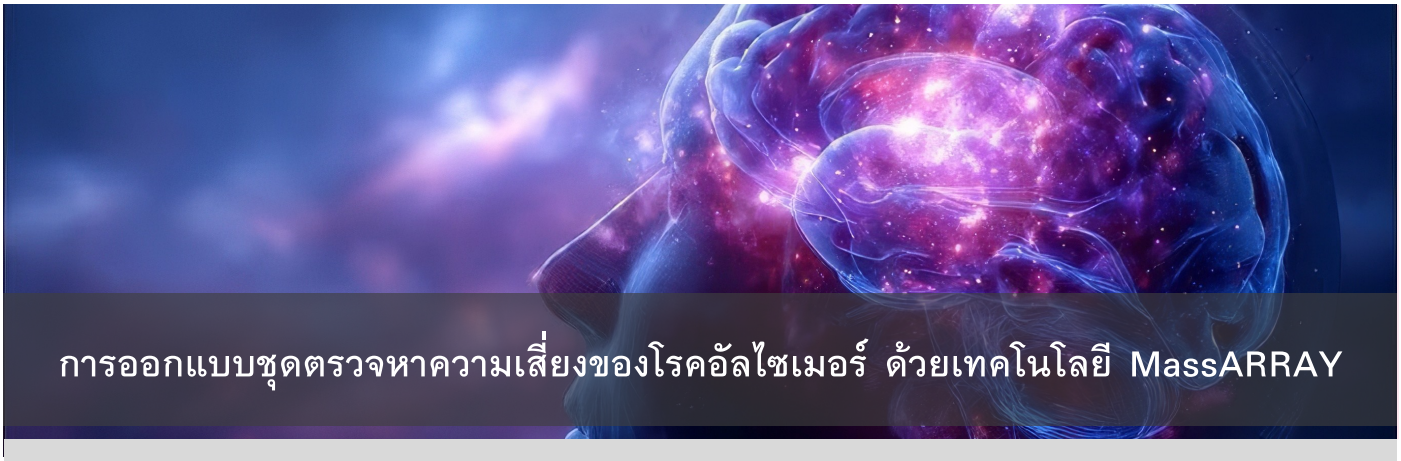


การออกแบบชุดตรวจหาความเสี่ยงของโรคอัลไซเมอร์ ด้วยเทคโนโลยี MassARRAY

ข้อมูลโดย ดร.กิตติพงษ์ ใจสมุทร

โรคอัลไซเมอร์ (Alzheimer's Disease: AD) เป็นโรคความเสื่อมของระบบประสาทที่เป็นสาเหตุหลักของภาวะสมองเสื่อมทั่วโลก แม้ว่าปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อมจะมีผล แต่ "ปัจจัยทางพันธุกรรม" มีบทบาทสำคัญอย่างมากในการกำหนดความเสี่ยงและการดำเนินของโรค โดยเฉพาะยีน *APOE* และยีนกลุ่มเสี่ยงอื่นๆ การตรวจวิเคราะห์ SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms) และรูปแบบการเติมหมู่เมทิลบนดีเอ็นเอ (DNA Methylation) จึงเป็นหัวใจสำคัญในการวิจัยเชิงลึกและการพัฒนายาแบบแม่นยำ (Precision Medicine)

ภาพ 1 วิลเลียม อูเทอร์โมเลน (William Utermohlen) กับภาพสะท้อนของอัลไซเมอร์โรคอัลไซเมอร์ไม่ได้ทำลายแค่เซลล์สมอง แต่มันเปลี่ยนแปลง การรับรู้ (Perception) และ ความตระหนักรู้ในตนเอง (Self-awareness) ของมนุษย์อย่างสิ้นเชิง

พันธุศาสตร์ของโรคอัลไซเมอร์: จากปัจจัยกำหนดสู่คะแนนความเสี่ยง

ความสามารถในการถ่ายทอดทางพันธุกรรม (Heritability) ของโรคอัลไซเมอร์นั้นสูงถึง 60–80% ซึ่งแสดงให้เห็นว่ารหัสพันธุกรรมเป็นตัวแปรสำคัญอย่างยิ่ง โดยเราสามารถแบ่งลักษณะทางพันธุกรรมออกเป็น 2 กลุ่มหลัก

