RSA/22/2537
สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

15 S.A. 2540

รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์
เรื่อง

บีตาโกลบินยีนแฮพโพลไทป์และดีเอ็นเอโพลีมอร์ฟิสม ของไมโตคอนเดรียในชนกลุ่มน้อยของประเทศไทย

β-globin gene haplotypes and mitochondrial DNA polymorphisms in ethnic groups of Thai population

โดย

รองศาสตราจารย์ กุลนภา ฟู่เจริญ
ภาควิชาจุลทรรศน์คลินิก
เทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ทุนพัฒนานักวิจัย รุ่นที่ 1 (2537 - 2540)
สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์
เรื่อง

บีตาโกลบินยีนแฮพโพลไทป์และดีเอ็นเอโพลีมอร์ฟิสม ของไมโตคอนเดรียในชนกลุ่มน้อยของประเทศไทย

β-globin gene haplotypes and mitochondrial DNA polymorphisms in ethnic groups of Thai population

โดย

รองศาสตราจารย์ กุลนภา ฟู่เจริญ
ภาควิชาจุลทรรศน์คลินิก
คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ทุนพัฒนานักวิจัย รุ่นที่ 1 (2537 - 2540)
สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

เรื่อง

บีตาโกลบินยีนแฮพโพลไทป์และดีเอ็นเอโพลีมอร์ฟิสม ของไมโตคอนเดรียในชนกลุ่มน้อยของประเทศไทย

β-globin gene haplotypes and mitochondrial DNA polymorphisms in ethnic groups of Thai population

โดย

รองศาสตราจารย์ กุลนภา ฟู่เจริญ

ภาควิชาจุลทรรศน์คลินิก

คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ทุนพัฒนานักวิจัย รุ่นที่ 1 (2537 - 2540)

สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

สารบัญ

หน้า

- สารบัญ I
- สารบัญตาราง II
- สารบัญรูป III
- กิตติกรรมประกาศ IV
- บทคัดย่อ V
- Abstract VI
- บทนำ 1
- วัตถุประสงค์ 4
- วิธีการและผลการศึกษา 5
- วิจารณ์และสรุปผลการศึกษา 19
- เอกสารอ้างอิง 24
- Research output 28

สารบัญตาราง

หน้า

Table 1	Incidence of HbE and its gene frequencies among various ethnic groups of Thailand	7
Table 2	Distribution of β^{A}- globin gene haplotypes and frameworks in various ethnic groups of Thailand	12
Table 3	Distribution of β^{E}- globin gene haplotypes and frameworks in various ethnic groups of Thailand	13
Table 4	Frequencies of the region V 9bp deletion polymorphism of mtDNA in various ethnic groups of Thailand	15
Table 5	Estimates of interpopulational , intrapopulational and net nucleotide diversity among 8 ethnic groups	16
Table 6	The distribution of each ethnic groups in each monophyletic cluster of phylogenetic tree	22

สารบัญรูป

หน้า

Figure 1	Map of Thailand indicating incidence of Hb E and the place where each ethnic group studied was inhabited	8
Figure 2	The organization of β-globin gene cluster and the positions of seven polymorphic sites used in haplotype analysis	9
Figure 3	Analysis of ε/Hinc II, Gγ/Hind III, Aγ/Hind III and ψβ/Hind II polymorphisms in β-globin gene cluster using PCR	10
Figure 4	Analysis of ψβ/Hinc II, β/Ava II, Aγ/Hind III and 3'- β/BamH I polymorphisms in β-globin gene cluster using PCR	11
Figure 5	Analysis of 9bp deletion polymorphism in region V of mtDNA using PCR.	14
Figure 6	Phylogenetic tree of 215 mtDNA from six small ethnic groups and general Thai population	17
Figure 7	UPGMA phylogenetic dendogram showing the relationships of the eight ethnic groups studied	18

