

บทความพิเศษ

ความชรากระบวนการเติมหมู่เมทิลเข้าในสายดีเอ็นเอ (Aging and DNA methylation)

รุจิณี ปติรุพร

ภาควิชาพยาธิวิทยา วิทยาลัยแพทยศาสตร์พระมงกุฎเกล้า

บทนำ

ความชราเป็นกระบวนการที่เกิดจากหลายปัจจัย เนื่องมาจากการเสื่อมถอยในหน้าที่ของเซลล์ไปตามกาลเวลา โดยมีการพัฒนาไปอย่างช้าๆ พร้อมกับความเสื่อมถอยลงในหน้าที่ต่างๆ ทางชีวภาพของสิ่งมีชีวิต ในบาง biological pathways การเสื่อมลงในหน้าที่สามารถกำหนดได้จากมูลเหตุเดียว เช่น การเสื่อมลงของการเผาผลาญขณะพัก (resting metabolism) ซึ่งใน pathways อื่นๆ ขอบเขตของการเสื่อมลงจะค่อนข้างกว้างและยากที่จะอธิบายได้ เช่น การลดความเสถียรของรูปแบบการควบคุมเหนือพันธุกรรม (epigenetic pattern) ลง แม้ว่ารูปแบบการควบคุมเหนือพันธุกรรมจะเปลี่ยนแปลงได้หลากหลายรูปแบบในระหว่างพัฒนาการ แต่สำหรับในช่วงต้นของชีวิตนั้น จะถูกกำหนดมาเรียบร้อยแล้วเสมือนเป็นโปรแกรมทางชีววิทยา (biological program) เนื่องจากเป็นช่วงเวลาที่มีความสำคัญต่อชีวิต ในขณะที่การเปลี่ยนแปลงเหนือพันธุกรรมในเนื้อเยื่อของสิ่งมีชีวิตที่โตเต็มวัยแล้วอาจเป็นผลมาจากเหตุการณ์ที่เป็นภัยอันตรายต่างๆ หรือที่มีความชราที่เกี่ยวข้อง

มีความพยายามที่จะรวบรวมกระบวนการที่มีผลก่อให้เกิดความชราให้เป็นหมวดหมู่ ได้แก่ การสะสมของสารพันธุกรรมที่ถูกทำลาย ทำให้เกิดความไม่เสถียรของโครโมโซม (chromosomal instability) การสั้นลงของเทโลเมียร์ (telomere shortening) ปฏิกิริยาของออกซิเจน (reactive oxygen species) ทำลายหน้าที่ของไมโทคอนเดรีย (mitochondria) และลดการผลิตพลังงานลง การสูญเสียเซลล์ต้นกำเนิด (stem cell depletion) การสะสมโปรตีนที่ถูกทำลายเนื่องจากการสูญเสีย proteostasis ขึ้นตอนดังกล่าวทำให้เกิดความชรา (senescence) และเปลี่ยนแปลงการสื่อสารระหว่างเซลล์ด้วยกัน (cellular communication) อายุที่มีผลกระทบต่อฮอร์โมนอินซูลิน และ IGF-1 signaling pathways และสุดท้ายการเปลี่ยนแปลงเหนือพันธุกรรม (epigenetic) เป็นต้น Pathways จำนวนมากที่เกิดการเปลี่ยนแปลงไปเหล่านี้ เป็นองค์ประกอบที่สำคัญของ การเกิดโรคต่างๆ ที่เนื่องมาจาก

ความชรา (age-related diseases) เช่น โรคหัวใจ โรคที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ atherosclerosis และ neurodegenerative diseases เป็นต้น

เนื่องจาก epigenetic changes เป็นเหตุการณ์ที่ปกติและสามารถที่จะนำไปสู่การเปลี่ยนแปลงการแสดงออกของยีน (gene expression) ได้ จึงสามารถที่จะส่งผลกระทบต่อหมวดหมู่ต่างๆ ที่ก่อให้เกิดความชราได้ เช่นการยับยั้งกระบวนการถอดรหัส (silencing) ของ DNA repair genes หรือ anti-inflammatory genes เป็นต้น สำหรับบทความนี้จะเน้นไปในเรื่องของ “epigenetic” ที่สนับสนุนให้เกิดความชรา และความสัมพันธ์ระหว่างความชราและการเปลี่ยนแปลง DNA methylation ที่ศึกษาตั้งแต่ช่วงต้นๆ และยังคงมีการศึกษาอย่างต่อเนื่องจวบจนปัจจุบัน

กระบวนการเติมหมู่เมทิลเข้าในสายดีเอ็นเอ (DNA methylation) เป็นกระบวนการควบคุมเหนือพันธุกรรมโดยมีการเติมหมู่เมทิล ($-CH_3$) ไปยังคาร์บอนตำแหน่งที่ 5 ของเบสไซโทซีน (cytosine; C) ใน DNA โดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์ดีเอ็นเอเมทิลทรานสเฟอเรส (DNA methyltransferase) รูปแบบของกระบวนการ DNA methylation มีอยู่ 2 รูปแบบที่ตรงข้ามกันคือการเติมเข้า (ถ้า DNA ถูก methylated คือการที่มีหมู่เมทิลเข้าไปจับที่ DNA เช่น ที่ยีนจะทำให้ยีนไม่สามารถทำงานได้) และการนำออก (เรียกกระบวนการ demethylation ทำให้ยีนกลับมาทำงานได้อีก) หน้าที่ของ DNA methylation ที่ถูกค้นพบในช่วงแรกๆ จะสัมพันธ์ไปกับการควบคุมยีน (gene regulation) และการเจริญพัฒนาของเซลล์ (cell differentiation)¹ X-chromosome inactivation มีกระบวนการ DNA methylation เป็นตัวควบคุมสำหรับการแสดงออกของยีนตำแหน่งนี้ในระยะยาว² หลังจากช่วงพัฒนาการ (development phase) จะมี 1% ของจีโนม (genome) ในเซลล์ร่างกายที่จะถูกเติมหมู่เมทิลเข้าในสายดีเอ็นเอที่เบสไซโทซีน และมักจะมีผลกระทบตรงตำแหน่ง CpG dinucleotide³ รูปแบบของ DNA methylation จะมีเครื่องหมาย