1. อัลไซเมอร์ชนิดเริ่มเป็นเร็ว (Early-Onset AD: EOAD)

เป็นรูปแบบที่พบได้น้อย (ประมาณ 5% ของผู้ป่วยทั้งหมด) แต่มักมีความรุนแรงและถ่ายทอดในครอบครัวอย่างชัดเจน

ความสำคัญทางการแพทย์: หากตรวจพบการกลายพันธุ์ในยีนเหล่านี้ มักจะยืนยันได้ว่าบุคคลนั้นจะพัฒนาเป็นโรคอัลไซเมอร์แน่นอน (Highly penetrant)

2. อัลไซเมอร์ชนิดเริ่มเป็นช้า (Late-Onset AD: LOAD)

เป็นรูปแบบที่พบได้บ่อยที่สุด (คนส่วนใหญ่ที่เป็น AD) และมีลักษณะเป็น "Polygenic" คือเกิดจากตัวแปรทางพันธุกรรมหลายจุดร่วมกัน ความสำคัญทางการแพทย์: การใช้ MassARRAY ตรวจสอบหลายๆ จุด พร้อมกันช่วยในการคำนวณ Polygenic Risk Score (PRS) เพื่อประเมินความเสี่ยงรายบุคคลได้แม่นยำขึ้น

ตาราง 1 เปรียบเทียบ อัลไซเมอร์ชนิดเริ่มเป็นเร็วและอัลไซเมอร์ชนิดเริ่มเป็นช้า

คุณลักษณะ	Early-Onset (EOAD)	Late-Onset (LOAD)
ความถี่ที่พบ	< 5% (หายาก)	> 95% (พบบ่อย)
ยีนหลัก	*APP, PSEN1, PSEN2*	APOE (\epsilon4), MTHFR, GWAS SNPs
รูปแบบการเกิดโรค	Single Mutation (Determinative)	Polygenic (Risk Factors)
ความซับซ้อน	ต่ำ (พันธุกรรมเป็นหลัก)	สูง (พันธุกรรม + สิ่งแวดล้อม)
บทบาทของ MassARRAY	ตรวจสอบ Rare Variants เฉพาะจุด	ตรวจสอบ Multiple SNPs เพื่อหาคะแนนความเสี่ยง (PRS)

ตาราง 2 ตำแหน่งพันธุกรรม (Genetic loci) ที่มีความสัมพันธ์กับโรคอัลไซเมอร์ในชาวเอเชียตะวันออก

Table 2 | Genetic loci reported with a *P* value of ≤10^{-5} by GWAS or WGS studies in East Asian populations

SNP	Position (hg38)	Closest gene	Minor allele	MAF	Ref.
Japan					
rs4598682	11:121505242	*SORL1*[a]	G	0.192	207
rs1992269	18:1872316	*ENSG00000266602*	T	0.018	116
rs802571	7:146265094	*CNTNAP2*[a,b]	G	0.029	
rs11613092	12:118455443	*SUDS3*	T	0.1367	
rs920608	4:76217307	*FAM47E/SCARB2*	C	0.044	120
China					
rs72713460	14:54830325	*GCH1*	T	0.134	121
rs2591054	15:57320212	*LINC01413*	T	0.246	
rs73052335	19:44916825	*APOC1/APOE*	C	0.092	
rs928771	21:38291838	*KCNJ15*	G	0.154	117
rs3777215	5:95786296	*RHOBTB3/GLRX*	A	0.168	
rs6859823	5:106218683	*ENSG00000252337*	T	0.369	
rs234434	14:97354683	*LINC02325*	G	0.237	
rs2255835	21:18119346	*CHODL*	C	0.321	
South Korea					
rs1890078	10:107218478	*SORCS1*	C	0.064	119
rs12594991	15:92973197	*CHD2*	A	0.141	
rs189753894	19:13513675	*CACNA1A*	A	0.359	
rs2280575	3:66492439	*LRIG1*	G	0.059	

A *P* value cut-off of ≤10^{-5} indicates loci suggestive of genome-wide significance. GWAS, genome-wide association study; hg38, Genome Reference Consortium Human Reference[37]; MAF, minor allele frequency; SNP, single nucleotide polymorphism; WGS, whole-genome sequencing. [a]Locus is also observed in non-Hispanic white individuals. [b]Variants in *CNTNAP2* have also been reported to be associated with vascular dementia in individuals from Spain[174].