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณ สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย ที่สนับสนุนการทำวิจัย เรื่อง *บีตาโกลบินยีนแฮพโพลไทป์และดีเอ็นเอโพลีมอร์ฟิสมของไมโดคอนเดรียในชนกลุ่มน้อยของประเทศไทย* ด้วยทุนพัฒนานักวิจัย รุ่นที่ 1 ประจำปี 2537 - 2540 เป็นจำนวนเงิน ทั้งสิ้น 1,080,000.- บาท และขอขอบคุณ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่สมทบทุนเพื่อการทำวิจัยในครั้งนี้อีก เป็นจำนวนเงินทั้งสิ้น 300,000.- บาท ขอขอบคุณ รศ.พรรณี ชิโนรักษ์ และ ศ.ดร.ถาวร วัชราภัย คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อาจารย์ณรงค์ อุปัญญ์ โรงเรียนหนองสูงวิทยา จังหวัดมุกดาหาร , คุณกยม อายุการ โรงพยาบาลเจ้าพระยายมราช จังหวัดสุพรรณบุรี คุณพิสิฐ สมศักดิ์ โรงพยาบาลเชียงดาว จังหวัดเชียงใหม่ และ รศ.สุวิทย์ ธีระศาศวัต คณะมนุษยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ช่วยกรุณาประสานงานในการเก็บตัวอย่างเลือดชนกลุ่มน้อยที่ใช้ในการศึกษาในครั้งนี้

ขอขอบคุณ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่เอื้อเฟื้อสถานที่และอุปกรณ์ในการวิจัย งานวิจัยนี้สำเร็จลงได้ด้วยดี ด้วยคำปรึกษา แนะนำและช่วยเหลืออย่างดี จาก Professor Dr. Yasuyuki Fikumaki , Kyushu University , Professor Dr. Satoshi Horai National Institute of Genetics, Japan และ ผศ.ดร.สุพรรณ ฟู่เจริญ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ตลอดจนขอขอบคุณท่านผู้ทรงคุณวุฒิของสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัยที่ได้กรุณาให้คำแนะนำด้วยดีมาโดยตลอด

บทคัดย่อ

เพื่อเป็นการศึกษาข้อมูลทางประชากรพันธุศาสตร์ในชนกลุ่มน้อยที่ยังคงรักษาขนบธรรมเนียมประเพณีวัฒนธรรมและภาษาพูดของกลุ่มไว้ได้เป็นอย่างดีซึ่งอาศัยอยู่ในภูมิภาคต่างๆของประเทศไทย 5 กลุ่มชน ได้แก่ ไทยภูเขา ผู้ไทย ชอง ลาวโซ่ง และซาไก ในภาคเหนือ ตะวันออกเฉียงเหนือ ตะวันออก กลาง และใต้ ตามลำดับ ผู้วิจัยได้ทำการศึกษาข้อมูลทางพันธุกรรมอันประกอบด้วย 1.ชนิดของฮีโมโกลบิน ด้วยวิธี cellulose acetate electrophoresis 2. บีตาโกลบินยีนแฮพโพลไทป์ (β-globin gene haplotypes) ในกลุ่มยีนบีตา-โกลบินบนโครโมโซมที่ 11 ด้วยวิธี พีซีอาร์ แล้วตัดด้วยเอ็นไซม์ตัดจำเพาะ 7 ตำแหน่ง 3. ไมโตคอนเดรียดีเอ็นเอโพลีมอร์ฟิสม (mtDNA polymorphism) ชนิด Asian specific 9bp deletion (region V) ด้วยวิธี พีซีอาร์ 4. mtDNA polymorphism ในส่วน D-loop major noncoding region ด้วยการทำ direct DNA sequencing จากดีเอ็นเอที่เพิ่มจำนวนได้ด้วยวิธี พีซีอาร์ แล้ววิเคราะห์ข้อมูลเพื่อศึกษา nucleotide diversity ภายในกลุ่มชนและระหว่างกลุ่มชนสร้างเป็น phylogenetic tree ดูความสัมพันธ์ของกลุ่มประชากรที่ศึกษา ผลการศึกษาพบความถี่ของยีนฮีโมโกลบินอี(HbE)ในกลุ่มคนไทยภูเขา ผู้ไทย ชอง ลาวโซ่งและซาไก เท่ากับ 0.01 , 0.31 , 0.60 , 0.05 และ 0.06 ตามลำดับ โดยผลบีตาโกลบินยีนแฮพโพลไทป์ ระบุว่า กลุ่มคนชองซึ่งมีอุบัติการของHbEสูงที่สุดนั้นมี origin ของHbEต่างจากกลุ่มชนอื่นๆ โดยไปคล้ายกับกลุ่มคนเขมรที่เคยมีรายงานมาแล้ว ส่วนกลุ่มชนอื่นๆนั้นมี origin ของHbEที่เหมือนกันและเหมือนกับที่เคยมีรายงานในประชากรไทยทั่วไปและลาว ซึ่งสอดคล้องกับผลของ mtDNA polymorphism ที่พบว่ากลุ่มคนชองมีความสัมพันธ์กับกลุ่มชนอื่นๆน้อย ส่วนลาวโซ่ง ผู้ไทย ไทยภูเขา รวมไปถึงคนไทยทั่วไปในจังหวัดเชียงใหม่และขอนแก่นนั้นมีความสัมพันธ์กันจึงเชื่อว่าHbEที่มีอุบัติการสูงในกลุ่มผู้ไทยน่าจะเป็นแหล่งกำเนิดของHbEที่แพร่เข้าไปในกลุ่มประชากรไทยทั่วไป ส่วนชนกลุ่มน้อยที่มีอุบัติการของ HbE ต่ำ ก็น่าจะได้รับเข้าไปจากกลุ่มประชากรไทยทั่วไปที่ไม่สามารถสืบประวัติได้ และนอกจากนี้ผล mtDNA polymorphism ยังระบุว่ากลุ่มคนซาไก เป็นกลุ่มคนที่มีความสัมพันธ์กับกลุ่มชนอื่นน้อยมาก ข้อมูลที่ได้จากการศึกษานี้เป็นข้อมูลพื้นฐานที่ทำให้เกิดความรู้ความเข้าใจในเรื่องประวัติศาสตร์ชนชาติไทยได้มากขึ้นและจะมากยิ่งขึ้นหากนำวิธีการศึกษานี้ไปศึกษาในกลุ่มชนอื่นๆของประเทศไทยเพิ่มเติมอีก

