

ทำงานของเอนไซม์ต่ำกว่าปกติ (19) ความถี่ของ NQO1*2 มีความแตกต่างกันในหมู่ประชากร โดยชาวคอเคเชียนและแอฟริกันมีความถี่ต่ำเพียง 16 และ 19% ในขณะที่คนเอเชีย มีรายงานในคนจีน เกาหลี ญี่ปุ่นราว 40-54% นอกจากนี้การวิเคราะห์ความถี่ของ NQO1*2 กับความเสี่ยงมะเร็งชนิดต่างๆพบว่า มีความสัมพันธ์กับมะเร็งปอดโดยเฉพาะอย่างยิ่งในผู้หญิงและผู้ที่ไม่สูบบุหรี่(20) มีความสัมพันธ์กับมะเร็งกระเพาะปัสสาวะโดยเฉพาะอย่างยิ่งในผู้ชาย และผู้ที่สูบบุหรี่(13) และความเสี่ยงจะยิ่งสูงขึ้นในผู้สูบบุหรี่ ร่วมกับมี null genotype ของ GSTM1 และ GSTT1 (21) มีความสัมพันธ์กับมะเร็งลำไส้ใหญ่โดยเฉพาะอย่างยิ่งผู้สูบบุหรี่ (12) และมะเร็ง multiple mixed lineage leukemia ในเด็ก (22)

การทำงานของ NQO1 สามารถถูกชักนำให้เพิ่มการทำงานด้วยสารต่างๆจำนวนมากรวมทั้ง cytokine ในร่างกายผ่านวิถี Nrf2-ARE ที่กล่าวข้างต้น ดังนั้นการแสดงออกและการทำงานของ NQO1 นั้นจึงถูกควบคุมทั้งลักษณะทางพันธุกรรมและปัจจัยสิ่งแวดล้อม ปฏิกริยาต่อกันระหว่าง 2 ปัจจัยนี้จึงมีผลต่อบทบาท NQO1 ในเซลล์ปกติและเซลล์มะเร็ง แม้จะทราบดีว่าการเพิ่มการทำงานจะป้องกันเซลล์บาดเจ็บและเป็นการป้องกันมะเร็ง แต่ในมะเร็งหลายชนิด พบว่ามีการทำงานของ NQO1 เพิ่มมากผิดปกติ เช่น มะเร็งตับอ่อน ปอด ลำไส้ และเต้านม (23-27) ดังนั้นจึงน่าสนใจถึงบทบาทของ NQO1 ต่อการก่อ การพัฒนาการของมะเร็ง และการรักษาด้วยเคมีบำบัด(23, 28) โดยที่พบว่าทำให้ dicoumarol ยับยั้งการทำงานของ NQO1 หรือการ คัดเอาเงิน NQO1 ออกสามารถชักนำให้เซลล์มะเร็งไวต่อการกระตุ้นให้เกิด apoptosis (28) หรือสามารถกระตุ้นเซลล์มะเร็งให้ไวต่อยาเคมีบำบัดเช่น arsenic หรือ cisplatin มากยิ่งขึ้น (29-30) ทำให้สันนิษฐานว่า NQO1 อาจมีผลป้องกันเซลล์มะเร็งด้วย ทำให้การยับยั้งการทำงานของ NQO1 อาจเป็นแนวทางการรักษามะเร็งที่ได้ผลยิ่งขึ้น

3. วิธีดำเนินการวิจัย

1) ประชากรที่ทำการศึกษา

ประชากรที่ทำการศึกษประกอบด้วยคนสุขภาพปกติและผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดีโดยมีเกณฑ์คัดเลือกดังนี้

Inclusion criteria

- อาสาสมัครสุขภาพปกติ เป็นผู้ที่ไม่มีความเจ็บป่วยเรื้อรัง และไม่เคยเป็นโรคมะเร็ง อายุในช่วง 30-75 ปี ทั้งเพศชายและหญิง โดยมีสัดส่วนเท่ากับหรือใกล้เคียงกับผู้ป่วยมะเร็งข้างล่าง เป็นคนเชื้อชาติไทยโดยการสอบถามถึงบรรพบุรุษไป 2ชั่วอายุ และมีภูมิลำเนาอยู่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

- อาสาสมัครผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดีที่โรงพยาบาลศรีนครินทร์ เป็นผู้ป่วยโรคมะเร็งท่อน้ำดีโดยมีผลการตรวจยืนยันจากชิ้นเนื้อทางพยาธิวิทยา เป็นคนเชื้อชาติไทยโดยการสอบถามถึงบรรพบุรุษไป 2ชั่วอายุ และมีภูมิลำเนาอยู่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

Exclusion criteria

- อาสาสมัครสุขภาพปกติ บรรพบุรุษมีเชื้อชาติอื่น หรือเคยได้รับเลือดมาภายในเวลาภายใน 60วัน
- อาสาสมัครผู้ป่วยมะเร็ง บรรพบุรุษมีเชื้อชาติอื่น หรือเคยได้รับเลือดมาภายในเวลาภายใน 60วัน

จำนวนประชากรที่ศึกษา

เนื่องจากยังไม่มีข้อมูลเกี่ยวกับความถี่ของ allele NQO1 ในประชากรไทย จึงนำข้อมูลของประชากรเอเชีย คือจีนมาใช้ในการคำนวณ ความถี่ของ allele NQO1*2 มีค่า 0.424 (95%CI: 0.348-0.503) (9) ถ้าให้ case/ control: 1:1, การคำนวณแบบ two-sided test, alpha level:0.05, power:0.8, probability of disease baseline: (อุบัติการณ์มะเร็งร่าว 100/100000 หรือ 0.001) Odds ratio กำหนดเท่ากับ 1.75 ประชากรคนปกติและผู้ป่วยจะเท่ากับกลุ่มละ 206 คน คำนวณโดยโปรแกรม Power Program V3.0

2) การศึกษาเภสัชพันธุศาสตร์

- ตัวอย่างเลือดนำไปเตรียม buffy coat นำไปสกัด genomic DNA คุณภาพของ DNA สกัดได้ประเมินโดยการวัดด้วย spectrophotometer สัดส่วนของ absorbance ที่ 260/280 nm มีค่า >1.5
- นำ genomic DNA ไป genotyping โดยวิธี restriction fragment length polymorphism ตามวิธีของ Seedhouse (31) โดยใช้ปฏิกิริยา PCR ผลที่ได้จากการเพิ่มขึ้นส่วนพันธุกรรม PCR product ที่มีขนาด 304 base-pair นำไปวิเคราะห์หลังจากการย่อยด้วยเอนไซม์ Hinf I โดยมีชุด primer

Genes		Primers	Product length (bp)
NQO1	Forward	5'-AAGCCCAGACCAACTTCT-3'	304
	Reverse	5'-TCTCCTCATCCTGTACCTCT-3'	

- ความถี่ของ allele NQO1*1 และ NQO1*2 นำไปวิเคราะห์คำนวณ odds ratio โดยปรับด้วยข้อมูลที่สอบถามอายุ เพศ การสูบบุหรี่และตัวแปรอื่นที่มีผลกระทบ ด้วยสถิติ logistic regression