

## บทที่ 5

### บทสรุป

การวิจัยนี้ทำการศึกษาถึงความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายของพันธุกรรมในส่วนโปรโมเตอร์และยีนไซโตไคน์ประกอบด้วย *IL-10*, *TNF- $\alpha$*  และ *IFN- $\gamma$*  ในกลุ่มประชากรไทยกับผลลัพธ์ของการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี โดยครอบคลุมตำแหน่ง SNPs 6 ตำแหน่งคือ โปรโมเตอร์ของยีน *IL-10* ตำแหน่ง -1082, -819 และ -592 โปรโมเตอร์ของยีน *TNF- $\alpha$*  ตำแหน่ง -308 และ -238 และยีน *IFN- $\gamma$*  ตำแหน่ง +874

#### สรุปผลการวิจัย

การศึกษานี้ได้ศึกษาในกลุ่มประชากรไทยที่บริจาคโลหิต ณ ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย ในช่วงปี พ.ศ. 2553- 2554 จำนวน 371 ราย โดยแบ่งกลุ่มตัวอย่างเป็น 3 กลุ่มคือ กลุ่มผู้ที่มีสุขภาพดีไม่เคยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี (control) จำนวน 127 ราย กลุ่มที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีและยังคงตรวจพบ HBs Ag นานเกินกว่า 6 เดือน (chronic) จำนวน 102 ราย และกลุ่มผู้ที่เคยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีและมีการสร้าง anti-HBs แล้ว (recovery) จำนวน 142 ราย ซึ่งในแต่ละกลุ่มตัวอย่างพบว่าการกระจายตัวของอายุของกลุ่มตัวอย่างไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แต่พบความแตกต่างการกระจายความถี่ของเพศในกลุ่มตัวอย่างที่ศึกษาโดยพบว่าในกลุ่ม chronic และ recovery มีความถี่เพศชายมากกว่าในกลุ่ม control

การทดสอบ HWE (Hardy-Weinberg equilibrium) พบความถี่ของความหลากหลายทางพันธุกรรมของ *IL-10* -1082; *TNF- $\alpha$*  -308, -238 และ *IFN- $\gamma$*  +874 ในกลุ่มตัวอย่างพบว่าการกระจายความถี่ของจีโนไทป์ในค่าที่ได้เทียบกับความถี่ของค่าที่คาดหวังไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ยกเว้น *IL-10* -819 และ -592 ซึ่งพบว่าให้ผลการกระจายความถี่ของจีโนไทป์ของ wild-type ในค่าที่ได้สูงกว่าความถี่ของค่าที่คาดหวัง

ความหลากหลายของพันธุกรรมของยีนส่วนโปรโมเตอร์ของ *IL-10* ตำแหน่ง -1082, -819 และ -592 พบว่ามีความสัมพันธ์กับผลลัพธ์ของการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีโดย *IL-10* -1082 จีโนไทป์ AG และอัลลีล G มีความสัมพันธ์เชิงบวกกับกลุ่มที่เคยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี (chronic และ recovery) เมื่อเทียบกับกลุ่ม control ส่วนจีโนไทป์ *IL-10* -819 CC และ -592 CC พบว่ามีความสัมพันธ์แบบเพิ่มความเสี่ยงของการติดเชื้อแบบเรื้อรัง จากการศึกษาพบว่าแฮพโลไทป์

ACC ในตำแหน่ง *IL-10* (-1082/-819/-592) มีความสัมพันธ์เชิงบวกกับกลุ่มที่ติดเชื้อเรื้อรังเมื่อเทียบกับแฮพโลไทป์ ATA นอกจากนี้ยังพบว่าแฮพโลไทป์ GCC มีความสัมพันธ์เชิงบวกกับกลุ่มที่เคยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเมื่อเทียบกับกลุ่ม control