ข้อมูลจากตาราง 2 แสดงให้เห็นว่า ตำแหน่งพันธุกรรม (Genetic loci) ที่มีความสัมพันธ์กับโรคอัลไซเมอร์ในชาวเอเชียตะวันออกนั้นมีความหลากหลาย และบางตำแหน่งอาจแตกต่างจากประชากรตะวันตก การศึกษาแบบ Genome-wide association studies (GWAS) และ Whole-genome sequencing (WGS) ได้ระบุตำแหน่ง SNP ที่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 10^{-5}$) เราสามารถนำรายชื่อ SNP เหล่านี้มาสร้างเป็น **Custom Panel** เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการคัดกรองโรคในคนไทยได้

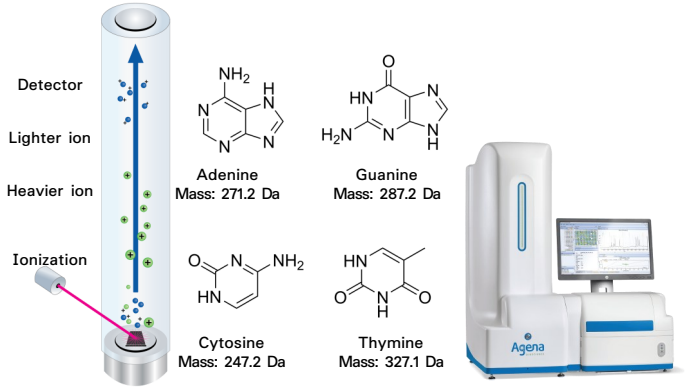
การเลือกเครื่องมือให้เหมาะสมกับโจทย์และงบประมาณเป็นเรื่องสำคัญ สำหรับการศึกษาโรคอัลไซเมอร์ (AD) ซึ่งมีทั้งยีนที่ทราบตำแหน่งแน่ชัดแล้ว (Known Variants) และยีนที่ยังรอการค้นพบ (Novel Variants) เราสามารถเปรียบเทียบเทคโนโลยีทั้ง 3 ทั้งสามชนิดที่สามารถนำมาใช้ในงานนี้ได้ดังนี้