บ่งชี้บริเวณ ในรูปแบบของ “ซี พี จี ไอส์แลนด์” (CpG islands) ที่เป็น unmethylated GC-rich regions โดยจะเป็นบริเวณที่มีความหนาแน่นของ CpG สูง และมักจะมีความสัมพันธ์กับบริเวณโปรโมเตอร์ (promoter regions) ของยีนอีกด้วย⁴ หลังจาก DNA methylation pattern เกิดขึ้นมาในระหว่าง embryogenesis แล้ว จึงมีคำถามตามมาอีกมากมาย เช่น มีกลไกในการควบคุมและการบำรุงรักษา (maintenance) อย่างไรในเนื้อเยื่อที่จำเพาะ (specific tissue) และสิ่งแวดล้อมจะอำนวยความสะดวกในการเปลี่ยนแปลงรูปแบบของการ methylation ในระหว่างช่วงชีวิตในสิ่งมีชีวิตชนิดนั้นอย่างไร และผลกระทบของการเปลี่ยนแปลงเหล่านี้คืออะไร เป็นต้น

การคาดการณ์กระบวนการเติมหมู่เมทิลเข้าในสายดีเอ็นเอในช่วงวัยชรา

การศึกษาในช่วงแรกๆ ถึงความสัมพันธ์ของความชากับกระบวนการ DNA methylation ได้ทำการ ศึกษาใน humpback salmon พบว่าระดับของ 5-methylcytosine (5mC) ใน DNA ที่สกัดจากหลายอวัยวะ ในช่วงชีวิตที่ต่างกันจะลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ในระหว่าง ontogenesis⁵ จากนั้นจึงมีการศึกษาในเนื้อเยื่อของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมหลายชนิดตามมาให้ผลสอดคล้องและสนับสนุนการศึกษาที่ผ่านมา โดยสรุป 5mC จะถูกตรวจพบได้มากที่สุด ใน DNA ที่สกัดจากเนื้อเยื่อของเอ็มบริโอและสัตว์ที่เพิ่งเกิดใหม่และจะค่อยๆ ลดลงเมื่อเข้าสู่วัยชรา⁶ การศึกษา DNA methylation ในเนื้อเยื่อต่างๆ ในสัตว์กักตุน พบว่ามีความเกี่ยวพันผกผันกับอายุ⁷ ต่อมาการศึกษาพบความเชื่อมโยงระหว่าง global DNA hypomethylation กับความชรา โดยการทดลองเลี้ยงเซลล์ fibroblast⁸ และจากการศึกษาผลกระทบของการใช้ demethylation agent หรือ สารเคมีที่มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ DNA methyltransferase (DNMT) ได้แก่ 5-aza-2'-deoxycytidine (5-aza-dC) โดยให้สารนี้กับเซลล์ human fibroblasts พบว่าไปชักนำให้เกิดการ demethylation ของ DNA ส่งผลให้อายุขัยของเซลล์สั้นลงอย่างมาก⁹ มีการเปรียบเทียบระหว่างการเติมหมู่เมทิลในจีโนมของ CD4⁺T cells ของเด็กแรกเกิด (new born) กับของคนที่อายุยืน 100 ปี หรือมากกว่า (centenarians) โดยการใช้เทคนิค whole genome bisulfite sequencing ทำการตรวจสอบ hypomethylation ทั้งหมด พบว่าลักษณะ CpG methylation ของเด็กแรกเกิดจะ homogeneous มากกว่า เมื่อ

เทียบกับของ centenarians ซึ่งให้เห็นชัดเจนว่ามีการกระจายของกระบวนการ demethylation ไปตลอดช่วงของชีวิต¹⁰ อย่างไรก็ตาม ข้อมูลนี้เป็นการศึกษาแบบตัดขวาง (cross-sectional study) ไม่ได้เป็นการศึกษาตามยาว จึงอาจทำให้ผิดพลาดจากอายุที่จำเพาะในการศึกษาแบบตัดขวางได้

