่วยที่มีภาวะฟันหายแต่กำเนิดที่ไม่พบร่วมกับกลุ่มอาการอื่นมาก่อน

วัตถุประสงค์เพื่อหาการกลายพันธุ์ของยีน *TP63* ในผู้ป่วยรวม 30 คน ซึ่งประกอบด้วยผู้ป่วยที่มีภาวะฟันหายแต่กำเนิดที่ไม่พบร่วมกับกลุ่มอาการอื่นจำนวน 10 คน, ผู้ป่วยที่มีภาวะปากแหว่งเพดานโหว่ที่ไม่พบร่วมกับกลุ่มอาการอื่นจำนวน 10 คน และในผู้ป่วยที่มีภาวะฟันหายแต่กำเนิดและปากแหว่งเพดานโหว่ที่พบร่วมกับกลุ่มอาการอื่นจำนวน 10 คน โดยใช้วิธีในการตรวจหาการกลายพันธุ์ของยีน ดังนี้คือ สกัด DNA จากเลือดของผู้ป่วยโดยใช้วิธี standard inorganic salting

out method แล้วนำ DNA ไปเพิ่มปริมาณ ด้วยวิธี Polymerase Chain Reaction (PCR) และวิธี direct gene sequencing

ผลการศึกษาพบการกลายพันธุ์ของยีน *TP63* ซึ่งเป็นชนิดใหม่ คือ R227P ในผู้ป่วยเพียง 1 ครอบครัวชาวไทยซึ่งประกอบไปด้วยลูกสาวและพ่อ ซึ่งถูกจัดกลุ่มเป็นผู้ป่วยที่มีภาวะฟันหายแต่กำเนิด และปากแหว่งเพดานโหว่ที่พบร่วมกับกลุ่มอาการอื่นในการศึกษานี้ โดยครอบครัวนี้ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็น Ectrodactyly-Ectodermal Dysplasia-Cleft Lip/Palate (EEC) syndrome ซึ่งเป็นโรคที่รู้จักดีในกลุ่มผู้ป่วยที่พบร่วมกับกลุ่มอาการอื่นที่มีการกลายพันธุ์ของยีน *TP63* ลักษณะของฟันที่ที่น่าสนใจที่พบในพ่อ ประกอบด้วยภาวะฟันหายแต่กำเนิดของฟันเขี้ยวแท้ล่างทั้ง 2 ซี่, ฟันมีขนาดเล็กโดยทั่วไป, มีสันฟันที่นูนเด่นของฟันหน้าตัดแท้บน, ฟันกรามแท้มีรูปร่างกลม, ฟันหน้าตัดแท้บนซี่กลาง 2 ซี่มีรูปร่างเหมือนทรงกระบอก, ผิวเคลือบฟันมีลักษณะผิดปกติบริเวณฟันกรามน้อยแท้ล่างทั้ง 2 ซี่ และพบฟันผุอย่างมากด้วย ตำแหน่ง R227P นี้เป็นตำแหน่งที่พบการกลายพันธุ์บ่อยมาก จึงทำการเปรียบเทียบลักษณะทางคลินิกที่พบในครอบครัวชาวไทยที่เป็น EEC syndrome ที่มีการกลายพันธุ์ R227P และในครอบครัวที่เคยได้รับรายงานว่ามีอาการกลายพันธุ์ R227Q ซึ่งจากการเปรียบเทียบพบว่า คนในทั้งสองครอบครัวมีฟันผุสูง ส่วนภาวะเจ็บเมื่อถ่ายปัสสาวะ (micturition difficulties) เป็นภาวะที่พบบ่อยที่สุดแก่เฉพาะในครอบครัวที่มีการกลายพันธุ์ R227Q ซึ่งภาวะนี้ไม่พบในครอบครัวชาวไทยที่มีการกลายพันธุ์ R227P ในการศึกษานี้ไม่พบการกลายพันธุ์ของยีน *TP63* ในผู้ป่วยที่มีภาวะฟันหายแต่กำเนิดที่ไม่พบร่วมกับกลุ่มอาการอื่น, ผู้ป่วยที่มีภาวะปากแหว่งเพดานโหว่ที่ไม่พบร่วมกับกลุ่มอาการอื่น และในผู้ป่วยคนอื่นๆที่มีภาวะฟันหายแต่กำเนิด และปากแหว่งเพดานโหว่ที่พบร่วมกับกลุ่มอาการอื่น single nucleotide polymorphisms (SNPs) ที่พบในการศึกษานี้เคยได้รับการรายงานมาก่อนหน้านี้แล้ว ข้อจำกัดของการศึกษานี้ คือ ระยะเวลาทำงานวิจัยสั้นเพียง 2 ปี