1. **Classical PCR (qPCR / Sanger Sequencing)**
   เมื่อไหร่ที่ควรใช้: เมื่อคุณต้องการตรวจแค่ **"ยีนเดียว จุดเดียว"** เช่น ตรวจเพื่อดูว่าคนไข้คนนี้มีอัลลีล APOE\epsilon4 หรือไม่ในงานคลินิกปกติ
   ข้อจำกัด: หากต้องการตรวจ SNPs 20 จุดในคนไข้ 1,000 คน การทำ PCR ทีละจุดจะใช้เวลานานมากและเปลืองค่าสารเคมี (Reagent) มหาศาล
2. **Next-Generation Sequencing (NGS)**
   เมื่อไหร่ที่ควรใช้: เหมาะสำหรับ **"งานค้นพบ" (Discovery Phase)** เช่นเรามีครอบครัวที่เป็นอัลไซเมอร์แบบถ่ายทอดทางพันธุกรรม (Familial AD) แต่ตรวจไม่พบมิวเทชันในยีน APP, PSEN1, PSEN2 เราต้องใช้ NGS (Whole Exome Sequencing) เพื่อหาว่ามี "ยีนใหม่" ตัวไหนที่ทำให้ครอบครัวนี้เป็นโรค
   ข้อจำกัด: ค่าใช้จ่ายต่อหัวยังสูง และขั้นตอนการวิเคราะห์ข้อมูล (Bioinformatics) ซับซ้อนมาก ต้องใช้เครื่องคอมพิวเตอร์สมรรถนะสูง
3. **MassARRAY (The "Sweet Spot" for Validation)**
   เมื่อไหร่ที่ควรใช้: เหมาะสำหรับการทำ **Large-scale Validation** หรือ **Polygenic Risk Score (PRS)** สมมติเรามีรายชื่อยีนกลุ่มเสี่ยง AD อยู่ 30-40 SNPs (เช่น APOE, TREM2, ABCA7, BIN1) และต้องการตรวจในประชากรไทย 2,000-5,000 ตัวอย่างเพื่อให้ได้นัยสำคัญทางสถิติ MassARRAY จะคุ้มค่าที่สุดเพราะออกแบบ Panel ครั้งเดียวแล้ว Runได้รวดเร็ว ต้นทุนต่อตัวอย่างจะลดลง
   ข้อดีในงาน AD: ระบบนี้สามารถสามารถตรวจวิเคราะห์ได้สูงสุด 40 genetic markers ในการทำ PCR เพียงครั้งเดียวต่อหนึ่งหลุม (Well) และยังสามารถปรับเปลี่ยน Panel ของยีนที่ต้องการตรวจได้ง่าย (Customizable) และประหยัดกว่า NGS สำหรับการตรวจเฉพาะจุด (Targeted Genotyping)ใช้ปริมาณ DNA เพียง 20-40 ng

หัวใจสำคัญของการใช้ **Agena MassARRAY** ในโรคอัลไซเมอร์ (AD) คือความสามารถในการรวมยีนที่เป็นปัจจัยพื้นฐานระดับสากล เข้ากับยีนที่จำเพาะต่อประชากรในภูมิภาค เพื่อสร้างการประเมินความเสี่ยงที่มีความแม่นยำสูงสุด

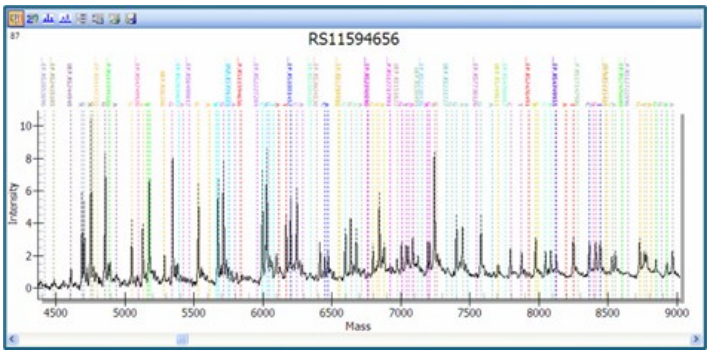
หลักการทำงานของเทคโนโลยี MassARRAY® System

MassARRAY คือนวัตกรรมการวิเคราะห์สารพันธุกรรมแบบ Targeted Genotyping ประสิทธิภาพสูง ที่รวมความสามารถของเทคนิค Multiplex PCR เข้ากับความละเอียดระดับโมเลกุลของ MALDI-TOF Mass Spectrometry (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization - Time of Flight) เพื่อระบุการเปลี่ยนแปลงของลำดับเบสได้อย่างแม่นยำ หัวใจสำคัญของเทคโนโลยีนี้คือการจำแนกความแตกต่างของสารพันธุกรรมผ่านการวัด **“น้ำหนักมวลโมเลกุล” (Molecular Mass)** โดยตรง เนื่องจากนิวคลีโอไทด์แต่ละชนิด (A, C, G, T) มีมวลที่จำเพาะตัว เมื่อเกิดการกลายพันธุ์ในระดับ **Single Nucleotide Polymorphism (SNP)** หรือการขาดหาย/เกินมาของลำดับเบส **(Insertion/Deletion: InDel)** มวลรวมของชิ้นส่วน DNA จะเปลี่ยนแปลงไป ซึ่งระบบ MassARRAY สามารถตรวจจับความแตกต่างนี้ได้อย่างแม่นยำ