การลดลงหรือการสูญเสียภาวะเมทิลเลชันไปในจีโนม (global DNA hypomethylation) นั้นไม่ได้หมายความว่าแต่ละตำแหน่งจะถูก hypomethylated ในช่วงวัยชรา ยีนแรกๆ ที่พบว่ามี การเติมหมู่เมทิลเพิ่มขึ้น (hypermethylated) ในลำไส้ใหญ่เมื่ออายุมากขึ้น คือยีนที่ถอดรหัสได้เป็นตัวรับฮอร์โมนเอสโตรเจน (Estrogen receptor; ER) จึงนำไปสู่การศึกษาในระดับจีโนม ในการนำรูปแบบการ methylation ของชุดจำเพาะของยีน (a specific set of genes) มาใช้ในการทำนายอายุบุคคลได้ ข้อมูลของการสะสมการเติมหมู่เมทิลเข้าในจีโนมอย่างต่อเนื่องในรูปแบบของ Infinium HumanMethylation Bead-Chip assay (Illumina) ช่วยให้สามารถประเมินผลได้อย่างเป็นระบบและนำมาใช้ตอบคำถามต่างๆ ได้ Florath et al.¹¹ ศึกษาจากตัวอย่างดีเอ็นเอจากเลือดจำนวน 962 ตัวอย่าง ด้วยชุดของ 162 CpG sites สำหรับการคาดการณ์อายุ แต่แนวคิดเรื่อง “epigenetic clock” ได้เกิดขึ้นมาก่อนหน้านี้แล้วส่วนความก้าวหน้าในการวิเคราะห์ข้อมูลพัฒนาโดย Horvath¹² ซึ่งไม่เพียงใช้ชุดเนื้อเยื่อที่จำเพาะ (tissue-specific set) เท่านั้น แต่ยังใช้ชุดเนื้อเยื่อต่างๆ (tissue-independent set) ที่ได้มาจาก 8,000 ตัวอย่างอีกด้วย แล้ว identify ชุด tissue-independent set ของ 395 CpG sites ซึ่งสามารถคาดการณ์อายุได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ 0.96 และมีข้อผิดพลาด 3.6 ปีเป็นอย่างมาก โดยสรุปคือมีการใช้ DNA methylation เป็น biomarker ในการประเมิน “epigenetic age”

โดยหลักการทั่วไปเราทราบว่า การเพิ่ม DNA methylation เข้าในบริเวณโปรโมเตอร์ของยีนเป็นการไปยับยั้งแสดงออกของยีน ส่วนในทางกลับกันนั้นยังไม่สามารถสรุปได้ เช่น ใน peripheral blood mono-nuclear cell (PBMCs) ของมนุษย์ พบว่าความสัมพันธ์โดยรวมของการแสดงออกของยีนกับการเปลี่ยนแปลงดีเอ็นเอเมทิลเลชันนั้นมีความสัมพันธ์กันน้อยมาก จึงเกิดข้อโต้แย้งกับแนวคิดที่ว่าดีเอ็นเอเมทิลเลชันที่เปลี่ยนแปลงไปจะสัมพันธ์กับอายุ (age-related DNA methylation changes) เนื่องจากโดยทั่วไปจะมีกลไกทางชีวภาพในการเปลี่ยนแปลงการแสดงออกของยีนอยู่แล้ว¹³ และยังมีความท้าทายในการศึกษาความชากับการเปลี่ยนแปลงดี

เอ็นเอเมทิลเลชันอีก นั่นคืออาจมีผลกระทบอื่นๆ ที่ส่งผลต่อการเกิดดีเอ็นเอเมทิลเลชันในห้วงระยะ เวลาที่ยาวนานของชีวิตหรือไม่ เช่น โรคเบาหวานชนิดที่ 2 และโรคอ้วนมีผลกระทบมาจากการเติมหมู่เมทิลในจีโนม¹⁴ นอกจากนี้คุณภาพอากาศที่เราหายใจเข้าไป การสัมผัสกับสารพิษในระยะเวลาอันยาวนาน การใช้ชีวิต เช่น การออกกำลังกาย และการใช้ยาหรือการสูบบุหรี่ แม้แต่สิ่งแวดล้อมทางกายภาพที่มีอยู่ก็อาจมีผลต่อ ดีเอ็นเอเมทิลเลชัน แม้จะมีเหตุผลในการคาดเดาความเกี่ยวข้องระหว่างปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อมหรือการสัมผัสต่อสิ่งแวดล้อมกับรูปแบบของ ดีเอ็นเอเมทิลเลชันก็ตาม แต่ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อให้ได้ข้อสรุปที่หนักแน่นว่าสิ่งต่างๆ เหล่านี้เป็นปัจจัยรบกวนที่เป็นไปได้จริง จึงยังอาจสรุปแน่นอนไม่ได้ว่าการเปลี่ยนแปลงของดีเอ็นเอเมทิลเลชันเมื่อเวลาผ่านไปเป็นผลกระทบมาจากอายุอย่างแท้จริง¹⁵

กลไกของกระบวนการเติมหมู่เมทิลเข้าไปในสายดีเอ็นเอที่เปลี่ยนแปลงไปในช่วงวัยชรา

จากการศึกษาความสัมพันธ์ของการเติมหมู่เมทิลเข้าไปในสายดีเอ็นเอ กับกับอายุ ในมะเร็งจึงพบว่า DNA hypermethylation ใน Polycomb group protein (PcG) target genes. PcG เป็นโมเลกุลของโปรตีนที่ซับซ้อนเกี่ยวข้องกับดีเอ็นเอและโครมาติน มีบทบาทในการยับยั้งการทำงานของยีนที่เกี่ยวข้องกับการพัฒนาตัวอ่อน¹⁶ หน่วยของ Polycomb repressive complex 2 (PRC2) คือ tri-methylate lysine 27 บน histone H3 (เพื่อสร้าง H3K27me3) ซึ่งเป็นการปรับเปลี่ยนโปรตีนฮิสโตนโดย maintain ในช่วงระหว่างการแบ่งเซลล์ PRC2 เป็นตัว mediates ในการยับยั้งการทรานสคริปชันของยีน โดยมี H3K27me3 ทำตัวเป็นเครื่องหมาย ซึ่งต่อมาจะถูกจับ (bound) อย่างอิสระกับกลุ่มย่อยของ Polycomb repressor complex 1 (PRC1) protein complexes ซึ่งชักนำให้โครมาตินอัดตัวกันแน่น และทำหน้าที่เป็นกลไกยับยั้งกระบวนการถอดรหัสของยีน (silencing mechanism) ที่ค่อนข้างเสถียร¹⁷ PcG target genes เป็นบริเวณที่มีแนวโน้มที่จะมีการ hypermethylation ในมะเร็งชนิดต่างๆ ด้วย แต่ยังไม่เป็นที่เข้าใจชัดเจนว่า Polycomb complex ถูกกำหนดไปยังบริเวณจีโนมเป้าหมายที่จำเพาะได้อย่างไร แต่มีหลักฐานสนับสนุนทฤษฎีที่ว่า DNA methylation patterns เกี่ยวข้องกับการควบคุมการเข้าถึง PcG. หลักฐานเกี่ยวกับการกำหนดเป้าหมาย Polycomb ไปยัง CpG islands มาจากการศึกษาใน Dnmt3a/b^{-/-} mouse

