บทความปริทัศน์
(Review article)

อาการทางคลินิกและความสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงในระดับโมเลกุลของโรค Tuberous Sclerosis: มุมมองผสมผสานของแพทย์และนักวิทยาศาสตร์

สุธิดา ชัยธีระยานนท์*
วรสิทธิ์ ศิริพรพาณิชย์, สุจิรา มุกดา, นัยพินิจ คชภักดี**
* *ภาควิชากุมารเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ*
** *ศูนย์วิจัยประสาทวิทยาศาสตร์ สถาบันชีววิทยาศาสตร์โมเลกุล มหาวิทยาลัยมหิดล*

บทคัดย่อ

โรค tuberous sclerosis เป็นโรคทางพันธุกรรมที่ผู้ป่วยจะมีความผิดปกติของผิวหนังและระบบประสาทเป็นอาการหลัก จัดอยู่ในกลุ่มโรค neurocutaneous syndrome สาเหตุของโรคเกิดจากมิวเทชั่น (mutation) ของยีน *TSC1* หรือ *TSC2* บนโครโมโซม 9 และ 16 ตามลำดับ ผลผลิตของทั้งสองยีน คือ โปรตีน hamartin และ tuberin จะจับตัวกันเป็น heterodimer แล้วไปมีผลยับยั้งการทำงานของโมเลกุลที่อยู่ถัดไป โดยเฉพาะ mTOR (mammalian target of rapamycin) ซึ่งมีบทบาทสำคัญในกระบวนการเติบโตและพัฒนาของเซลล์ ความผิดปกติของยีนในโรคนี้ ส่งผลให้เกิดอาการแสดงในหลายระบบของร่างกายจากการที่ mTOR เสียการควบคุม ขณะนี้นักวิทยาศาสตร์ได้สร้างสัตว์ทดลองในหลายรูปแบบเพื่อศึกษาผลของการยับยั้งการแสดงออกของยีนซึ่งเป็นสาเหตุของโรคนี้ ทั้งในระดับพฤติกรรม โครงสร้าง และโมเลกุล รวมถึงศึกษาสารที่จะไปยับยั้งการทำงานที่มากเกินไปของ mTOR ในระดับสัตว์ทดลองและมีการนำมาใช้ในมนุษย์บ้างแล้ว ความก้าวหน้าในงานวิจัยเกี่ยวกับโรค tuberous sclerosis จะนำไปสู่ความเข้าใจอย่างลึกซึ้งถึงความสัมพันธ์ระหว่างการเปลี่ยนแปลงในระดับยีนและโมเลกุลกับอาการแสดงของโรคและพฤติกรรม รวมถึงการพัฒนาแนวทางรักษารูปแบบใหม่ๆ ในโรคนี้

คำสำคัญ: ทูเบอรัส สเคลอโรซิส, ยีน mTOR, โรคทางพันธุกรรม

Clinical features and their relations to molecular alteration in Tuberous sclerosis: integrated viewpoints from physicians and scientists

*Suthida Chaithirayanon**
*Vorasith Siripornpanich, Sujira Mukda, Naiphinich Kotchabhakdi***
** Department of Pediatrics, Faculty of Medicine, Srinakharinwirot University*
*** Research Center for Neuroscience, Institute of Molecular Biosciences, Mahidol University*

Abstract

Tuberous sclerosis is a genetic disorder characterized by abnormal of cutaneous and neurological features. This disease is resulted from the mutation of *TSC1* (tuberous sclerosis complex 1) gene on chromosome 9 or *TSC2* gene on chromosome 16, encoding for hamartin and tuberin respectively. Both molecules form a heterodimer and inhibit the intracellular downstream cascade, particularly mTOR (mammalian target of rapamycin) pathway, which has an important role in proliferation and differentiation of cell. Mutation of *TSC1* or *TSC2* leads to dysregulation of mTOR function and causes abnormal signs and symptoms in this disease. Currently, scientists have developed various types of animal models of tuberous sclerosis in order to study the effects of *TSC1* or *TSC2* genes suppression in behavioral, structural, and molecular levels. In addition, the administration of substance inhibiting mTOR function is successfully done in animal model and causes improvement of neurological symptoms. However, the application of this agent in treatment of tuberous sclerosis-related tumors in human is still under clinical trial. Finally, the advancement in tuberous sclerosis research leads to the better understanding about the relationship between genetic & molecular changes and clinical signs & behaviors, as well as development of new therapeutic approach in this disease.

Keywords: Tuberous Sclerosis, mTOR, Genetic disease

โรค tuberous sclerosis เป็นโรคในกลุ่ม neuro-cutaneous syndrome ที่พบได้บ่อยโรคหนึ่ง และจัดอยู่ในกลุ่มโรคทางพันธุกรรมที่ถ่ายทอดผ่านทางยีนเด่นบนโครโมโซมปกติ (autosomal dominant inheritance) อย่างไรก็ดี ผู้ป่วยส่วนใหญ่ที่เป็นโรคนี้มักจะเกิดจากมิวเทชั่น (mutation) ของยีนที่เกิดขึ้นในตัวผู้ป่วยเองมากกว่าได้รับถ่ายทอดมา ความชุกของโรคที่มีรายงานไว้ในต่างประเทศจะอยู่ระหว่าง 1 ใน 5,800 ถึง 25,000 ราย[1,2] โดยจะพบความผิดปกติที่ผิวหนังและระบบประสาทเป็นอาการหลัก ผลกระทบของโรคนี้ต่อตัวผู้ป่วย คือ จะเพิ่มความเสี่ยงต่อการเป็นโรคลมชักที่ควบคุมได้ยาก ภาวะสติปัญญาบกพร่อง และการเกิดเนื้องอกของอวัยวะต่างๆ ในร่างกาย ในขณะที่การรักษายังเป็นเพียงการรักษาตามอาการเท่านั้น ปัจจุบันมีรายงานการเปลี่ยนแปลงการทำงานของโมเลกุลบางตัวที่มีความสัมพันธ์กับความผิดปกติของยีนที่พบในโรคนี้ ทำให้แพทย์และนักวิทยาศาสตร์มีความเข้าใจพยาธิกำเนิด (pathogenesis) ของโรคมากขึ้น เป็นความหวังในการหาวิธีการใหม่ๆ ในการรักษา เพื่อเพิ่มคุณภาพชีวิตของผู้ป่วยให้ดียิ่งขึ้นต่อไป