ภาพ 2 ความแตกต่างของมวลของสารพันธุกรรมสามารถตรวจจับได้โดยเทคโนโลยี MassARRAY

เทคโนโลยี MassARRAY® มีซอฟต์แวร์วิเคราะห์ที่เปลี่ยนข้อมูลซับซ้อนให้เป็นผลลัพธ์ที่เข้าใจง่ายโดยการแสดงผลในรูปแบบ Spectrum Plot (Peak Spectrum) ที่ระบุตำแหน่งการกลายพันธุ์ และยังมี User-Friendly Interface ไม่จำเป็นต้องเป็นเชี่ยวชาญด้าน Bioinformatics ก็สามารถใช้งานได้



ภาพ 3 ความแตกต่างของมวลของสารพันธุกรรมสามารถตรวจจับได้โดยเทคโนโลยี MassARRAY

Alzheimer's Disease Risk Detection บนแพลตฟอร์ม MassARRAY®

สามารถประยุกต์ใช้ MassARRAY® ในโรคอัลไซเมอร์ได้ดังนี้

A. การหาลักษณะทางพันธุกรรม (Genotyping)

การใช้ชุดตรวจ iPLEX® Pro เพื่อวิเคราะห์ยีนที่เป็นปัจจัย เสี่ยงหลัก:

- APOE Genotyping: แยกแยะ Alleles ε2, ε3, ε4, ซึ่งเป็นตัวบ่งชี้ความเสี่ยงที่สำคัญที่สุดใน Late-onset AD
- Rare Variant Analysis: ตรวจสอบยีนอื่นๆ เช่น TREM2, ABCA7, SORL1 และ BIN1 ซึ่งมีความเกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันและการจัดการขยะโปรตีนในสมอง
- Polygenic Risk Score (PRS): การรวมหลายๆ SNPs มาประเมินความเสี่ยงรวมรายบุคคล

B. การศึกษาด้านเอพิเจเนติกส์ (Epigenetics - DNA Methylation)

ด้วยซอฟต์แวร์ EpiTYPER® ระบบ MassARRAY สามารถตรวจวัดระดับการเติมหมู่เมทิลบน DNA (CpG sites) ในยีนที่เกี่ยวข้องกับโรคอัลไซเมอร์ เช่น ANK1$ หรือ HOXA3 ซึ่งมัก พบความผิดปกติในระยะเริ่มแรกของโรค

C. เภสัชพันธุศาสตร์ (Pharmacogenomics - PGx)

ตรวจสอบการตอบสนองต่อยาที่ใช้รักษาอาการอัลไซเมอร์ เช่น ยากลุ่ม Cholinesterase inhibitors ผ่านการตรวจยีนกลุ่ม CYP450 เพื่อปรับขนาดความแรงของยาให้เหมาะสมกับผู้ป่วยแต่ละราย

ตัวอย่างชุดตรวจหลักเพื่อการประเมินความเสี่ยง (Core Panel for Risk Assessment)

จากการคัดเลือก SNPs สำคัญ ระบบ MassARRAY สามารถตรวจวิเคราะห์ยีนพื้นฐานเหล่านี้ได้อย่างแม่นยำในรันเดียว:

SNP Selection: Core Panel for Risk Assessment

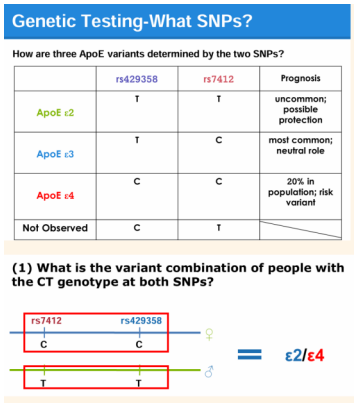
Gene	rsID	Role
APOE	rs429358	Defines ε4 allele, significantly increases AD risk.
APOE	rs7412	Defines ε2 allele, associated with protective effects against AD.
MTHFR	rs1801133	Associated with reduced MTHFR enzyme activity, which plays a role in folate metabolism, potentially elevated homocysteine levels which increases risk of late-onset Alzheimer's disease (LOAD)
MTHFR	rs1801131	Additive effects on MTHFR function.