Abstract

In order to provide population genetics data of small ethnic groups of Thai population we have studied five ethnic groups living in difference geographical region. Five selected ethnic groups studied includes Hill tribes in the north, Phu Tai in the northeast, Chong in the east , Lao Song in the middle and aborginal Sakai in the south of the country. Four genetic markers including types of hemoglobin determined by hemoglobin electrophoresis , β-globin gene haplotypes determined using PCR, an Asian specific 9 bp deletion in region V of mtDNA and mtDNA sequence polymorphisms in the D-loop major non-coding region determined by direct DNA sequencing were studied and determined ethnic relationship by phylogenetic tree analysis. It was found that the HbE gene frequencies in Hill tribes, Phu Tai, Chong, Lao Song and Sakai were 0.01, 0.31, 0.60, 0.05 and 0.06, respectively. β-Globin gene haplotype analysis indicates that HbE in Chong population has difference origin with other groups but has the same origin with Kambodian reported previously. HbE in the four remaining groups share the same origin with general Thai and Laos populations. Data on mtDNA polymorphisms also indicates that the Chong and Sakai populations are less related to other groups whereas Lao Song , Phu Tai and Hill tribes are closely related to the general Thai population living in Chiangmai and Khon Kaen provinces. The result from this study shows that both genetic markers on nuclear DNA and the mtDNA polymorphisms could provide useful information related to the history of Thai population. Further study on other small ethnic groups should provide a more insight into the study of history and ethnic relationships among Thai population.