อาการแสดงทางระบบประสาทในโรค tuberous sclerosis

อาการทางระบบประสาทเป็นอาการที่พบได้บ่อยในผู้ป่วยโรค tuberous sclerosis โดยอาการชัก (seizure) เป็นอาการที่พบได้บ่อยถึงร้อยละ 98 และมักจะเป็นอาการแรกที่ทำให้ผู้ป่วยต้องมาพบแพทย์3,4 พบว่าร้อยละ 75 ของผู้ป่วยจะมีอาการชักตั้งแต่ช่วงขวบปีแรกของชีวิต3 และรูปแบบการชักที่พบบ่อยในช่วงนี้ คือ infantile spasms5 และเมื่อโตขึ้นสามารถพบอาการชักในรูปแบบอื่นๆ ตามมาได้เกือบทุกชนิด โดยเฉพาะอาการชักเฉพาะที่ (partial seizure) จะเป็นรูปแบบการชักที่พบได้บ่อยที่สุด ส่วนของการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยากันชักนั้นพบว่าแตกต่างกันออกไปในแต่ละบุคคล แต่มีแนวโน้มที่จะพบโรคลมชักที่ดื้อต่อการรักษาด้วยยา (intractable epilepsy) สูง ซึ่งในกลุ่มนี้ต้องได้รับการรักษาด้วยยากันชักหลายชนิดร่วมกันหรือต้องเข้ารับการผ่าตัดรักษาโรคลมชัก ยกเว้นอาการชักชนิด infantile spasms ในผู้ป่วยโรคนี้เท่านั้นที่จะตอบสนองเป็นอย่างดีต่อยากันชัก vigabatrin เมื่อเปรียบเทียบกับประชากรทั่วไป6

นอกเหนือจากอาการชัก ยังพบความบกพร่องทางสติปัญญาในผู้ป่วยโรค tuberous sclerosis ได้สูงถึงร้อยละ 48-65[4,7,8] โดยปัจจัยที่มีผลในเชิงลบต่อความสามารถทางสติปัญญา ได้แก่ จำนวนที่เกิดขึ้นของ cortical tuber ซึ่งเป็นความผิดปกติของเนื้อสมองที่พบในโรคนี้ โดยเฉพาะการพบ tuber ในสมองทั้งสองซีกและรายที่อาการชักเกิดขึ้นตั้งแต่อายุน้อย[9] รวมถึงผู้ป่วยที่มีอาการชักชนิด infantile spasms ด้วย[5] ในส่วนของปัญหาด้านพฤติกรรมก็พบได้ไม่น้อยเช่นกัน โดยเฉพาะกลุ่มอาการออทิสซึม (autism) ที่พบร่วมกันได้ประมาณร้อยละ 16-50[10,11] สำหรับโรคซนสมาธิสั้น (attention deficit hyperactivity disorder) จะพบได้บ่อยถึงประมาณร้อยละ 28-55 ของผู้ป่วย[12-14] นอกจากนี้ยังพบอาการของภาวะความผิดปกติทางอารมณ์ กลุ่มโรคความกังวลผิดปกติ และปัญหาพฤติกรรมก้าวร้าว ได้ประมาณร้อยละ 27-28 ด้วย[14]

ความผิดปกติของเนื้อสมองที่พบได้บ่อยในผู้ป่วยโรคนี้ ประกอบด้วย cortical tuber, subependymal nodule และเนื้องอกของเซลล์ astrocyte ชนิด subependymal giant cell astrocytoma (SEGA) โดย tuber จะเป็นความผิดปกติที่พบได้บ่อยที่สุดประมาณร้อยละ 90[4] มีขนาดตั้งแต่ไม่กี่มิลลิเมตรจนถึงเซนติเมตรและมักพบที่สมองส่วนซีรีบรัม (cerebrum) เป็นหลัก ความผิดปกติทางจุลพยาธิวิทยาของ tuber ประกอบด้วยเซลล์ประสาทที่มีรูปร่างและการจัดเรียงตัวอย่างผิดปกติ และมีเซลล์เกลีย (glial cell) ขนาดใหญ่ที่เรียกว่า dysmorphic giant astrocyte ร่วมอยู่ด้วยในปริมาณมาก[15] มีรายงานการวิจัยที่แสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ระหว่างตำแหน่งของ tuber กับจุดกำเนิดของคลื่นชัก (epileptogenic zone) โดยพบว่าบริเวณเนื้อสมองรอบๆ tuber จะเป็นตัวปล่อยคลื่นชัก ในขณะที่ตัว tuber เองจะไม่พบลักษณะความผิดปกติทางไฟฟ้าดังกล่าว[16] รวมถึงมีรายงานว่าเซลล์ประสาทในเนื้อสมองส่วนที่อยู่ใกล้กับ tuber จะมีความยาวของแขนงของ dendrite น้อยกว่า[15] แสดงให้เห็นว่าตัว tuber คงจะไปมีผลต่อการทำงานหรืออย่างน้อยการพัฒนาของเนื้อสมองใกล้เคียง จนทำให้เซลล์ประสาทในบริเวณดังกล่าวกลายเป็นตำแหน่งที่ปล่อยคลื่นชักออกมา และความผิดปกติในส่วนของ dendrite ที่กล่าวไว้ข้างต้นอาจจะสัมพันธ์กับความบกพร่องทางสติปัญญาที่พบในโรคนี้ด้วย