embryonic stem cells model ซึ่งให้เห็นว่าบริเวณที่มีความหนาแน่นของ unmethylated CpG dinucleotides นั้นจะชักนำให้เกิด PcG recruitment¹⁸ การศึกษา DNA methylation change ในทั้งจีโนม (genome-wide DNA methylation changes) โดยการเปรียบเทียบหนู mice C57BL/6 ที่อายุต่างกันพบว่า Polycomb target genes และ tumor suppressor genes ต่างๆ จะถูก hypermethylated เพิ่มขึ้นไปตามอายุ มีกลไกพิเศษที่ทำให้ Polycomb complexes รู้จักบริเวณ unmethylated DNA ผ่านทางโปรตีน KDM2B ซึ่งจะชักนำเอา PRC1 และ PRC2 มา¹⁹

มีคำถามว่า บริเวณ unmethylated regions ไป bound กับ Polycomb complex แล้วเลยทำให้ถูก methylated ในลักษณะที่มีความชวามากเข้ามาเกี่ยวข้องได้อย่างไร มีทฤษฎีหนึ่งกล่าวถึงการเติมหมู่เมทิลที่ผิดปกติไปในระหว่างวัยชราเกี่ยวข้องกับการ recruitment ของ de novo DNA methyltransferases โดย Polycomb complex Marc J. and Gerd P. (2015)¹⁵ ได้เสนอทฤษฎีทางเลือกกว่าบริเวณซึ่งเป็นเป้าหมายของกลไก PcG นั้นเป็นบริเวณที่มีลักษณะเป็น unmethylated CpG-rich ซึ่งจะมีการเสื่อมถอยลงไปตามอายุขัยที่เพิ่มขึ้นแล้วจะยอมให้เกิด DNA methylation ที่ PcG target genes โดยจะเกิดเพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ เมื่อเวลาผ่านไป แนวคิดนี้กล่าวว่า ที่บริเวณ unmethylated DNA จะถูกป้องกันด้วย PRC1 และ PRC2 complexes และตัวป้องกันเหล่านี้จะเสื่อมลงอย่างต่อเนื่องตามอายุที่มากขึ้น จึงทำให้ DNA methyltransferases DNMT3A และ/หรือ DNMT3B สามารถเข้าถึงได้มากขึ้น จึงเป็นการช่วยส่งเสริมให้ de novo DNA methylation เกิดเพิ่มมากขึ้น (Figure 1) การแทนที่บริเวณที่ทำเครื่องหมายไว้ (Polycomb mark) ด้วย DNA methylation นี้ยังเกิดขึ้นในมะเร็งอีกด้วย จึงถูกเรียกว่า “Polycomb switching”²⁰

การเปลี่ยนแปลง DNA methylation ที่จำเพาะกับอายุ และโรคที่เกี่ยวข้องกับอายุ

แม้จะมีข้อเท็จจริงที่ปฏิเสธไม่ได้ว่ารูปแบบ DNA methylation จะเปลี่ยนแปลงเมื่อเวลาผ่านไป และมีจำนวนไม่มากนักที่มีบทบาทในโรคที่เกี่ยวข้องกับอายุเช่นมะเร็ง ซึ่งส่วนใหญ่สามารถพบ global DNA hypo-methylation ได้ ซึ่งเป็นปัจจัยในการลดความเสถียรของจีโนมลงและไปเพิ่มความผิดปกติของโครโมโซมขึ้น มีหลักฐานที่สามารถเชื่อถือได้ว่าน่าจะมีบางส่วนที่ไปกับ specific hypomethylation ในบริเวณซ้ำๆ (repetitive regions)