บทนำ

ประเทศไทยเป็นประเทศที่ตั้งอยู่ในทวีปเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ มีประชากรประกอบด้วยกลุ่มชนชาติต่าง ๆ อย่างหลากหลาย เช่นเดียวกับประเทศอื่น ๆ ในแถบภูมิภาคนี้ สิ่งที่เด่นชัดที่สุดสำหรับประชาชนในภูมิภาคนี้ คือ มีความชุกของการตรวจพบฮีโมโกลบินผิดปกติโดยเฉพาะอย่างยิ่งฮีโมโกลบินอีและธาลัสซีเมีย ซึ่งเกิดจากความผิดปกติของยีนบีตาโกลบินสูงมากจนเป็นปัญหาสาธารณสุขที่สำคัญของประเทศ (1) และได้รับความสนใจในการศึกษามาโดยตลอด จึงมีข้อมูลทางด้านพันธุศาสตร์ออกมามากมาย นักมนุษยพันธุศาสตร์ได้พยายามอาศัยข้อมูลทางพันธุศาสตร์เหล่านี้อธิบายถึงวิวัฒนาการและปัญหาเรื่องถิ่นกำเนิดคนไทย ซึ่งเชื่อกันมาโดยตลอดว่าบรรพบุรุษของชนชาติไทยในปัจจุบัน ได้อพยพมาจากบริเวณตอนใต้ของประเทศจีน แต่ข้อมูลทางพันธุศาสตร์ที่เกี่ยวข้องกับการศึกษาในเรื่องฮีโมโกลบินอี ซึ่งเป็นฮีโมโกลบินผิดปกติชนิดหนึ่งที่พบบ่อยในประเทศไทย ให้ข้อมูลที่ค่อนข้างขัดแย้งกัน กล่าวคือแม้จะสามารถตรวจพบความถี่ของฮีโมโกลบินอีในประชากรไทยสูงมาก กลับตรวจพบได้น้อยมากในกลุ่มชนทางตอนใต้ของประเทศจีนในปัจจุบัน จนทำให้นายแพทย์ประเวศ วะสี (2) ได้ตั้งของสังเกตที่เกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างการกระจายของฮีโมโกลบินอีกับสมมุติฐานเรื่อง ถิ่นกำเนิดคนไทยไว้ว่า การไม่พบฮีโมโกลบินอีในคนจีนตอนใต้แต่กลับพบมากในคนไทย อาจแสดงว่าบรรพบุรุษของคนไทยไม่เคยอยู่ในประเทศจีนมาก่อน แต่อาจเป็นกลุ่มคนพื้นเมืองของเอเชียอาคเนย์อยู่เดิมเช่นเดียวกับผลที่ได้จากการศึกษาความถี่ของการตรวจพบลักษณะทางพันธุกรรมอื่น ๆ เช่น ระบบหมู่เลือด เอนไซม์ต่าง ๆ และโปรตีนในซีรัม (3) ซึ่งเป็นความเห็นที่สอดคล้องกับข้อสันนิษฐานที่ได้จากการศึกษาทางด้านศิลปวัฒนธรรมของ ศรีศักร วัลลิโภดม (4) ซึ่งเชื่อว่าบรรพบุรุษของคนไทยไม่ได้มาจากทางตอนใต้ของประเทศจีน แต่เป็นกลุ่มชนที่สืบเชื้อสายมาจากบรรพชนหลายเผ่าพันธุ์หลายสัญชาติ และเป็นความหลากหลายที่สืบเนื่องเห็นได้ชัดทางประวัติศาสตร์ แต่ข้อสันนิษฐานเหล่านี้ก็ยังไม่เป็นที่ยอมรับในวงกว้าง ในระยะหลังซึ่งได้มีความก้าวหน้าในการศึกษาพันธุศาสตร์ระดับอณูมากขึ้น เรื่องของฮีโมโกลบินอีและธาลัสซีเมียได้รับการศึกษาไปในอีกแนวทางหนึ่งในระดับลึกมากกว่าที่จะเป็นเพียงข้อมูลความถี่ของการตรวจพบเท่านั้น คือ สามารถเข้าไปศึกษาถึง background ของโครโมโซมที่มีความผิดปกติชนิดนี้ตั้งอยู่ การศึกษาในส่วนนี้เรียกว่าการศึกษาแฮพโพลไทป์ของยีนบีตาโกลบิน (β-globin gene haplotype) (5) ซึ่งเป็นการศึกษาโพลีมอร์ฟิสมของดีเอ็นเอ (DNA polymorphism) ของยีนชนิดต่าง ๆ บนกลุ่มยีนบีตาโกลบิน (β-globin gene cluster) บนโครโมโซมคู่ที่ 11 ของคน (6) ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาในระยะหลังๆ นี้จึงบอกถึงต้นกำเนิดของความผิดปกติของยีนบีตาโกลบินได้ดีกว่าข้อมูลความถี่ที่ตรวจพบจากการศึกษาในระดับโปรตีนแต่เพียงอย่างเดียว ข้อมูลที่ได้แสดงให้เห็นชัดเจนว่า ยีนฮีโมโกลบินอีที่ตรวจพบในคนไทย