ในส่วนของ subependymal nodule เป็นความผิดปกติของเนื้อสมองที่พบได้รองจาก cortical tuber ประมาณร้อยละ 70[4] มักพบบริเวณตำแหน่งที่ใกล้กับโพรงสมอง (ventricle) โดยจะเห็นจากภาพรังสีของสมองเป็นลักษณะคล้ายหยดเทียนไข (candle-dripping appearance) และส่วนใหญ่จะไม่ก่อให้เกิดอาการทางระบบประสาท ต่างจากเนื้องอกสมองชนิด SEGA ซึ่งพบได้น้อยกว่ามาก แต่ SEGA มักมีขนาดใหญ่จนไปอุดกั้นทางเดินน้ำไขสันหลัง (cerebrospinal fluid pathway) ในสมอง โดยเฉพาะถ้าเกิดขึ้นที่ตำแหน่ง

foramen of Monro ซึ่งเป็นทางเชื่อมระหว่าง lateral ventricle กับ third ventricle จะทำให้ผู้ป่วยมีอาการของภาวะน้ำไขสันหลังคั่งในสมอง (hydrocephalus) ได้ นอกเหนือจากความผิดปกติเหล่านี้ยังมีรายงานความผิดปกติในส่วนของเนื้อขาว (white matter) ของสมองซึ่งเป็นที่อยู่ของเส้นใยประสาท รวมถึงพบความผิดปกติที่เกี่ยวข้องกับการพัฒนาของสมองส่วนซีรีบรัมและซีรีเบลลัม (cerebellum) ได้อีกหลายชนิดด้วย[17]

■ อาการแสดงทางผิวหนังในโรค tuberous sclerosis

อาการแสดงทางผิวหนังเป็นอาการแสดงหลักอาการหนึ่งในโรค tuberous sclerosis พบได้สูงถึงร้อยละ 96[18] โดยอาการที่พบได้บ่อยและมักจะพบเป็นอาการแรก คือ ผื่นสีจาง (hypomelanotic macule) ที่เรียกว่า ash leaf spot ซึ่งพบได้สูงถึงร้อยละ 65-97 ของผู้ป่วยวัยเด็ก[3,4,8,18,19] อาจจะเห็นได้ตั้งแต่แรกเกิดและจะค่อยๆ หายไปเมื่อเข้าสู่วัยผู้ใหญ่ โดยทั่วไปมักจะพบผื่นชนิดนี้มากกว่า 3 ตำแหน่งขึ้นไปและมักจะมีขนาดใหญ่กว่า 1 เซนติเมตร ในบางรายที่ลักษณะผื่นไม่ชัดเจนอาจจะต้องอาศัยการตรวจด้วย wood's lamp เพื่อให้เห็นผื่นชัดเจนมากขึ้น นอกจากนี้ยังมีผื่นสีจางอีกชนิดที่มีขนาดเล็กมากประมาณ 1-2 มิลลิเมตร และพบอยู่ร่วมกันเป็นกลุ่มตามแขนและขาส่วนปลาย เรียกว่า confetti macule หรือ confetti-like spot มักพบในช่วงวัยเด็กแต่เจอไม่บ่อยนัก[3,18] และอาจพบผื่นสีเข้มที่เรียกว่า café au lait spot ได้ประมาณร้อยละ 10-28 ของผู้ป่วย[3,19] แต่จำนวนผื่นจะไม่มาก รวมถึงมีขนาดที่ไม่ใหญ่เหมือนกับที่พบในโรค neurofibromatosis type1

ลักษณะทางผิวหนังที่พบได้บ่อยมากในโรคนี้อีกประการ คือ ตุ่มนูนสีแดงขนาดประมาณ 1-3 มิลลิเมตรที่พบบริเวณใบหน้า กระจายอย่างสมมาตรในบริเวณด้านข้างของจมูกและแก้ม เรียกว่า facial angiofibroma หรือที่เดิมรู้จักกันในชื่อ adenoma sebaceum ซึ่งเป็นคำที่ไม่ถูกต้องเมื่อพิจารณาถึงลักษณะทางพยาธิวิทยาของผื่น ความผิดปกติทางผิวหนังชนิดนี้พบได้สูงถึงร้อยละ 75-82[3,19] มักจะเริ่มเห็นในผู้ป่วยอายุ 2-5 ปีและเพิ่มจำนวนมากขึ้นเรื่อยๆ จนถึงวัยผู้ใหญ่ นอกจากนี้ ยังอาจจะพบผื่นนูนขนาดใหญ่บริเวณหน้าผากที่เรียกว่า fibrous facial plaque หรือ forehead plaque ได้ร้อยละ 12-34[3,4,19] สำหรับความผิดปกติทางผิวหนังอื่นๆ ที่อาจจะพบในผู้ป่วยโรคนี้ ได้แก่ ผื่นนูนผิวขรุขระคล้ายเปลือกส้มที่เรียกว่า shagreen patch มักพบบริเวณหลังส่วนสะโพกและก้นกบ สามารถเห็นได้ตั้งแต่วัยเด็ก แต่พบบ่อยกว่าในเด็กโตประมาณร้อยละ 26-50 ของเด็กที่มีอายุมากกว่า 5 ปีขึ้นไป[3,4] รวมถึงเนื้องอกชนิด fibroma บริเวณเล็บ (periungual fibroma)[18,20] และช่องปาก (oral fibroma)[18,21] ซึ่งเป็นความผิดปกติที่จะพบเฉพาะในเด็กโตหรือผู้ใหญ่เท่านั้น นอกจากนี้ยังอาจจะพบความผิดปกติของฟันที่เรียกว่า dental pitting ได้อีกด้วย[21]