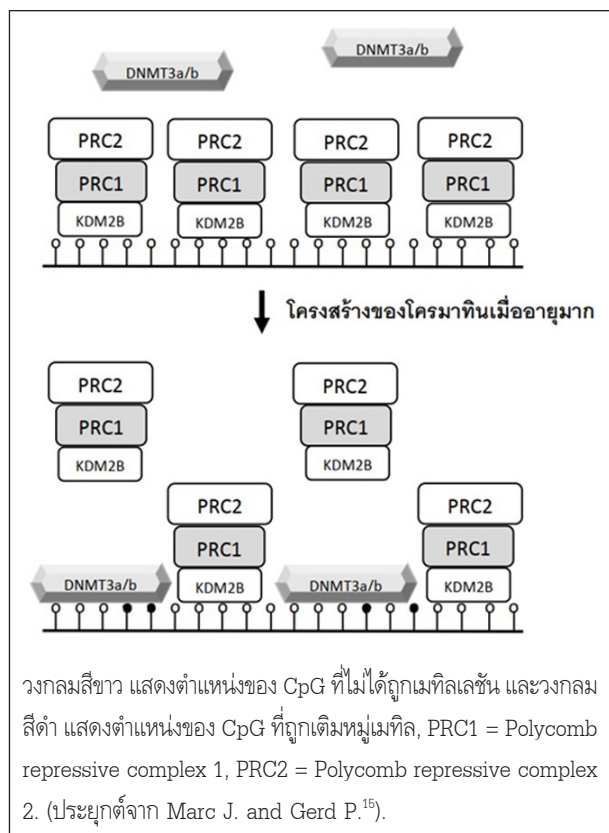


Figure 1 : De novo methylation by competition บริเวณดีเอ็นเอที่เป็น CpG อยู่มากและไม่ถูกเติมหมู่เมทิล เรียกว่า CpG islands บริเวณนี้จะถูกจับด้วย KDM2B จากนั้นจะดึงให้ PRC1 เข้ามาส่งผลให้ PRC2 เข้ามารวมตัวแล้วเกิดการ form เป็น H3K27me3 ขึ้น ตามทฤษฎีองค์ประกอบนี้จะเสื่อมลงตามอายุ ทำให้เอนไซม์ de novo methyltransferases DNMT3A และ DNMT3B สามารถเข้าถึง DNA ได้อย่างค่อยเป็นค่อยไปและนำไปสู่การเกิด DNA methylation ขึ้นในบางส่วนของโครมาตินในผู้สูงอายุ

แล้วส่งผลให้เกิดการกระตุ้นการทำงานขึ้นมาใหม่ (reactivation) ของ retrotransposons²² ไม่เพียงแต่ global DNA hypomethylation ที่เป็นกระบวนการสนับสนุนให้เซลล์เปลี่ยนไปเป็นเซลล์มะเร็งได้ (cell transformation) ในบางยีนจะมี site-specific hypermethylation ในบริเวณ promoter ที่จะพบได้ทั้งในวัยชราและในการเกิดเนื้องอก ส่งผลให้เพิ่มความเสี่ยงต่อการเป็นมะเร็งได้แก่ ยีน insulin-like growth factor-II (*IGFII*), hypermethylated in cancer 1 (*HIC1*), caspase-8 (*CASP8*), glutathione S-transferase pi (*GSTP1*), suppressor of cytokine signaling 1 (*SOCS1*), RAS association domain family 1A

(*RASSF1A*), p16/CDKN2A, adenomatous polyposis coli (*APC*) และ estrogen receptor1 (*ESR1*)¹⁵

นอกจากมะเร็ง ยังมีโรคที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบที่สัมพันธ์กับอายุอีกด้วย การอักเสบพบบ่อยว่าเกี่ยวข้องกับ DNA hypermethylation ในยีนที่จำเพาะ เช่นมีรายงานใน ulcerative colitis²² DNA hypermethylation ในเนื้อเยื่อที่มีการอักเสบ ยังมีเป้าหมายไปที่ยีนที่รู้จัก (recognized) โดย Polycomb complex²³ กระบวนการอักเสบจะเกิดขึ้นตามอายุ และคาดว่าจะการเปลี่ยนแปลง DNA methylation จะเร่งให้เนื้อเยื่อที่ได้รับผลกระทบเกิดการอักเสบเร็วขึ้น การหาความเชื่อมโยงระหว่าง DNA hypomethylation และ atherosclerosis โดยศึกษาในหนูที่มีภาวะไขมันในเลือดสูง atherosclerosis-prone *Apoe*^{-/-} mice²⁴ พบว่ามีรูปแบบ hypomethylation ในบริเวณ promoter ของยีนที่ถอดรหัสให้เอนไซม์ที่สำคัญในการเกิดโรคหลอดเลือด atherosclerosis นอกจากนี้ การลด methylation ลงในบริเวณ promoter ของยีน tumor necrosis factor alpha (*TNFα*) จะเป็นปัจจัยสำคัญในการเกิดภาวะอักเสบเรื้อรังในผู้สูงอายุอีกด้วย²⁵ อีกโรคหนึ่งที่เกี่ยวข้องกับอายุคือเบาหวานชนิดที่ 2 การเปลี่ยนแปลงรูปแบบ DNA methylation มีผลให้เกิดความผิดปกติในการหลั่งฮอร์โมนกลูคาγονและอินซูลินได้²⁶ และสุดท้ายคือโรคที่เกี่ยวกับความผิดปกติของระบบประสาทได้แก่โรคอัลไซเมอร์ (Alzheimer) พบมี amyloid ในสมองของผู้ป่วยซึ่งมีความสัมพันธ์กับอายุที่มากขึ้น เนื่องมาจากการลดระดับ DNA methylation หรือเกิด hypomethylation ในบริเวณ promoter ของยีน amyloid precursor protein (*APP*) ในสมองของผู้ป่วยโรคอัลไซเมอร์ รวมถึงการเปลี่ยนแปลงการ methylation ที่ขึ้นกับอายุของยีน presenilin1 (*PS1*) ยีนนี้จะถอดรหัสให้โปรตีนที่มีบทบาทสำคัญในการสร้าง amyloid จาก amyloid precursor protein (*APP*)²⁷ โดยสรุปการเปลี่ยนแปลง DNA methylation เป็นการเพิ่มปัจจัยที่เชื่อมโยงให้เรามีความเข้าใจมากขึ้นในโรคที่มีความสัมพันธ์กับอายุ