This core panel forms the foundation for targeted Alzheimer's disease risk detection.

ตาราง 3 ตัวอย่างตำแหน่งพันธุกรรมเป้าหมายที่มีผ่านการคัดเลือก (Target SNPs) ตรวจวิเคราะห์โรคอัลไซเมอร์ในคนไทย

- **APOE(rs429358 & rs7412):** ใช้สำหรับระบุอัลลีล ε4 (เพิ่มความเสี่ยงอย่างมีนัยสำคัญ) และ ε2 (ปัจจัยป้องกันโรค)
- **MTHFR (rs1801133 & rs1801131):** เกี่ยวข้องกับการลดลงของเอนไซม์ในกระบวนการเผาผลาญโฟเลต(Folate metabolism) ซึ่งส่งผลให้ระดับโฮโมซิสเทอีน (Homocysteine) สูงขึ้น และเพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิดอัลไซเมอร์ชนิดเริ่มเป็นช้า (LOAD)

ตารางที่ 4. ตัวอย่างการแปลผลยีน APOE (The APOE Haplotypes) และ และยีน MTHFR



RS. number	Reference Allele	Alternative Alleles
rs1801133	G	A
rs1801133	G	C
rs1801133	G	T

RS. number	Reference Allele	Alternative Alleles
rs1801131	T	A
rs1801131	T	C
rs1801131	T	G

ตัวอย่างการแปลผลยีน APOE (The APOE Haplotypes)

การหาฟีโนไทป์ของ APOE (ε2, ε3, ε4,)ไม่ได้ดูจาก SNP เพียงจุดเดียว แต่ต้องดูความสัมพันธ์ของ SNPs 2 ตำแหน่งร่วมกัน คือ rs429358 และ rs7412 เช่น คนไข้ได้รับอัลลีลหนึ่งเป็น C-C (จากแม่) และอีกอัลลีลหนึ่งเป็น T-T (จากพ่อ) ผลรวมจีโนไทป์จะเป็น ε2/ε4 ซึ่งหมายถึงมีความเสี่ยงเพิ่มขึ้นจาก ε4แต่มี ε2 ช่วยลดทอนบางส่วน

ยีน MTHFR เกี่ยวข้องกับการเผาผลาญโฟเลต ซึ่งส่งผลต่อระดับโฮโมซิสเทอีนในเลือด การอ่านผลบน MassARRAY จะดูจาก Reference Allele (อัลลีลอ้างอิง) เปรียบเทียบกับ Alternative Alleles (อัลลีลกลายพันธุ์) เช่นrs1801133 (677G>T) และ rs1801131 (1298T>G) การมี Variant ในทั้งสองตำแหน่ง (Compound Heterozygous) จะส่งผลต่อระดับเอนไซม์อย่างมีนัยสำคัญ และเพิ่มความเสี่ยงต่อ Late-onset AD

Executive Summary

MassARRAY Panel Design for Alzheimer's Disease Risk Detection

โรคอัลไซเมอร์ (Alzheimer's Disease; AD) เป็นสาเหตุหลักของภาวะสมองเสื่อมทั่วโลก โดยมีบทบาทของปัจจัยทางพันธุกรรมสูงถึง 60–80% โดยเฉพาะในกลุ่มผู้ป่วยอัลไซเมอร์ชนิดเริ่มเป็นช้า (Late-Onset AD; LOAD) ซึ่งมีลักษณะเป็น polygenic disease คือเกิดจากการทำงานร่วมกันของตัวแปรทางพันธุกรรมหลายตำแหน่ง การประเมินความเสี่ยงในระดับบุคคลจึงจำเป็นต้องใช้การตรวจหลาย SNP พร้อมกันและนำมาวิเคราะห์เป็น Polygenic Risk Score (PRS)

