

## สารบัญ

บทที่	หน้า
1 บทนำ.....	1
ความเป็นมาของปัญหา.....	1
จุดมุ่งหมายของการวิจัย.....	3
สมมติฐานของการวิจัย.....	3
ความสำคัญของการวิจัย.....	3
ขอบเขตของการวิจัย.....	3
กรอบแนวคิดการวิจัย.....	4
2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	5
ไวรัสตับอักเสบบี (Hepatitis B virus).....	5
ไซโตไคน์.....	15
ภูมิคุ้มกันต่อการติดเชื้อไวรัส.....	24
Single nucleotide polymorphisms (SNPs).....	26
ตำแหน่งโปรโมเตอร์ของยีน.....	28
สถิติการวิเคราะห์ผลการวิจัยเกี่ยวกับปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดโรค.....	29
วิเคราะห์ความสมดุลของฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก (Hardy- Weinberg Equilibrium: HWE).....	30
งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการศึกษา SNPs ของยีนไซโตไคน์กับผลของ การติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี.....	30
3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	34
ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง.....	34
เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย.....	34
วัสดุอุปกรณ์.....	35
น้ำยาและสารเคมี.....	35
วิธีดำเนินการทดลอง.....	36

## สารบัญ (ต่อ)

บทที่	หน้า
4 ผลการวิจัย.....	43
ลักษณะกลุ่มตัวอย่างที่ทำการศึกษา.....	43
ความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน IL-10 (-1082, -819, -592) และ ความสัมพันธ์กับผลลัพธ์ของการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี.....	44
ความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน TNF- $\alpha$ (-308, -238) และ ความสัมพันธ์กับผลลัพธ์ของการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี.....	50
ความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน IFN- $\gamma$ (+874) และ ความสัมพันธ์กับผลลัพธ์ของการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี.....	55
5 บทสรุป .....	58
สรุปผลการวิจัย.....	58
อภิปรายผลการวิจัย .....	59
ข้อเสนอแนะ .....	62
บรรณานุกรม.....	63
ภาคผนวก.....	76
ประวัติผู้วิจัย.....	98

## สารบัญตาราง

ตาราง	หน้า
1 ตัวอย่างและหน้าที่ของไซโตไคน์.....	20
2 ลักษณะของความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีนไซโตไคน์.....	31
3 สายดีเอ็นเออ้างอิงในการออกแบบ primer .....	38
4 Primer สำหรับทำ PCR เพื่อส่งตรวจ DNA sequencing.....	38
5 Primer สำหรับทำ PCR เพื่อตรวจหา SNPs.....	39
6 ส่วนผสมของ PCR reaction สำหรับ DNA sequencing.....	40
7 PCR profile สำหรับการส่งตรวจ DNA sequencing.....	40
8 Primer ของ internal control สำหรับทำ PCR-SSP.....	41
9 ส่วนผสมของ PCR reaction สำหรับการตรวจสอบหา SNPs.....	42
10 PCR profile สำหรับทำ PCR ตรวจสอบหา SNPs .....	42
11 การกระจายตัวของอายุและเพศของกลุ่มตัวอย่าง.....	43
12 การทดสอบ HWE ของยีน <i>IL-10</i> ในกลุ่มตัวอย่าง.....	45
13 ความถี่ของจีโนไทป์และอัลลีลของยีน <i>IL-10</i> ตำแหน่ง -1082, -819 และ -592 ในกลุ่มตัวอย่าง.....	47
14 ความสัมพันธ์ระหว่างกลุ่มตัวอย่างกับความถี่จีโนไทป์และอัลลีล ของยีน <i>IL-10</i> .....	48
15 ความถี่ Haplotype ของยีน <i>IL-10</i> ในกลุ่มตัวอย่าง.....	49
16 ความสัมพันธ์ระหว่างกลุ่มตัวอย่างกับความถี่ Haplotype ของยีน <i>IL-10</i> .....	50
17 การทดสอบ HWE ของยีน <i>TNF-<math>\alpha</math></i> ในกลุ่มตัวอย่าง.....	52
18 ความถี่ของจีโนไทป์และอัลลีลของยีน <i>TNF-<math>\alpha</math></i> ตำแหน่ง -308 และ -238 ในกลุ่มตัวอย่าง.....	52
19 ความสัมพันธ์ระหว่างกลุ่มตัวอย่างกับความถี่จีโนไทป์และอัลลีลของ ยีน <i>TNF-<math>\alpha</math></i> .....	53
20 ความถี่ Haplotype ของยีน <i>TNF-<math>\alpha</math></i> ในกลุ่มตัวอย่าง.....	54