การศึกษานี้สรุปคือ พบการกลายพันธุ์ของยีน *TP63* ที่มีความเกี่ยวข้องกับภาวะฟันหายแต่กำเนิด และปากแหว่งเพดานโหว่ที่พบร่วมกับกลุ่มอาการอื่น อย่างไรก็ตามไม่พบการกลายพันธุ์ของยีน *TP63* ใน coding exons ในผู้ป่วยที่มีภาวะฟันหายแต่กำเนิดที่ไม่พบร่วมกับกลุ่มอาการอื่น, ผู้ป่วยที่มีภาวะปากแหว่งเพดานโหว่ที่ไม่พบร่วมกับกลุ่มอาการอื่น และในผู้ป่วยคนอื่นๆที่มีภาวะฟันหายแต่กำเนิด และปากแหว่งเพดานโหว่ที่พบร่วมกับกลุ่มอาการอื่น ความรู้จากการศึกษาในครั้งนี้จะเพิ่มความเข้าใจเกี่ยวกับบทบาทของยีน *TP63* ในการพัฒนาที่ปกติของอวัยวะที่เจริญมาจาก ectoderm และเกี่ยวกับผลของการกลายพันธุ์ R227P ในระหว่างการพัฒนาของฟัน

Thesis Title	<i>TP63</i> Mutation in Patients with Syndromic and Non-syndromic Hypodontia and Cleft Lip and Palate
Author	Miss Warissara Sripathomsawat
Degree	Master of Science (Dentistry)
Thesis Advisor	Assoc. Prof. Dr. Dhirawat Jotikasthira

ABSTRACT

TP63 mutations are associated with at least five ectodermal dysplasia syndromes, including Ectrodactyly-Ectodermal dysplasia-Cleft lip/palate (EEC) syndrome, Ankyloblepharon-Ectodermal defects-Cleft lip/palate (AEC) syndrome, Rapp-Hodgkin Syndrome (RHS), Limb-Mammary Syndrome (LMS) and Acro-Dermato-Ungual-Lacrimal-Tooth (ADULT) syndrome, and at least two conditions, including non-syndromic Split Hand-Split Foot Malformation (SHFM) and non-syndromic cleft lip. Interestingly hypodontia is one of the most common findings in patients with *TP63*-associated syndromes. Mutation analysis of *TP63* in patients with non-syndromic hypodontia has not been performed previously.

The objective of this study was to find if there were the *TP63* mutations in the 30 patients, consisting of 10 patients with non-syndromic hypodontia, 10 patients with non-syndromic orofacial clefts and 10 patients with syndromic hypodontia with/without orofacial clefts. The methods used in this study were DNA extraction from peripheral blood, amplification of the DNA by Polymerase Chain Reaction (PCR), and direct gene sequencing.

The result of this study showed that R227P was the only mutation found in a Thai family (daughter and her father) affected with EEC syndrome, which is the most well known *TP63*-associated syndrome. This mutation is novel. The interesting dental findings found in the affected father included congenital absence of the permanent mandibular canines, generalized microdontia, prominent marginal ridges of the permanent maxillary incisors, round-shaped permanent molars, barrel-shaped permanent maxillary central incisors, enamel hypoplasia of permanent mandibular first premolars, and extensive dental caries. The R227 position is a well known

mutation hotspot. Therefore the clinical features of the Thai family affected with R227P mutation and those of the families with previously reported R227Q mutation were compared. It was found that individuals with either mutation had high dental caries. The micturition difficulties, which were not found in individuals with the R227P mutation, were common for individuals with the R227Q mutation. In this study, TP63 mutation was not detected in patients with non-syndromic hypodontia, non-syndromic orofacial clefts, and other syndromic hypodontia with/without orofacial clefts. All single nucleotide polymorphisms (SNPs) found in this study also have previously been reported.

The critique of this study was about the short working time period on the research project.

In conclusion, a novel R227P mutation is reported in a Thai family affected with EEC syndrome. TP63 mutation was not found in the coding exons of patients who were affected with non-syndromic hypodontia, non-syndromic orofacial clefts, and other syndromic hypodontia with/without orofacial clefts. It is hoped that the results of this study will shed light on the understanding of the roles of *TP63* on the normal development of ectodermal derivatives and the effects of R227P mutation on tooth development.