■ อาการแสดงในระบบอื่นๆ

ผู้ป่วยโรค tuberous sclerosis อาจจะพบอาการและอาการแสดงที่เกิดจากอวัยวะหรือระบบอื่นๆ ในร่างกายเสียการทำงานไปได้ ซึ่งมักจะเกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตที่ผิดปกติของเซลล์ในอวัยวะนั้นๆ จนเกิดเป็นเนื้องอกขึ้นมา เช่น เนื้องอก rhabdomyoma ในกล้ามเนื้อหัวใจ เนื้องอก hamartoma ของชั้นเรตินา (retina) ในตา เนื้องอก lymphangiomyomatosis ในปอด รวมถึงความผิดปกติของไต เช่น renal cyst, polycystic kidney disease (PKD), หรือเนื้องอกชนิด angiomyolipoma[4,17]

■ การวินิจฉัยโรค tuberous sclerosis

การวินิจฉัยโรค tuberous sclerosis อาศัยอาการแสดงทางคลินิกเป็นหลัก โดยเฉพาะในรายที่มีอาการแสดงทางระบบประสาท เช่น ชักและปัญญาอ่อน ร่วมกับอาการแสดงทางผิวหนัง เช่น facial angiofibroma โดยเกณฑ์การวินิจฉัยโรคนี้ แบ่งอาการและอาการแสดงที่พบออกเป็น major และ minor features (ตารางที่ 1) และจะให้การวินิจฉัยว่าเป็น tuberous sclerosis อย่างแน่นอน (definite tuberous sclerosis complex; TSC) เมื่อผู้ป่วยมีอย่างน้อย 2 major features หรือ 1 major feature ร่วมกับ 2 minor features ในกรณีที่มีเพียง 1 major feature ร่วมกับ 1 minor feature จะให้การวินิจฉัยเป็น probable TSC สำหรับในกรณีที่มีเพียง 1 major feature อย่างเดียวหรือมีแค่ minor feature อย่างน้อยสองข้อขึ้นไป จะให้การวินิจฉัยเป็น possible หรือ suspect TSC[22]

ในปัจจุบันได้มีการพัฒนาเทคนิคการวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการ โดยเฉพาะการตรวจทางพันธุกรรม เพื่อยืนยันการวินิจฉัยโรคนี้ในรายที่อาการแสดงยังไม่ชัดเจน หรือในรายที่มีประวัติครอบครัวเป็นโรคนี้แต่ตัวผู้ป่วยเองยังไม่มีอาการใดๆ ในบางรายอาจจะตรวจพบโรคนี้ตั้งแต่อยู่ในครรภ์ ซึ่งมักจะวินิจฉัยได้จากการตรวจอัลตราซาวนด์ (ultrasound) พบความผิดปกติของอวัยวะภายใน เช่น เนื้องอกของโรคหัวใจชนิด cardiac rhabdomyoma หรือความผิดปกติอื่นๆ ที่พบได้บ่อยในโรคนี้ แล้วยืนยันด้วยผลการตรวจทางพันธุกรรมอีกที

ตารางที่ 1 เกณฑ์การวินิจฉัยโรค tuberous sclerosis

Major features	Minor features
Facial angiofibromas or forehead plaque	Multiple randomly distributed pits in dental enamel
Nontraumatic ungual or periungual fibroma	Hamartomatous rectal polyps***
Hypomelanotic macules (more than three)	Bone cyst****
Shagreen patch (connective tissue nevus)	Cerebral white matter "migration tracts"*,****
Cortical tuber*	Gingival fibromas
Subependymal nodule	Nonrenal hamartoma***
Subependymal giant cell astrocytoma	Retinal achromic patch
Multiple retinal nodular hamartomas	"Confetti" skin lesions
Cardiac rhabdomyoma, single or multiple	Multiple renal cysts***
Lymphangiomyomatosis**	
Renal angiomyolipoma**	

* When cerebral cortical dysplasia and cerebral white matter migration tracts occur together, they should be counted as one rather than two features of tuberous sclerosis.

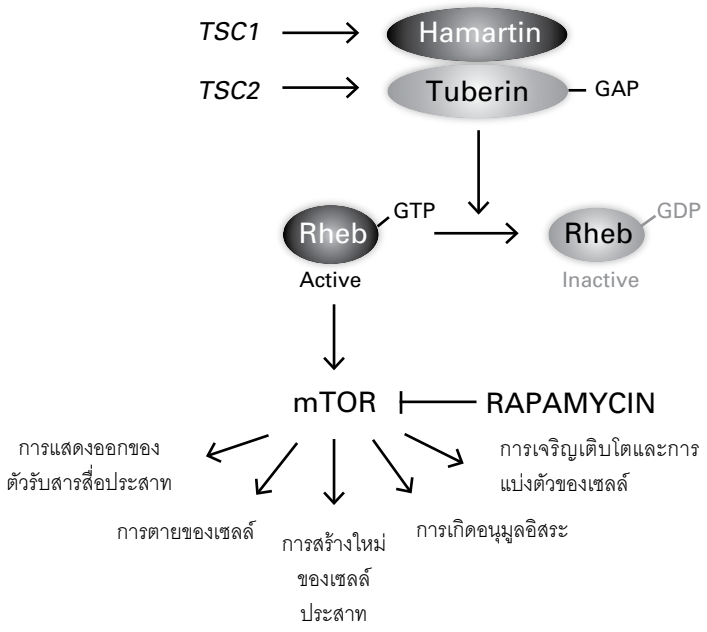
** When both lymphangiomyomatosis and renal angiomyolipomas are present, other features of tuberous sclerosis should be present before a definite diagnosis is assigned.