นั้นอยู่บนโครโมโซมชนิดเดียวกับที่ตรวจพบในกลุ่มคนอื่นในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ (7) อย่างไรก็ตามผลการศึกษาบีตาธาลัสซีเมียกลับให้ผลที่ขัดแย้งกัน กล่าวคือส่วนใหญ่ของยีนบีตาธาลัสซีเมียที่ตรวจพบในคนไทย (8-11) เป็นชนิดที่ตรวจพบได้บ่อยในประเทศจีน และส่วนใหญ่อยู่บนโครโมโซมแฮพโพลไทป์ชนิดเดียวกันด้วย (12) จึงน่าจะมาจากต้นกำเนิดเดียวกัน และหากเชื่อว่าบรรพบุรุษของคนไทยในปัจจุบันไม่ได้อพยพมาจากทางตอนใต้ของประเทศจีน คนไทยได้รับยีนบีตาธาลัสซีเมียเหล่านี้มาจากไหน ความขัดแย้งของข้อมูลเหล่านี้คงต้องการคำอธิบายที่เหมาะสมและวิธีที่จะได้มาซึ่งข้อสรุปที่น่าเชื่อถือน่าจะอยู่ที่การศึกษา genetic marker อื่น ๆ มาเปรียบเทียบ เนื่องจากข้อมูลที่ได้จากการศึกษาโพลีมอร์ฟิสมของกลุ่มยีนบีตาโกลบิน เป็นการศึกษานิวเคลียร์ดีเอ็นเอ (nuclear DNA) จึงอาจมีปัญหาพื้นฐานอย่างหนึ่งเกี่ยวกับเรื่องรีคอมบิเนชั่น (recombination) ที่เมื่อเกิดขึ้นแล้ว จะทำให้แฮพโพลไทป์ของยีนบีตาโกลบินผิดไปจากเดิม การแปลผลจึงเปลี่ยนไป ผู้วิจัยจึงสนใจที่จะนำเอา genetic marker อีกตัวหนึ่งมาใช้ในการศึกษาควบคู่กัน คือโพลีมอร์ฟิสมบนไมโตคอนเดรีย ดีเอ็นเอ (mitochondrial DNA polymorphism) ซึ่งใช้ในการศึกษาต้นกำเนิดของกลุ่มชนชาติต่าง ๆ ได้ดี (13) เนื่องจากไมโตคอนเดรียดีเอ็นเอถ่ายทอดทางพันธุกรรมผ่านทางแม่เท่านั้น (maternal inherited) จึงไม่เกิดรีคอมบิเนชั่น อีกทั้งยังสะสมโพลีมอร์ฟิสมไว้มากกว่านิวเคลียร์ดีเอ็นเอ และมีขนาดเล็ก การศึกษาไมโตคอนเดรียดีเอ็นเอร่วมด้วยจึงน่าจะให้ข้อมูลเกี่ยวกับความสัมพันธ์ของกลุ่มชนชาติต่าง ๆ ได้เป็นอย่างดี แต่ข้อมูลการศึกษาในเรื่องนี้ในกลุ่มคนไทยยังมีน้อยมาก การศึกษาในชนกลุ่มน้อยที่ยังคงรักษาขนบธรรมเนียมประเพณีและภาษาพูดของตนไว้ ซึ่งอาศัยอยู่ในภูมิภาคต่างๆแล้วดูความสัมพันธ์กับผลที่ได้จากการศึกษานิวเคลียร์ดีเอ็นเอโพลีมอร์ฟิสมของกลุ่มยีนบีตาโกลบิน ผลการศึกษาน่าจะให้ข้อมูลสำคัญในเรื่องแหล่งกำเนิดและการกระจายของยีนบีตา-ธาลัสซีเมียในประชากรไทยและน่าจะเป็นข้อมูลสำคัญที่ช่วยอธิบายถึงความสัมพันธ์ของกลุ่มชนที่ทำการศึกษาอันจะนำไปสู่ข้อมูลเพื่อไขปัญหาเรื่องถิ่นกำเนิดของคนไทยให้มีความกระจ่างยิ่งขึ้นในอนาคตอีกด้วย