## สารบัญตาราง (ต่อ)

ตาราง	หน้า
21 ความสัมพันธ์ระหว่างกลุ่มตัวอย่างกับความถี่ Haplotype ของยีน <i>TNF-<math>\alpha</math></i> .....	54
22 การทดสอบ HWE ของยีน <i>IFN-<math>\gamma</math></i> ในกลุ่มตัวอย่าง .....	56
23 ความถี่ของจีโนไทป์และอัลลีลของยีน <i>IFN-<math>\gamma</math></i> ตำแหน่ง +874 ในกลุ่มตัวอย่าง .....	56
24 ความสัมพันธ์ระหว่างกลุ่มตัวอย่างกับ Allele และ Genotype ของ <i>IFN-<math>\gamma</math></i> .....	57
25 กลุ่มผู้ที่มีสุขภาพดีไม่เคยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี 127 ราย .....	79
26 กลุ่มผู้ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีแบบเรื้อรัง 102 ราย .....	85
27 กลุ่มที่เคยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีและมีการสร้าง anti-HBs แล้ว 142 ราย ..	90

## สารบัญภาพ

ภาพ	หน้า
1 กรอบแนวคิดการวิจัย .....	4
2 ลักษณะโครงสร้างของไวรัสตับอักเสบบี .....	5
3 จีโนมของไวรัสตับอักเสบบี .....	6
4 ผลลัพธ์ของการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี .....	8
5 ปัจจัยเสี่ยงของการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี .....	10
6 การระบาดของไวรัสตับอักเสบบีในพื้นที่ต่างๆ ทั่วโลก.....	11
7 ระยะเวลาการตรวจพบ serologic marker ในกลุ่ม acute hepatitis B infection.....	14
8 ระยะเวลาการตรวจพบ serologic marker ในกลุ่ม chronic hepatitis B infection.....	14
9 การทำงานและคุณสมบัติทั่วไปของไซโตไคน์.....	17
10 ไซโตไคน์ที่เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงของ naive Th cell ไปเป็น Th1 หรือ Th2 cell .....	20
11 ลักษณะการเกิด SNP บนสายดีเอ็นเอ.....	26
12 รูปแบบของ haplotype บริเวณ haplotype block บนสาย DNA ที่เกิด SNPs 3 ตำแหน่ง .....	28
13 ตำแหน่งโปรโมเตอร์ของยีนซึ่งอยู่หน้าจุดเริ่มต้นการถอดรหัส .....	29
14 การตรวจหา SNPs ของยีน IL-10 ตำแหน่ง -1082 (A/G) โดยวิธี PCR-SSP.....	44
15 การตรวจหา SNPs ของยีน IL-10 ตำแหน่ง -819 (T/C) โดยวิธี PCR-SSP .....	44
16 การตรวจหา SNPs ของยีน IL-10 ตำแหน่ง -592 (A/C) โดยวิธี PCR-SSP .....	45
17 การตรวจหา SNPs ของยีน TNF- $\alpha$ ตำแหน่ง -308 (A/G) โดยวิธี PCR-SSP.....	51
18 การตรวจหา SNPs ของยีน TNF- $\alpha$ ตำแหน่ง -238 (A/G) โดยวิธี PCR-SSP.....	51
19 การตรวจหา SNPs ของยีน IFN- $\gamma$ ตำแหน่ง +874 (A/T) โดยวิธี PCR-SSP .....	55