ความหลากหลายของพันธุกรรมของยีนส่วนโปรโมเตอร์ของ *TNF- $\alpha$*  -308 จีโนไทป์ GA และอัลลีล A พบว่ามีความสัมพันธ์เชิงบวกกับภาวะที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีแล้วสามารถกำจัดเชื้อและสร้างภูมิคุ้มกันต่อเชื้อได้ แต่ความหลากหลายของพันธุกรรมตำแหน่ง *TNF- $\alpha$*  -238 G/A พบว่าไม่มีความสัมพันธ์กับผลลัพธ์ของการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี ส่วนแฮพโลไทป์ในตำแหน่ง *TNF- $\alpha$*  (-308/-238) พบว่าแฮพโลไทป์ AA และ AG มีความสัมพันธ์เชิงบวกกับกลุ่มติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีแล้วและสร้างภูมิคุ้มกันต่อเชื้อได้เมื่อเทียบกับแฮพโลไทป์ GG

ส่วนความหลากหลายของพันธุกรรมของยีน *IFN- $\gamma$*  พบว่าไม่มีความสัมพันธ์กับผลลัพธ์ของการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี

### อภิปรายผลการวิจัย

จากการศึกษาพบว่าการกระจายตัวของอายุของกลุ่มตัวอย่างไม่มีความแตกต่างกัน แต่พบความแตกต่างกันของเพศในกลุ่มตัวอย่าง ซึ่งพบเพศชายในกลุ่ม chronic และ recovery สูงกว่าในกลุ่ม control สอดคล้องกับการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าเพศชายมีโอกาสเสี่ยงต่อการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีสูงมากกว่าเพศหญิง [3] ซึ่งอาจมีสาเหตุมาจากเพศชายมีพฤติกรรมที่เสี่ยงต่อการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีสูงกว่า เช่น การมีเพศสัมพันธ์ที่ไม่เฉพาะภรรยาและไม่ได้ป้องกัน การใช้เข็มฉีดยาหรือเข็มสักตามตัวร่วมกัน และอาจเกิดจากความแตกต่างกันของระบบฮอร์โมนในร่างกายส่งผลต่อการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันโดยเพศหญิงสามารถตอบสนองทางระบบภูมิคุ้มกันได้ดีกว่าเพศชาย [101]

ความถี่ของความหลากหลายทางพันธุกรรมของ *IL-10* -1082, *TNF- $\alpha$*  -308, -238 และ *IFN- $\gamma$*  +874 มีการกระจายความถี่ของจีโนไทป์เป็นไปตามหลัก Hardy-Weinberg equilibrium ยกเว้น *IL-10* -819 และ -592 ซึ่งพบว่าให้ผลการกระจายความถี่ของจีโนไทป์ของ wild-type ในค่าที่ได้สูงกว่าความถี่ของค่าที่คาดหวัง อาจเกิดจากการคัดเลือกกลุ่มตัวอย่างซึ่งไม่เป็นไปอย่างอิสระโดยเลือกจากผลตรวจ HBV marker นอกจากนี้อาจเกิดจากในปัจจุบันประชากรไทยมีการแต่งงานกับเชื้อชาติอื่นมากขึ้น หรือมีการอพยพย้ายถิ่นมากขึ้นส่งผลต่อการถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรมทำให้เกิดความแปรผันทางพันธุกรรมมากขึ้น นอกจากนี้อาจเกิดจากความผิดพลาดของผลตรวจ ดังนั้นจึงควรตรวจซ้ำหรือตรวจยืนยันยีนสองตำแหน่งนี้โดยวิธีการตรวจหาลำดับเบส อย่างไรก็ตาม

ก็ตาม ความถี่ของจีโนไทป์ที่ศึกษาจากกลุ่มตัวอย่างนี้มีการกระจายความถี่สอดคล้องกับการรายงานของ Sodsai, et al. [102] ซึ่งศึกษาในคนไทยพบว่าจีโนไทป์ *IL-10* -1082AA , -819TT และ -592AA สูงคิดเป็นร้อยละ 85, 45 และ 48 ตามลำดับ จีโนไทป์ *TNF- $\alpha$*  -308GG และ -238GG สูงคิดเป็นร้อยละ 75 และ 92 ตามลำดับ จีโนไทป์ *IFN- $\gamma$*  +874AA สูงคิดเป็นร้อยละ 58 และพบว่ามีความถี่ของจีโนไทป์ใกล้เคียงกับกลุ่มคนเอเชีย (จีน ญี่ปุ่นและเกาหลี) แต่มีความถี่แตกต่างจากคน Caucasian และ African [19, 103]

จากการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมในส่วนโปรโมเตอร์ของไซโตไคน์ *IL-10* ตำแหน่ง -1082, -819 และ -592 ก่อนหน้านี้ที่พบว่าการเปลี่ยนแปลงลำดับเบสมีผลต่อการแสดงออกของยีนทำให้มีการสร้าง *IL-10* เพิ่มขึ้นหรือลดลง และพบว่าจีโนไทป์ *IL-10* -1082 GG, GA และ AA มีผลให้สร้าง *IL-10* ในระดับที่สูง ปานกลางและต่ำ ตามลำดับ ส่วนตำแหน่ง *IL-10* -819 และ -592 พบว่าไม่มีผลต่อการสร้าง *IL-10* [17] แต่พบว่าแฮพลอไทป์ GCC, ACC และ ATA จะสร้าง *IL-10* ในระดับที่สูง ปานกลางและต่ำ ตามลำดับ [17, 18] สามารถนำมาอธิบายผลของการศึกษานี้ที่พบว่าจีโนไทป์ *IL-10* -1082 AG อัลลีล G และแฮพลอไทป์ GCC ซึ่งเป็นกลุ่มที่จะมีการสร้าง *IL-10* ในระดับที่สูง พบมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับทั้งกลุ่มที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังและกลุ่มที่เคยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีแล้วหายเมื่อเทียบกับคนที่ไม่เคยติดเชื้อ แต่ไม่พบความสัมพันธ์กับผลลัพธ์ของการติดเชื้อเมื่อเทียบกับกลุ่มที่เคยติดเชื้อด้วยกัน จึงอาจเกี่ยวข้องกับความไวของการติดเชื้อซึ่งต้องการการศึกษาเพิ่มเติมต่อไป ส่วนจีโนไทป์ *IL-10* -819 CC, -592 CC และแฮพลอไทป์ ACC พบว่ามีความสัมพันธ์กับความเสี่ยงของการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีแบบเรื้อรังเมื่อเทียบกับกลุ่มที่เคยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีแล้วหาย อาจเนื่องจากเป็นกลุ่มที่มีการสร้าง *IL-10* ในระดับปานกลางขณะที่ wide type (ATA) มีการสร้างระดับต่ำ ดังนั้นจึงอาจทำให้ลดการตอบสนองของภูมิคุ้มกันทำให้ไม่สามารถกำจัดเชื้อได้นำไปสู่การติดเชื้อแบบเรื้อรัง ผลการศึกษานี้สอดคล้องกับการศึกษาในกลุ่มคนเอเชียพบความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *IL-10* -592 อัลลีล C และจีโนไทป์ CC มีความสัมพันธ์กับความเสี่ยงการเกิดมะเร็งตับ [87, 88] และยังคงสอดคล้องกับการศึกษาในประเทศเกาหลีของ Shin, et al. [91] พบว่า *IL-10* (-1082, -819, -592 และ +117) haplotypes 2 (A-C-C-T) มีความสัมพันธ์กับภาวะการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังและความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งตับ แต่ขัดแย้งกับการศึกษาของ Lu, et al. [89] พบว่าตำแหน่งยีนส่วนโปรโมเตอร์ของ *IL-10* ตำแหน่ง -592A/C อัลลีล A มีความสัมพันธ์กับการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีและชี้ชนิดเรื้อรังในกลุ่มคนเอเชียแต่ไม่พบความสัมพันธ์ของยีนส่วนโปรโมเตอร์

ของ *IL-10* ตำแหน่ง -1082G/A และ -819C/T และการศึกษาของ Gao, et al. [83] ซึ่งพบ จีโนไทป์ *IL-10* -1082 AA มีความเสี่ยงต่อการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีและซีชนิดเรื้อรัง