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ข้อมูลเกี่ยวกับการศึกษาความถี่ของฮีโมโกลบินผิดปกติโดยเฉพาะฮีโมโกลบินอีและบีตาธาลัสซีเมียในประเทศไทยนั้น ข้อมูลในระยะแรก ๆได้จากการศึกษาของศาสตราจารย์ พญ.คุณสุภา ณ นคร และคณะ (14) เป็นส่วนใหญ่ ข้อมูลแสดงให้เห็นชัดเจนว่าฮีโมโกลบินอีที่ตรวจพบในภูมิภาคต่าง ๆ ของประเทศไทยนั้น มีอัตราการตรวจพบแตกต่างกัน ตั้งแต่ประมาณร้อยละ 13 ในภาคกลางไปจนถึงร้อยละ 50-60 ในกลุ่มคนไทยเชื้อสายเขมรที่อาศัยอยู่ในเขตจังหวัดสุรินทร์ อัตราการตรวจพบลดลงในภาคเหนือและภาคใต้ และตรวจไม่พบในกลุ่มชาวเขาเผ่าต่าง ๆ เช่น เผ่าแม้ว เย้า และมูเซอ รวมทั้งคนยองในภาคเหนือ (15) ในกลุ่มคนเชื้อสายจีนที่อาศัยอยู่ในประเทศ ไทยเองตรวจ พบความถี่ของฮีโมโกลบินอีน้อยกว่า 1 ใน 1,000 (16) ตรวจพบได้ประมาณร้อยละ 28 ใน

ทางเหนือของลาว และร้อยละ 40-50 ทางตอนใต้ (17) ส่วนในประเทศกัมพูชาโดยทั่วไปพบได้สูง ประมาณร้อยละ 32.4 ข้อมูลข้างต้นทำให้ได้ข้อสรุปคร่าว ๆ ว่า สามารถตรวจพบฮีโมโกลบินอีได้สูงมากกว่าร้อยละ 50 บริเวณรอยต่อระหว่างไทย ลาว และเขมร ซึ่งถูกเรียกว่าบริเวณสามเหลี่ยมฮีโมโกลบินอี (hemoglobin E triangle) (18) ส่วนในเวียตนาม พบได้ประมาณร้อยละ 2-5 เท่านั้น เช่นเดียวกับความถี่ที่ตรวจพบได้ในประชากรทั่วไปของมาเลเซียและอินโดนีเซีย ซึ่งพบได้น้อยกว่าร้อยละ 5 (19) ส่วนทางตอนเหนือของทวีปเอเชีย เช่น ในประเทศญี่ปุ่น เกาหลีและจีนนั้นพบได้น้อยมาก ข้อสันนิษฐานจึงมีอยู่ว่าฮีโมโกลบินอีน่าจะเป็นฮีโมโกลบินผิดปกติที่มีอยู่ก่อนแล้วในแถบภูมิภาคที่เป็นไทย ลาวและเขมรในปัจจุบันและไม่ได้นำเข้ามาจากตอนใต้ของประเทศจีน

ต่อมามีการศึกษาดีเอ็นเอโพลีมอร์ฟิสมขึ้นในกลุ่มยีนบีตาโกลบินโดยใช้เอนไซม์ตัดจำเพาะด้วยวิธีการที่เรียกว่า restriction fragment length polymorphism (RFLP) (20) ทำให้สามารถแบ่งโครโมโซมที่มีบีตาโกลบินยีนออกเป็นชนิดต่าง ๆ เรียกว่าแฮพโพลไทป์(haplotype) และเฟรมเวอร์ค (framework) ข้อมูลเกี่ยวกับแฮพโพลไทป์และเฟรมเวอร์คของโครโมโซมที่มีความผิดปกติของยีนบีตาโกลบิน ได้ช่วยให้ความกระจ่างในเรื่องต้นกำเนิดของยีนตลอดจน ethnic origin ของกลุ่มชนต่างๆที่ทำการศึกษาได้เป็นอย่างดี (21,22) สำหรับในประเทศไทยนั้นเมื่อมีการศึกษายีนบีตาธาลัสซีเมียในประเทศไทยมากขึ้นและพบว่าบีตาธาลัสซีเมียในคนไทยเกิดจากความผิดปกติของยีนบีตาโกลบินได้มากมายหลายชนิด (8-11) แม้จะมีบางชนิดที่ไม่เคยมีรายงานในกลุ่มชนอื่นมาก่อนก็เป็นชนิดที่ตรวจพบได้ไม่บ่อย ที่เหลือเกือบทั้งหมดเป็นชนิดที่ตรวจพบได้ในคนจีน (23,24) การศึกษาถึงบีตาโกลบินยีนแฮพโพลไทป์และเฟรมเวอร์ค ล้วนบ่งชี้ว่ายีนบีตาธาลัสซีเมียที่ตรวจพบในคนไทยนั้นน่าจะได้รับมาจากคนจีนแทบทั้งสิ้น (11,12) แต่สำหรับฮีโมโกลบินอีนั้นAntonarakis และคณะ (25)ได้พบว่าฮีโมโกลบินอีที่ตรวจพบในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้นั้นอยู่บนโครโมโซมชนิดเฟรมเวอร์ค 2 และ 3 และตั้งข้อสันนิษฐานว่าอย่างน้อยคงจะมีต้นกำเนิดของฮีโมโกลบินอีอยู่ 2 ต้นกำเนิดที่เป็นอิสระต่อกัน ต่อมาฮีโมโกลบินอีแฮพโพลไทป์ได้รับการศึกษามากขึ้นในคนไทย กัมพูชาและเวียต นาม (7,26,27) พบว่า ในกลุ่มคนเขมรฮีโมโกลบินอีส่วนใหญ่จะอยู่บนโครโมโซมเฟรมเวอร์ค 3 ส่วนในคนไทยนั้นส่วนใหญ่อยู่บนโครโมโซมเฟรมเวอร์ค 2 ซึ่งเป็นคนละชนิดกัน ข้อมูลที่ขัดแย้งกันระหว่าง ผลการศึกษาฮีโมโกลบินอีและบีตาธาลัสซีเมียจึงต้องการการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อให้ได้คำ อธิบายที่เหมาะสมต่อไป