*** Histologic confirmation is suggested.

**** Radiographic confirmation is sufficient.

ความสัมพันธ์ของอาการและอาการแสดงทางคลินิกกับกลไกในระดับโมเลกุล

ในปัจจุบัน ความเข้าใจในพยาธิกำเนิดของอาการและอาการแสดงที่เกิดจากโรคทางระบบประสาทนั้นยังไม่เป็นที่ทราบกันอย่างชัดเจน อย่างไรก็ดี บ่อยครั้งพบว่าอาการทางระบบประสาทที่หลากหลายนั้นเกิดขึ้นร่วมกันในผู้ป่วย ซึ่งแสดงให้เห็นว่า กลไกระดับเซลล์และโมเลกุลของอาการทางสมองเหล่านี้อาจจะเป็นกลไกเดียวกันหรือเกี่ยวเนื่องกัน ในโรค tuberous sclerosis ผู้ป่วยส่วนใหญ่มักจะมีอาการชัก พัฒนาการล่าช้า และปัญหาด้านพฤติกรรมเกิดขึ้นร่วมกัน รวมถึงมีความเสี่ยงต่อการเกิดเนื้องอกในระบบประสาทด้วย และเมื่อพิจารณาถึงสาเหตุของโรค คือ การเกิดมิวเทชั่นของยีน *TSC1* (tuberous sclerosis complex 1) บนโครโมโซม 9 หรือยีน *TSC2* (tuberous sclerosis complex 2) บนโครโมโซม 16 นักวิทยาศาสตร์จึงได้มุ่งความสนใจไปที่ผลผลิตของยีน *TSC1* และ *TSC2* ซึ่งก็คือ โปรตีน hamartin และ tuberin ตามลำดับ ว่ามีบทบาทอย่างไรต่อกระบวนการที่เกิดขึ้นภายในเซลล์ ข้อมูลจนถึงขณะนี้แสดงให้เห็นว่าโปรตีนทั้ง 2 ชนิดนี้จะจับกันเป็น heterodimer (TSC1/TSC2 complex) ทำหน้าที่เป็นเอนไซม์เปลี่ยนโมเลกุล Rheb (ras homolog enriched in brain) ที่จับกับ GTP (Rheb-GTP) ซึ่งเป็น active form ให้เป็น Rheb-GDP ที่เป็น inactive form นั่นคือ ส่งผลยับยั้งการทำงานของโปรตีนที่อยู่ถัดลงมา โดยเฉพาะ mTOR (mammalian target of rapamycin) ที่พบได้มากในเซลล์ของระบบประสาทและมีบทบาทในการควบคุมการแสดงออกของยีนอีกหลายชนิด รวมถึงควบคุมการเจริญเติบโตและแบ่งตัวของเซลล์ (รูปที่ 1) ดังนั้นเมื่อมีความผิดปกติในการทำงานของยีน *TSC1* หรือ *TSC2* จะทำให้ปริมาณของ Rheb-GTP เพิ่มขึ้นเพราะสูญเสียการยับยั้งของ TSC1/TSC2 complex ส่งผลให้เกิดภาวะที่ mTOR ทำงานมากขึ้นจนเสียการควบคุม โดยเฉพาะ mTOR ที่อยู่ในรูปแบบของ mTORC1 (mTOR complex 1) ทำให้เกิดการเจริญเติบโตที่ผิดปกติของเซลล์ และมีความเสี่ยงต่อการเกิดเนื้องอกในอวัยวะต่างๆ ของร่างกายดังที่ได้กล่าวไว้ข้างต้น และแม้ว่ากลไกการเกิดเนื้องอกหรือมะเร็งในร่างกายส่วนใหญ่จะเป็นไปตาม two-hit hypothesis คือ ต้องอาศัยการเสียการทำงานของยีนในตำแหน่ง allele ที่เคยทำงานปกติ (second hit) ในผู้ป่วยที่มีความผิดปกติของยีนอยู่เดิม แต่พบว่าบางครั้งเนื้องอกในโรคนี้สามารถเกิดขึ้นได้แม้ไม่มีการเปลี่ยนแปลงการทำงานของยีนในอีก allele เลย[23]



รูปที่ 1 *บทบาทของ TSC genes ผ่านทาง hamartin และ tuberin ต่อการควบคุมการทำงานของ mTOR*

การศึกษากลไกระดับโมเลกุลที่เกิดขึ้นจากความผิดปกติในการแสดงออกของยีนที่พบในโรค tuberous sclerosis ต่ออาการและอาการแสดงที่พบ เป็นหนึ่งในหัวข้องานวิจัยที่ได้รับความสนใจอย่างมากในขณะนี้ มีคณะนักวิจัยหลายกลุ่มศึกษาถึงการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวโดยใช้สัตว์ทดลองที่ได้รับการยับยั้งการแสดงของยีนในรูปแบบและเทคนิคที่แตกต่างกัน ในเบื้องต้นได้มีความพยายามในการยับยั้งการแสดงออกของยีน *TSC1* หรือ *TSC2* ในหนูเพียง allele เดียว (heterozygous TSC mutant mice) เพื่อเลียนแบบลักษณะของโรคนี้ในคนที่เกิดจากความผิดปกติของยีนเพียงตำแหน่งเดียว พบว่าหนูดังกล่าวจะแสดงความบกพร่องทางสติปัญญา (cognitive deficit) รวมถึงมีพฤติกรรมทางสังคม (social behavior) ผิดปกติ ซึ่งอาจจะอธิบายความสัมพันธ์ของโรค tuberous sclerosis กับกลุ่มอาการออทิสซึมที่มักพบร่วมกันได้ แต่จะไม่มีอาการชักหรือรอยโรคในสมองแบบที่พบในผู้ป่วยโรค tuberous sclerosis[24,25] ดังนั้น สัตว์ทดลองรูปแบบดังกล่าวไม่สามารถใช้ศึกษาพยาธิกำเนิดของโรค tuberous sclerosis ได้ จึงนำการสร้างสัตว์ทดลองที่ทั้ง 2 alleles ของยีน *TSC1* หรือ *TSC2* ถูกยับยั้งการแสดงออก แต่เนื่องจากสัตว์ทดลองที่ถูกยับยั้งการแสดงออกของยีนเหล่านี้ทั่วร่างกายจะตายตั้งแต่อยู่ในครรภ์ ดังนั้นนักวิทยาศาสตร์จึงเลือกยับยั้งการแสดงออกของยีนเหล่านี้ให้เกิดขึ้นเฉพาะเซลล์ของระบบประสาทเท่านั้น เช่น เลือกยับยั้งการแสดงของยีนในเซลล์ประสาท (neuron) หรือเซลล์เกลียชนิด astrocyte