การเปลี่ยนแปลง DNA methylation ที่จำเพาะกับอายุ และเมตาบอลิซึม

โมเดลที่พยายามอธิบายถึงการลดการเกิด DNA methylation ในระหว่างช่วงชีวิต เกี่ยวข้องกับขบวนการเมตาบอลิซึมหรือการเปลี่ยนแปลงในการเผาผลาญพลังงานในร่างกาย กระบวนการเหล่านี้เกี่ยวข้องกับ DNA methylation และ demethylation

ในกระบวนการเผาผลาญหนึ่งคาร์บอน (one-carbon metabolic pathway) ซึ่งจำเป็นต่อการการสังเคราะห์เมธิโอนีน (methionine) และปฏิกิริยาการเติมหมู่เมทิลในเซลล์²⁸ หมู่เมทิลมีความจำเป็นต่อกระบวนการ DNA methylation โดยจะเคลื่อนย้ายมาจาก S-adenosylmethionine (SAM) ซึ่งเป็น donor สาภของหมู่เมทิลในสัตัวเลี้ยงลูกด้วยนมที่ได้จากเมธิโอนีน กลไกที่อธิบายการลดลงของ 5-methylcytosine ดูเหมือนจะทำงานผ่านกระบวนการ hypomethylation จำเพาะที่เกิดจากระดับที่เพิ่มขึ้นของ homocysteine และ S-adenosylhomocysteine (SAH) ซึ่งจะนำไปสู่การยับยั้งปฏิกิริยา methylation ของเซลล์²⁹ โดยทั่วไป one-carbon metabolic pathway สามารถลดลงได้จากการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมหรือการเปลี่ยนแปลงจากภายนอก โดยเฉพาะอย่างยิ่งจากนิสัยการกิน มีการสันนิษฐานว่าการบริโภคสารอาหารที่มีความเกี่ยวข้องกับเมตาบอลิซึมของหมู่เมทิล เช่น กรดโฟลิก หรือ วิตามิน B12 สามารถไปชะลอ hypomethylation ซึ่งสังเกตพบได้ในวัยชรา³⁰ อย่างไรก็ตามความสัมพันธ์ระหว่างโฟเลต และระดับของ DNA methylation นั้นน่าจะมีกลไกที่ซับซ้อนและอาจมีผลอื่นๆ ประกอบด้วย

ไม่เพียงแต่กระบวนการ one-carbon metabolism จะเกี่ยวข้องกับ global hypomethylation แต่ global hypomethylation ยังเกิดได้ด้วยกลไก peroxisome proliferator-induced mechanism อีกด้วย จากการเลี้ยงเซลล์พบว่า การเปลี่ยนแปลง DNA methylation เกี่ยวข้องกับระดับการแสดงออกของ Sirt1 ซึ่งอาจมีบทบาทสำคัญในการจำกัดการบริโภคอาหารที่เชื่อกันว่าจะช่วยยืดอายุขัยได้³¹ เอนไซม์ที่เคลื่อนย้ายหมู่เมทิลจาก SAM ไปยัง DNA ได้เป็น 5-เมทิลไซโทซีน (5-methylcytosine) เป็นเอนไซม์ในกลุ่ม DNA methyltransferases (DNMTs) ซึ่งประกอบด้วย DNMT1, DNMT3A, DNMT3B และ DNMT3L DNMT1 มีบทบาทสำคัญในกลไกการรักษาแบบของ genomic methylation patterns และดูเหมือน activity ของ DNMT1 จะลดลงอย่างมากในช่วงวัยชรา³² จึงเป็นโมเดลที่มีความเป็นไปได้ในการอธิบายการลดลงของ global DNA methylation ที่พบได้ในช่วงวัยชรา เนื่องจากมีหลักฐานว่าการแสดงออกของ Dnmt1 และ Dnmt3a ได้รับอิทธิพลมาจาก growth hormone เมื่ออายุเพิ่มขึ้น growth hormone จะลดลงไป จึงส่งผลให้เกิดการลดลงของ DNMT1 ในวัยชรา

อีกหนึ่งกลไกที่เกี่ยวข้องกับ DNA demethylation ในช่วงวัยชรา คือ การเร่งปฏิกิริยา DNA demethylation ด้วยเอนไซม์ที่ชื่อ

ว่า 5mC dioxygenases Ten-eleven translocation 1, 2, and 3 (TET1/2/3)³³ แต่ในขณะที่การทำงานของโปรตีน TET ได้รับการเชื่อมโยงกับการ reprogramming ในช่วงแรกของพัฒนาการ และกับโรคเมเร็ง แต่สำหรับในกลไกของความชวยังคงไม่เป็นที่เข้าใจอยู่³⁴ โดยสรุปกระบวนการ การเมตาบอลิซึมกับความสมดุลระหว่าง SAM, SAH และเอนไซม์ DNMT และโปรตีน TET อาจมีผลกระทบในระยะยาวกับความชว แต่เพื่อความชัดเจนจึงควรศึกษาเพิ่มเติมต่อไป