การศึกษานี้ยังพบว่าความหลากหลายทางพันธุกรรมในส่วนยีนโปรโมเตอร์ของไซโตไคน์ *TNF- $\alpha$*  -308 จีโนไทป์ GA อัลลีล A และแฮพโลไทป์ *TNF- $\alpha$*  (-308/-238) AA, AG ซึ่งเป็นกลุ่มที่จะมีการสร้าง *TNF- $\alpha$*  ในระดับที่สูง [14,81] พบว่ามีความสัมพันธ์กับภาวะติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีแล้วสามารถกำจัดเชื้อและสร้างภูมิคุ้มกันต่อเชื้อได้เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ติดเชื้อเรื้อรัง อาจเนื่องจากผลของ *TNF- $\alpha$*  ที่มีความสำคัญกับกระบวนการอักเสบและกระตุ้นภูมิคุ้มกันทางด้านเซลล์และเป็น pro-inflammatory cytokines ที่มีส่วนในการกำจัดเชื้อไวรัสและมีผลต่อการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันในผู้ที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี [95] แต่ความหลากหลายทางพันธุกรรมตำแหน่ง *TNF- $\alpha$*  -238 G/A ไม่พบว่ามีความสัมพันธ์กับผลลัพธ์ของการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี การศึกษานี้ สอดคล้องกับการศึกษาในประเทศเกาหลีโดย Kim, et al. [104] พบว่าจีโนไทป์ *TNF- $\alpha$*  -308 AG หรือ AA มีความสัมพันธ์กับภาวะติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีแล้วสามารถกำจัดเชื้อและสร้างภูมิคุ้มกันต่อเชื้อได้ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาหลายกลุ่มที่พบว่าอัลลีล *TNF- $\alpha$*  308G, -238G และจีโนไทป์ *TNF- $\alpha$*  308GG สัมพันธ์กับความเสี่ยงในการติดเชื้อตับอักเสบบีเรื้อรังมากกว่าอัลลีลอื่นๆ [14, 92, 100, 105, 106] การศึกษานี้ยังขัดแย้งกับการศึกษา AkkiZ, et al. [47] ก็ได้ศึกษาในประเทศตุรกี พบว่าความหลากหลายของยีน *TNF- $\alpha$*  ในตำแหน่ง -308A มีความสัมพันธ์กับความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งตับ และพบความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายยีน *TNF- $\alpha$*  -238A กับความเสี่ยงในการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง [94] นอกจากนี้เคยมีการศึกษาในประเทศไทยโดย Kummee, et al. [96] ไม่พบความแตกต่างของความถี่จีโนไทป์ *TNF- $\alpha$*  -308A/G และ -238 A/G อย่างมีนัยสำคัญกับภาวะการกำจัดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีและความเสี่ยงของการเกิดมะเร็งตับ

การศึกษานี้ยังไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายทางพันธุกรรมในส่วนยีนของไซโตไคน์ *IFN- $\gamma$*  +874 (A/T) กับผลลัพธ์ของการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี สอดคล้องกับการรายงานในประเทศเกาหลี อิหร่านและญี่ปุ่น [9, 81, 98, 99] แต่ขัดแย้งกับการศึกษาในประเทศจีน ที่พบว่า *IFN- $\gamma$*  +874 AA มีความสัมพันธ์กับความเสี่ยงในการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง [83, 97] และยังพบว่าการกระจายความถี่จีโนไทป์ *IFN- $\gamma$*  +874 (A/T) มีความแตกต่างกันในแต่ละเชื้อชาติ โดย Hoffmann, et al. [19] รายงานว่าในประเทศอาเซียนมีความถี่ของจีโนไทป์ *IFN- $\gamma$*  +874 AA สูงกว่ากลุ่มประชากรผิวขาวซึ่งมีผลทำให้มีการสร้าง *IFN- $\gamma$*  ในระดับที่ต่ำและพบความสัมพันธ์ต่อการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีที่สูงขึ้นในกลุ่มประชากรชาวเอเชีย เนื่องจาก *IFN- $\gamma$*

มีบทบาทสำคัญในระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายช่วยในการต่อต้านไวรัสและจุลชีพภายในเซลล์ กระตุ้นให้เกิดการอักเสบ จากการศึกษาของ Pravica, et al. [107] พบว่าจีโนไทป์ *IFN- $\gamma$ +874 T/T* จะมีการสร้าง *IFN- $\gamma$*  เพิ่มขึ้น แต่ถ้าพบจีโนไทป์ *IFN- $\gamma$ +874 A/A* จะมีการสร้าง *IFN- $\gamma$*  ลดลง

จากผลการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมมีความแตกต่างกันอาจเนื่องมาจาก ความหลากหลายของยีนไซโตไคน์มีความแตกต่างกันในแต่ละเชื้อชาติ [19, 108] โดยเฉพาะคน เอเชียพบมีความแตกต่างจากคนผิวขาว [102] ส่งผลต่อการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันให้มีความแตกต่างกันด้วย โดยพบว่าปฏิกิริยาทางภูมิคุ้มกันของผู้ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีที่แตกต่างกันมีผล ต่อการดำเนินของโรคให้หายจากการติดเชื้อหรือเกิดการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง [10] ซึ่งการทำลายไวรัสและเซลล์ที่ติดเชื้อไวรัสเกี่ยวข้องกับทั้งระบบ humoral และ cellular immunity [14, 109] นอกจากการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันยังมีปัจจัยอื่นๆ ที่ทำให้ผู้ติดเชื้อแต่ละคนมี ผลลัพธ์ที่แตกต่างกัน ได้แก่ ความแตกต่างของไวรัส ความแตกต่างของบุคคล และสภาพแวดล้อม [7, 9, 110, 111] การติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีส่วนใหญ่ของผู้ติดเชื้อร่างกายสามารถกำจัดเชื้อและมีภูมิคุ้มกันต่อเชื้อนี้ได้ แต่ประมาณร้อยละ 5 ไม่สามารถกำจัดเชื้อได้และอาจติดเชื้อโดยไม่แสดง อาการซึ่งมีความเสี่ยงที่จะพัฒนาไปเป็นโรคตับอักเสบบีเรื้อรัง โรคตับแข็ง และมะเร็งตับต่อไป [3, 112]

### ข้อเสนอแนะ

เนื่องจากการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีนไซโตไคน์ทำการศึกษา ครอบคลุม 3 ยีน ประกอบด้วยยีน *IFN- $\gamma$*  ในตำแหน่ง +874, *IL-10* ในตำแหน่ง -1082, -819, -592 และ *TNF- $\alpha$*  ในตำแหน่ง -308, -238 รวม SNPs ทั้งหมด 6 ตำแหน่ง พบว่าลำดับสารพันธุกรรมมีความแตกต่างกันตามเชื้อชาติ ดังนั้นเพื่อลดความแตกต่างของกลุ่มกลุ่มตัวอย่างควรเลือกกลุ่ม ตัวอย่างที่เป็นคนเชื้อชาติไทยและให้มีกระจายครอบคลุมทุกภูมิภาคของประเทศ ควรมีการควบคุม ตัวแปรต่างๆ ที่มีผลกระทบต่อการศึกษาในแต่ละกลุ่มตัวอย่างไม่ให้ความแตกต่างกัน เช่น อายุ เพศ พฤติกรรมความเสี่ยง ควรมีการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีนไซโตไคน์ในยีน ตำแหน่งอื่นๆ ที่มีผลต่อระบบภูมิคุ้มกันเพิ่มขึ้นเพื่อให้ได้ข้อมูลที่ชัดเจนและเป็นประโยชน์ได้มากขึ้น สามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลในการเฝ้าระวังและรักษากลุ่มเสี่ยงต่อการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง หรือถ้ายังไม่เคยมีการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีก็จะต้องได้รับวัคซีนสำหรับการป้องกันโรค