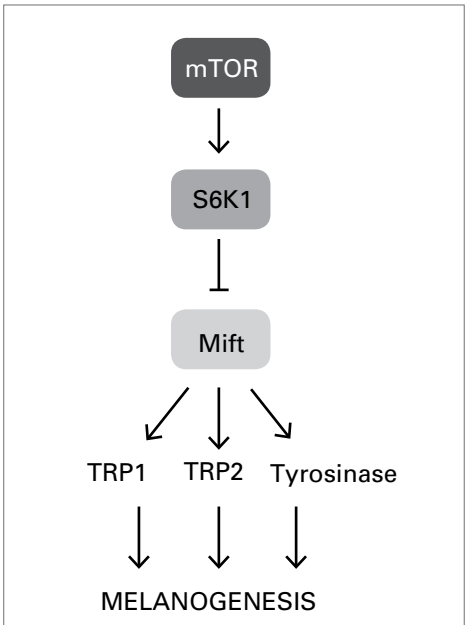
การศึกษาสัตว์ทดลองที่ถูกยับยั้งการแสดงออกของยีน *TSC1* ทั้ง 2 alleles ในเซลล์ astrocyte (homozygous, glial mouse models of TSC) พบว่าสัตว์ทดลองดังกล่าวจะมีอาการชักเกิดขึ้นตั้งแต่ช่วงแรกของชีวิตและมีความรุนแรงมากขึ้นเรื่อยๆ ตามอายุ รวมถึงเป็นสาเหตุของการเสียชีวิตก่อนวัยด้วย[26] การศึกษาทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อสมองในสัตว์ทดลองเหล่านี้จะพบความผิดปกติหลายประการ เช่น ขนาดสมองใหญ่กว่าปกติ เซลล์ประสาทในสมองส่วนฮิปโปแคมพัส (hippocampus) จะมีความผิดปกติในการจัดเรียงตัว โดยเฉพาะตำแหน่ง CA1 และมีการเพิ่มขึ้นของเซลล์เกลีย (glia cells) ซึ่งเป็นเซลล์ที่ทำหน้าที่หลักในการตอบสนองต่อภยันตรายของสมองและการซ่อมแซมของเนื้อเยื่อระบบประสาท[26,27] รวมถึงมีการลดลงของ glutamate transporter บนผิวของ astrocyte ด้วย โดย glutamate transporter นั้นมีบทบาทสำคัญต่อการควบคุมปริมาณของ glutamate ซึ่งเป็นสารสื่อประสาทชนิดกระตุ้น (excitatory neurotransmitter) ใน synaptic cleft ไม่ให้มีปริมาณมากเกินไป การลดลงของ glutamate transporter บนเซลล์ astrocyte จะส่งผลให้ระดับของ glutamate เพิ่มขึ้นซึ่งสัมพันธ์กับอาการชักที่พบในสัตว์ทดลองดังกล่าว[27,28] นอกจากนี้ การยับยั้งการแสดงออกของยีน TSC2 ในเซลล์ astrocyte จะทำให้เกิดอาการชักที่รุนแรงกว่าการยับยั้งการแสดงออกของยีน TSC1 โดยสัตว์ทดลองที่ถูกยับยั้งการแสดงออกของยีน TSC2 ทั้ง 2 alleles จะมีอาการ

ชักเกิดขึ้นเร็วกว่าและจำนวนครั้งของการชักจะมากกว่า รวมถึงการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิวิทยาของสมองจะรุนแรงกว่าด้วย ทั้งนี้เนื่องจากระดับของ mTOR ในหนูที่ถูกยับยั้งการแสดงออกของยีน TSC2 จะสูงกว่าหนูที่ถูกยับยั้งการแสดงออกของยีน TSC1 ซึ่งแสดงให้เห็นอิทธิพลของ mTOR ในพยาธิกำเนิดของอาการทางระบบประสาทในโรค tuberous sclerosis อย่างชัดเจน[27]

ในส่วนของสัตว์ทดลองที่ถูกยับยั้งการแสดงออกของยีน *TSC1* ทั้ง 2 alleles ในเซลล์ประสาท (homozygous, neuronal mouse models of TSC) พบว่าสัตว์ทดลองดังกล่าวจะมีอาการชักเกิดขึ้นตั้งแต่ช่วงแรกของชีวิต น้ำหนักไม่ขึ้นตามเกณฑ์ มีความผิดปกติในโครงสร้างรวมถึงการจัดเรียงตัวของเซลล์ประสาท และมักจะเสียชีวิตตั้งแต่ 1-2 เดือนแรก[29] โดยอาการชักที่เกิดขึ้นน่าจะเกิดจากภาวะ hyperexcitation ของเซลล์ประสาท[30] ซึ่งอาจจะเกี่ยวข้องกับการเพิ่มการแสดงออกของตัวรับ (receptor) ของ glutamate ชนิด AMPA (alpha-amino-3-hydroxy-5-methylisoxazole-4-proprionate) บนผิวเซลล์ประสาท เนื่องจากระดับ mTOR ที่เพิ่มขึ้น[31]