สรุป

ปัจจุบัน DNA methylation กลายเป็นสัญลักษณ์ของความชวไปแล้ว แม้จะไม่มีหลักฐานยืนยันแน่ชัดว่าการเปลี่ยนแปลงรูปแบบของ DNA methylation ที่จำเพาะสามารถยืดอายุของสิ่งมีชีวิตได้อย่างไรก็ตามพบว่ามีการศึกษาที่สนับสนุนรูปแบบ methylation สัมพันธ์กับอายุ นอกจากนี้รูปแบบ methylation ไม่เพียงขึ้นอยู่ กับอายุเท่านั้นแต่ยังใช้ประโยชน์ในการคาดการณ์อายุได้เป็นอย่างดีได้แก่ epigenetic clock

การศึกษาวิเคราะห์กลไกต่าง ๆ ในระดับโมเลกุล มีเป้าหมายเพื่อให้เกิดความเข้าใจในลำดับขั้นตอนของกระบวนการการเปลี่ยนแปลงในเมทิลโลม (methylomic change) ที่สัมพันธ์กับความชวนั้น เป็นไปเพื่อการพัฒนาองค์ความรู้ในการที่จะต่อยอดการทดลองในการต่อสู้กับความชว เพื่อหาวิธีการชะลอวัย (anti-aging) ต่อไปในอนาคต เช่นความพยายามในการหาสารที่มีความจำเพาะต่อการยับยั้ง epigenetic enzyme³⁵

DNA methylation ที่มีความจำเพาะกับอายุแบ่งออกเป็น global hypomethylation และ local hypermethylation สำหรับเหตุการณ์ global hypomethylation (คือการลดการเติมหมู่เมทิลลงโดยทั่วไปในจีโนม) จะอยู่บริเวณลำดับเบสซ้ำๆ และคาดว่าจะรับผิดชอบต่อการ reactivation ของ Retrotransposon element ในช่วงวัยชรา ซึ่งเป็นกลไกที่นำไปสู่การเกิดโรคเมเร็งได้ ลักษณะของการเปลี่ยนแปลง local hypermethylation มีความซับซ้อนแต่พบว่ามีส่วนเกิดขึ้นร่วมกับ tumor suppressor gene โดยมีการทำงานที่อาจเชื่อมโยงกับการเปลี่ยนแปลงเซลล์ไปเป็นเซลล์เมเร็ง ซึ่งอาจเป็นจุดที่ hypermethylation มีความเกี่ยวข้องกับอายุที่มากขึ้น และชุดของ Polycomb target genes ซึ่งสามารถพบได้ในโรคเมเร็ง

แม้ว่าจะพบรูปแบบการ methylation ที่จำเพาะกับอายุบางรูปแบบแล้ว แต่อัตราการเปลี่ยนแปลง DNA methylation ที่จำเพาะกับอายุ ดูเหมือนจะไม่ตายตัวและไม่ขึ้นอยู่กับสภาวะต่างๆ เช่น การอักเสบของเนื้อเยื่อ การสัมผัสกับสิ่งแวดล้อม และรูปแบบการใช้ชีวิต โดยเฉพาะการรับประทานสารอาหารที่จำเป็น เช่น methionine, choline, folic acid vitamin B12 ซึ่งเกี่ยวข้องกับเมตาบอลิซึมของหมู่เมทิลเป็นปัจจัยสำคัญในการชะลอการเสื่อมของรูปแบบดีเอ็นเอเมทิลเลชัน ดังนั้นการดูแล one-carbon metabolism อย่างเหมาะสมจึงอาจมีความสำคัญต่อการมีสุขภาพที่ดีและการชะลอการเกิดโรคที่สัมพันธ์ในผู้สูงอายุ