Agena MassARRAY® System เป็นแพลตฟอร์มที่เหมาะสมอย่างยิ่งสำหรับการพัฒนา custom genetic panel เพื่อการประเมินความเสี่ยงโรคอัลไซเมอร์ เนื่องจากสามารถตรวจวิเคราะห์ SNP ได้หลายตำแหน่งในคราวเดียว ด้วยความแม่นยำสูง ต้นทุนต่อการทดสอบต่ำ และใช้ปริมาณ DNA น้อย เหมาะทั้งสำหรับงานวิจัยขนาดใหญ่และการนำไปประยุกต์ใช้ในห้องปฏิบัติการเชิงคลินิกเอกสารฉบับนี้นำเสนอแนวคิดการออกแบบ MassARRAY Panel สำหรับ Alzheimer's Disease Risk Detection โดยผสาน

- ยีนหลักระดับสากล เช่น *APOE, TREM2, ABCA7, BIN1, SORL1*

ร่วมกับ ตำแหน่ง SNP ที่มีความสำคัญในประชากรเอเชีย/ไทย จากข้อมูล GWAS และการศึกษาทางพันธุกรรมระดับภูมิภาค เพื่อสร้างเครื่องมือประเมินความเสี่ยงที่เหมาะสมกับบริบทของประชากรไทยมากยิ่งขึ้น

เอกสารฉบับนี้นำเสนอแนวคิดการออกแบบ MassARRAY Panel สำหรับ Alzheimer's Disease Risk Detection โดยผสาน

- ยีนหลักระดับสากล เช่น *APOE, TREM2, ABCA7, BIN1, SORL1*
- ร่วมกับ ตำแหน่ง SNP ที่มีความสำคัญในประชากรเอเชีย/ไทย จากข้อมูล GWAS และการศึกษาทางพันธุกรรมระดับภูมิภาค เพื่อสร้างเครื่องมือประเมินความเสี่ยงที่เหมาะสมกับบริบทของประชากรไทยมากยิ่งขึ้น

นอกจากการทำ Genotyping เพื่อประเมินความเสี่ยง แล้ว แพลตฟอร์ม MassARRAY ยังสามารถต่อยอดสู่

- Epigenetics (DNA methylation analysis) ผ่านระบบ EpiTYPER® เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงเชิงชีวโมเลกุลในระยะเริ่มต้นของโรค
- Pharmacogenomics (PGx) เพื่อช่วยเลือกยาและขนาดยาที่เหมาะสมกับผู้ป่วยแต่ละราย ทำให้ MassARRAY ไม่ได้เป็นเพียงเครื่องมือคัดกรองทางพันธุกรรม แต่เป็น โซลูชันแบบครบวงจร สำหรับงานด้าน Precision Medicine ในโรคอัลไซเมอร์

อย่างไรก็ตาม การประเมินความเสี่ยงทางพันธุกรรมควรเน้นว่าผลการตรวจสะท้อน "ความเสี่ยง" ไม่ใช่การวินิจฉัยโรคโดยตรงและควรใช้ประกอบกับข้อมูลทางคลินิก ปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อม และพฤติกรรมสุขภาพ เพื่อให้เกิดการดูแลผู้ป่วยอย่างรอบด้านและมีความรับผิดชอบทางการแพทย์

MassARRAY Panel สำหรับ Alzheimer's Disease Risk Detection เป็นแนวทางที่มีศักยภาพสูงในการนำเทคโนโลยีด้านพันธุศาสตร์เข้าสู่การแพทย์แม่นยำในบริบทของประเทศไทย ทั้งในด้านงานวิจัย การคัดกรองความเสี่ยง และการวางรากฐานสู่ระบบการดูแลผู้ป่วยเชิงป้องกันในอนาคต

lifomics

บริษัท ไลโฟมิกส์ จำกัด
10 ซอยกาญจนาภิเษก 0010 แยกสอง
เขตบางแค กทม. 10160
โทร 02 454 8533

Agena BIOSCIENCE

lifomicsth @lifomics www.lifomics.com