การให้ rapamycin เพื่อยับยั้งการทำงานของ mTOR เฉพาะที่อยู่ในรูปแบบของ mTORC1 ในสัตว์ทดลองที่ถูกยับยั้งการแสดงออกของยีน *TSC1* ในเซลล์ประสาทหรือเซลล์ astrocyte จะช่วยลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคลมชัก (epilepsy) ในสัตว์ทดลองดังกล่าวได้ และนอกจากจะช่วยยับยั้งอาการชักในหนูที่เกิดอาการของโรคลมชักแล้ว ยังช่วยลดความเสี่ยงต่อการตายก่อนวัยอีกด้วย[32] เมื่อติดตามความผิดปกติทางจุลพยาธิวิทยาของสมองทั้งในส่วนของ cortex และฮิปโปแคมพัสพบว่าดีขึ้นอย่างชัดเจน[33] นอกจากนี้การให้ rapamycin ยังช่วยแก้ไขความบกพร่องของการเรียนรู้ตำแหน่งและทิศทาง (spatial learning) ในหนู heterozygous *TSC* mutant ด้วย[24] ในขณะนี้ได้มีการนำ rapamycin (sirolimus) มาใช้ในการรักษาเนื้องอกหลายชนิดที่พบในโรคนี้และพบว่าได้ผลดี แต่ยังอยู่ในขั้นตอนของการทดลอง[34,35] ข้อมูลทั้งหมดแสดงให้เห็นว่าการยับยั้งการทำงานของ mTOR น่าจะเป็นทางเลือกที่น่าสนใจในการรักษาอาการชักและอาการผิดปกติอื่นๆ ของระบบประสาทที่เกิดขึ้นในโรค tuberous sclerosis หรือโรคทางสมองอื่นๆ รวมถึงนำไปใช้ในการรักษาเนื้องอกชนิดต่างๆ ได้ อย่างไรก็ดี การทำงานในระดับที่เหมาะสมของ mTOR มีส่วนสำคัญต่อการเจริญเติบโตและพัฒนาของเนื้อเยื่อและอวัยวะต่างๆ ของร่างกายในภาวะปกติเช่นเดียวกัน ดังนั้นนำความรู้ดังกล่าวมาประยุกต์ใช้ในมนุษย์คงยังต้องการข้อมูลจากการค้นคว้าวิจัยมากกว่านี้

สำหรับกลไกการเกิดความผิดปกติทางผิวหนังในโรคนี้นั้นขณะนี้ยังไม่เป็นที่ทราบโดยละเอียด อย่างไรก็ดี นักวิทยาศาสตร์เชื่อว่าการเพิ่มการทำงานของ mTOR ในโรคนี้น่าจะเป็นปัจจัยหลักต่อการเกิดอาการทางผิวหนังดังกล่าว โดยเฉพาะบทบาทของ mTOR ต่อการยับยั้งการทำงานของโมเลกุล Mitf (melanocyte-specific microphthalmia-associated transcription factor) ผ่านทางโมเลกุล S6K1 (ribosomal S6 kinase 1) ซึ่ง Mitf จะเป็นโมเลกุลที่ควบคุมกระบวนการ pigmentation รวมถึงการเจริญเติบโตและการคงอยู่ของเซลล์เม็ดสี (melanocyte) โดย Mift จะไปควบคุมการแสดงออกของโปรตีนที่มีบทบาทในกระบวนการ melanogenesis อีก 3 ชนิด คือ tyrosinase-related protein 1 (TRP1), tyrosinase-related protein 2 (TRP2) และเอนไซม์ tyrosinase (รูปที่ 2) ดังนั้นผื่นสีจางที่พบในโรค tuberous sclerosis จึงน่าจะเกิดจากการยับยั้งการทำงานของ Mift ซึ่งจะไปควบคุมการทำงานของโปรตีนและเอนไซม์ที่มีส่วนในการสร้างเม็ดสีหรือสารเมลานิน (melanin) นั่นเอง[36]



รูปที่ 2 *การควบคุมกระบวนการ melanogenesis ของ mTOR*

โดยสรุป โรค tuberous sclerosis จัดเป็นโรคกลุ่ม neurocutaneous syndrome ที่พบได้บ่อยโรคหนึ่ง และส่งผลกระทบต่อผู้ป่วยค่อนข้างมาก ถึงแม้ว่าในปัจจุบันแพทย์และนักวิทยาศาสตร์ได้ทราบถึงการเปลี่ยนแปลงในระดับโมเลกุลที่เกิดขึ้นในสัตว์ทดลองซึ่งมีความสัมพันธ์กับอาการแสดงทางคลินิกในมนุษย์ โดยเฉพาะการเพิ่มขึ้นของ mTOR ในสัตว์ทดลองที่ถูกยับยั้งการแสดงออกของยีนที่เป็นสาเหตุของโรคนี้

รวมถึงมีการทดลองให้ยาบางชนิดที่ไปยับยั้งการทำงานของ mTOR แล้วสามารถบรรเทาอาการทางระบบประสาทที่เกิดขึ้นในสัตว์ทดลองได้ แต่การนำองค์ความรู้ดังกล่าวมาประยุกต์ใช้ในการรักษาผู้ป่วยคงยังต้องใช้เวลาอีกสักระยะหนึ่ง ดังนั้น การวินิจฉัยภาวะนี้ให้ได้อย่างรวดเร็ว จึงเป็นสิ่งที่สำคัญที่สุดในการดูแลผู้ป่วยโรคนี้ เพื่อช่วยในการป้องกันความผิดปกติรวมถึงวินิจฉัยภาวะแทรกซ้อนที่อาจจะเกิดขึ้นอย่างทันท่วงที