เอกสารอ้างอิง

- Holliday R, Pugh JE. DNA modification mechanisms and gene activity during development. *Science*. 1975;187:226-32.
- Riggs AD, Pfeifer GP. X-chromosome inactivation and cell memory. *Trends Genet*. 1992;8:169-74.
- Ehrlich M, Gama-Sosa MA, Huang L-H, Midgett RM, Kuo KC, McCune RA, et al. Amount and distribution of 5-methylcytosine in human DNA from different types of tissues or cells. *Nucleic Acids Res*. 1982;10:2709-21.
- Deaton AM, Bird A. CpG islands and the regulation of transcription. *Genes Dev*. 2011;25:1010-22.
- Berdishev MT, Korotaev GK, Boiarskikh GV, Vanyushin BF. Nucleotide composition of DNA and RNA from somatic tissues of humpback salmon and its changes during spawning. *Biokhimiia*. 1967;38:988-93.
- Romanov GA, Vanyushin BF. Methylation of reiterated sequences in mammalian DNAs. Effects of the tissue type, age, malignancy and hormonal induction. *Biochim Biophys Acta*. 1981;653:204-18.
- Wilson VL, Smith RA, Ma S, Cutler RG. Genomic 5-methyldeoxycytidine decreases with age. *J Biol Chem*. 1987;262:9948-51.
- Wilson VL, Jones PA. DNA methylation decreases in aging but not in immortal cells. *Science*. 1983;220:1055-7.
- Fairweather DS, Fox M, Margison GP. The in vitro lifespan of MRC-5 cells is shortened by 5-azacytidine-induced demethylation. *Exp Cell Res*. 1987;168:153-9.
- Heyn H, Li N, Ferreira HJ, Moran S, Pisano DG, Gomez A, et al. Distinct DNA methylomes of newborns and centenarians. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2012;109:10522-7.
- Florath I, Butterbach K, Müller H, Bewerunge-Hudler M, Brenner H. Cross-sectional and longitudinal changes in DNA methylation with age: an epigenome-wide analysis revealing over 60 novel age-associated CpG sites. *Hum Mol Genet*. 2014;23:1186-201.
- Horvath S. DNA methylation age of human tissues and cell types. *Genome Biol*. 2013;14:R115.
- Steegenga WT, Boekschoten MV, Lute C, Hooiveld GJ, de Groot PJ, Morris TJ, et al. Genome-wide age-related changes in DNA methylation and gene expression in human PBMCs. *Age (Dordr)*. 2014;36:9648.
- De Mello VDF, Pulkkinen L, Lalli M, Kolehmainen M, Pihlajamäki J, Uusitupa M. DNA methylation in obesity and type 2 diabetes. *Ann Med*. 2014;46:103-13.
- Marc J, Gerd P. Aging and DNA methylation. *BMC Biology*. 2015;13:7.
- Lee TI, Jenner RG, Boyer LA, Guenther MG, Levine SS, Kumar RM, et al. Control of developmental regulators by Polycomb in human embryonic stem cells. *Cell*. 2006;125:301-13.
- Eskeland R, Leeb M, Grimes GR, Kress C, Boyle S, Sproul D, et al. Ring1B compacts chromatin structure and represses gene expression independent of histone ubiquitination. *Mol Cell*. 2010;38:452-64.
- Lynch MD, Smith AJH, De Gobbi M, Flenley M, Hughes JR, Vernimmen D, et al. An interspecies analysis reveals a key role for unmethylated CpG dinucleotides in vertebrate Polycomb complex recruitment. *EMBO J*. 2012;31:317-29.
- Maegawa S, Hinkal G, Kim HS, Shen L, Zhang L, Zhang J, et al. Widespread and tissue specific age-related DNA methylation changes in mice. *Genome Res*. 2010;20:332-40.
- Gal-Yam EN, Egger G, Iniguez L, Holster H, Einarsson S, Zhang X, et al. Frequent switching of Polycomb repressive marks and DNA hypermethylation in the PC3 prostate cancer cell line. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105:12979-84.
- Howard G, Eiges R, Gaudet F, Jaenisch R, Eden A. Activation and transposition of endogenous retroviral elements in hypomethylation induced tumors in mice. *Oncogene*. 2008;27:404-8.
- Issa JP, Ahuja N, Toyota M, Bronner MP, Brentnall TA. Accelerated age-related CpG island methylation in ulcerative colitis. *Cancer Res*. 2001;61:3573-7.
- Hahn MA, Hahn T, Lee D-H, Esworthy RS, Kim B-W, Riggs AD, et al. Methylation of polycomb target genes in intestinal cancer is mediated by inflammation. *Cancer Res*. 2008;68:10280-9.
- Lund G, Andersson L, Lauria M, Lindholm M, Fraga MF, Villar-Garea A, et al. DNA methylation polymorphisms precede any histological sign of atherosclerosis in mice lacking apolipoprotein E. *J Biol Chem*. 2004;279:29147-54.
- Gowers IR, Walters K, Kiss-Toth E, Read RC, Duff GW, Wilson AG. Age-related loss of CpG methylation in the tumour necrosis factor promoter. *Cytokine*. 2011;56:792-7.

26. Dayeh T, Volkov P, Salö S, Hall E, Nilsson E, Olsson AH, et al. Genome-wide DNA methylation analysis of human pancreatic islets from type 2 diabetic and non-diabetic donors identifies candidate genes that influence insulin secretion. *PLoS Genet.* 2014;10:e1004160.
27. Fuso A, Seminara L, Cavallaro RA, D'Anselmi F, Scarpa S. S-adenosylmethionine/ homocysteine cycle alterations modify DNA methylation status with consequent deregulation of PS1 and BACE and beta-amyloid production. *Mol Cell Neurosci.* 2005;28:195-204.
28. Ulrey CL, Liu L, Andrews LG, Tollefsbol TO. The impact of metabolism on DNA methylation. *Hum Mol Genet.* 2005;14 Spec No 1:R139-47.
29. James SJ, Melnyk S, Pogribna M, Pogribny IP, Caudill MA. Elevation in S-adenosylhomocysteine and DNA hypomethylation: potential epigenetic mechanism for homocysteine-related pathology. *J Nutr.* 2002;132:2361S-6S.
30. Kuo H-K, Sorond FA, Chen J-H, Hashmi A, Milberg WP, Lipsitz LA. The role of homocysteine in multisystem age-related problems: a systematic review. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2005;60:1190-201.
31. Ions LJ, Wakeling LA, Bosomworth HJ, Hardyman JEJ, Escolme SM, Swan DC, et al. Effects of Sirt1 on DNA methylation and expression of genes affected by dietary restriction. *Age (Dordr).* 2013;35:1835-49.
32. Casillas Jr MA, Lopatina N, Andrews LG, Tollefsbol TO. Transcriptional control of the DNA methyltransferases is altered in aging and neoplastically-transformed human fibroblasts. *Mol Cell Biochem.* 2003;252:33-43.
33. Tahiliani M, Koh KP, Shen Y, Pastor WA, Bandukwala H, Brudno Y, et al. Conversion of 5-methylcytosine to 5-hydroxymethylcytosine in mammalian DNA by MLL partner TET1. *Science.* 2009;324:930-5.
34. Tan L, Shi YG. Tet family proteins and 5-hydroxymethylcytosine in development and disease. *Development.* 2012;139:1895-902.
35. Fabio Ciccarone, Stefano Tagliatesta, Paola Caiafa, Michele Zampieri. Mechanisms of Ageing and Development. *Mechanisms of Ageing and Development.* 2018;174:3-17.