เอกสารอ้างอิง

1. Osborne JP, Fryer A, Webb D. Epidemiology of tuberous sclerosis. Ann N Y Acad Sci 1991;615:125-7.
2. Hallett L, Foster T, Liu Z, et al. J. Burden of disease and unmet needs in tuberous sclerosis complex with neurological manifestations: systematic review. Curr Med Res Opin 2011;27:1571-83.
3. Jóźwiak S, Schwartz RA, Janniger CK, et al. Skin lesions in children with tuberous sclerosis complex: their prevalence, natural course, and diagnostic significance. Int J Dermatol 1998;37:911-7.
4. Yates JR, Maclean C, Higgins JN, et al. The Tuberous Sclerosis 2000 Study Group. Arch Dis Child. In press 2011.
5. O'Callaghan FJ, Harris T, Joinson C, et al. The relation of infantile spasms, tubers, and intelligence in tuberous sclerosis complex. Arch Dis Child 2004;89:530-3.
6. Camposano SE, Major P, Halpern E, et al. Vigabatrin in the treatment of childhood epilepsy: a retrospective chart review of efficacy and safety profile. Epilepsia 2008;49:1186-91.
7. Joinson C, O'Callaghan FJ, Osborne JP, et al. Learning disability and epilepsy in an epidemiological sample of individuals with tuberous sclerosis complex. Psychol Med 2003;33:335-44.
8. Ghosh SK, Bandyopadhyay D, Chatterjee G, et al. Mucocutaneous changes in tuberous sclerosis complex: a clinical profile of 27 Indian patients. Indian J Dermatol 2009;54:255-7.
9. Zaroff CM, Barr WB, Carlson C, et al. Mental retardation and relation to seizure and tuber burden in tuberous sclerosis complex. Seizure 2006;15:558-62.
10. Bolton PF, Griffiths PD. Association of tuberous sclerosis of temporal lobes with autism and atypical autism. Lancet 1997;349:392-5.
11. Wong V. Study of the relationship between tuberous sclerosis complex and autistic disorder. J Child Neurol 2006;21:199-204.
12. Hunt A. Development, behaviour and seizures in 300 cases of tuberous sclerosis. J Intellect Disabil Res 1993;37:41-51.
13. de Vries PJ, Hunt A, Bolton PF. The psychopathologies of children and adolescents with tuberous sclerosis complex (TSC): a postal survey of UK families. Eur Child Adolesc Psychiatry 2007;16:16-24.
14. Muzykewicz DA, Newberry P, Danforth N, et al. Psychiatric comorbid conditions in a clinic population of 241 patients with tuberous sclerosis complex. Epilepsy Behav 2007;11:506-13.
15. Huttenlocher PR, Heydemann PT. Fine structure of cortical tubers in tuberous sclerosis: a Golgi study. Ann Neurol 1984;16:595-602.
16. Major P, Rakowski S, Simon MV, et al. Are cortical tubers epileptogenic? Evidence from electrocorticography. Epilepsia 2009;50:147-54.
17. Rosser T, Panigrahy A, McClintock W. The diverse clinical manifestations of tuberous sclerosis complex: a review. Semin Pediatr Neurol 2006;13:27-36.
18. Webb DW, Clarke A, Fryer A, et al. The cutaneous features of tuberous sclerosis: a population study. Br J Dermatol 1996;135:1-5.

19. Sun XF, Yan CL, Fang L, et al. Cutaneous lesions and visceral involvement of tuberous sclerosis. Chin Med J (Engl) 2005;118:215-9.
20. Ruiz-Villaverde R, Blasco-Melguizo J, Hernández-Jurado I, et al. Bilateral and multiple periungual fibromas as an oligosymptomatic form of tuberous sclerosis. Dermatology 2004;209:160-1.
21. Sparling JD, Hong CH, Brahim JS, et al. Oral findings in 58 adults with tuberous sclerosis complex. J Am Acad Dermato 2007;56:786-90.
22. Roach ES, Sparagana SP. Diagnosis of tuberous sclerosis complex. J Child Neurol 2004;19:643-9.
23. Wilson C, Bonnet C, Guy C, et al. Tsc1 haploinsufficiency without mammalian target of rapamycin activation is sufficient for renal cyst formation in Tsc1+/- mice. Cancer Res 2006;66:7934-8.
24. Ehninger D, Han S, Shilyansky C, et al. Reversal of learning deficits in a Tsc2+/- mouse model of tuberous sclerosis. Nat Med 2008;14:843-8.
25. Goorden SM, van Woerden GM, van der Weerd L, Cheadle JP, Elgersma Y. Cognitive deficits in TSC1+/- mice in the absence of cerebral lesions and seizures. Ann Neurol 2007;62:648-55.
26. Uhlmann EJ, Wong M, Baldwin RL, et al. Astrocyte-specific TSC1 conditional knockout mice exhibit abnormal neuronal organization and seizures. Ann Neurol 2002;52:285-96.
27. Zeng LH, Rensing NR, Zhang B, et al. Tsc2 gene inactivation causes a more severe epilepsy phenotype than Tsc1 inactivation in a mouse model of tuberous sclerosis complex. Hum Mol Genet 2011;20:445-54.
28. Wong M, Ess KC, Uhlmann EJ, et al. Impaired glial glutamate transport in a mouse tuberous sclerosis epilepsy model. Ann Neurol 2003;54:251-6.
29. Meikle L, Talos DM, Onda H, et al. A mouse model of tuberous sclerosis: neuronal loss of Tsc1 causes dysplastic and ectopic neurons, reduced myelination, seizure activity, and limited survival. J Neurosci 2007;27:5546-58.
30. Wang Y, Greenwood JS, Calcagnotto ME, et al. Neocortical hyperexcitability in a human case of tuberous sclerosis complex and mice lacking neuronal expression of TSC1. Ann Neurol 2007;61:139-52.
31. Wang Y, Barbaro MF, Baraban SC. A role for the mTOR pathway in surface expression of AMPA receptors. Neurosci Lett 2006;401:35-9.
32. Zeng LH, Xu L, Gutmann DH, et al. Rapamycin prevents epilepsy in a mouse model of tuberous sclerosis complex. Ann Neurol 2008;63:444-53.
33. Meikle L, Pollizzi K, Egnor A, et al. Response of a neuronal model of tuberous sclerosis to mammalian target of rapamycin (mTOR) inhibitors: effects on mTORC1 and Akt signaling lead to improved survival and function. J Neurosci 2008;28:5422-32.
34. Davies DM, de Vries PJ, Johnson SR, et al. Sirolimus therapy for angiomyolipoma in tuberous sclerosis and sporadic lymphangioleiomyomatosis: a phase 2 trial. Clin Cancer Res 2011;17:4071-81.
35. Franz DN, Leonard J, Tudor C, et al. Rapamycin causes regression of astrocytomas in tuberous sclerosis complex. Ann Neurol 2006;59:490-8.
36. Jóźwiak J, Galus R. Molecular implications of skin lesions in tuberous sclerosis. Am J Dermatopathol 2008;30:256-61.