สำหรับในเรื่องของไมโตคอนเดรียดีเอ็นเอนั้น หลังจากที่ได้มีรายงานการศึกษาโครงสร้างและลำดับเบสของไมโตคอนเดรียจีโนมแล้ว(28) มีการนำไปประยุกต์ใช้กับการศึกษาเกี่ยวกับ ethnic origin ของกลุ่มชนต่าง ๆ อย่างกว้างขวาง เนื่องจากไม่มีปัญหาเรื่อง recombination เข้ามาเกี่ยวข้อง (13) เช่น ญี่ปุ่น (29) อัฟริกา (30) อเมริกา (31) และกลุ่มคนในหมู่เกาะโปลีนีเซียน (32) เป็นต้น แต่การศึกษาในประเทศไทยยังมีรายงานออกมาน้อยมาก อาจเป็นเพราะในระยะแรก ๆ การศึกษาทำได้ค่อนข้างลำบาก เนื่องจากความยุ่งยากของวิธีการในการเตรียมไมโตคอนเดรียดีเอ็นเอ ต่อมามีการ

ประยุกต์เทคนิคโพลีเมอเรสเชนรีแอคชั่นหรือพีซีอาร์ (33) เข้ามาช่วยในการศึกษา ทำให้การศึกษาทำได้ง่ายและสะดวกขึ้น เนื่องจากดีเอ็นเอที่สกัดได้จากเม็ดเลือดขาวและใช้สำหรับศึกษาโพลีมอร์ฟิสมของนิวเคลียร์ดีเอ็นเอนั้น สามารถนำมาใช้ในการศึกษาไมโตคอนเดรียดีเอ็นเอได้เลย (34) การศึกษานี้อาจทำได้โดยการใช้เอนไซม์ตัดจำเพาะ (35) การตรวจสอบชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่เพิ่มจำนวนได้ (36) และการตรวจหาลำดับเบสของไมโตคอนเดรียดีเอ็นเอโดยตรง (37) การนำเอาเทคนิคเหล่านี้มาใช้ศึกษาในคนไทยเพื่อหาความสัมพันธ์เทียบกับโพลีมอร์ฟิสมของนิวเคลียร์ดีเอ็นเอ น่าจะให้ข้อมูลที่สำคัญเกี่ยวกับการศึกษาประวัติศาสตร์ชนชาติไทยได้เป็นอย่างดี

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับดีเอ็นเอโพลีมอร์ฟิสมของไมโตคอนเดรียดีเอ็นเอในชนกลุ่มน้อยที่มีภูมิลำเนาในภูมิภาคต่างๆของประเทศไทย
2. ศึกษาเพิ่มเติมจากข้อมูลที่พอจะมีอยู่บ้างแล้วเกี่ยวกับดีเอ็นเอโพลีมอร์ฟิสมของนิวเคลียร์ดีเอ็นเอ โดยใช้โพลีมอร์ฟิสมในกลุ่มยีนบีตาโกลบินเป็นตัวอย่าง
3. ศึกษาความสัมพันธ์ในแง่ประชากรพันธุศาสตร์ระหว่างโพลีมอร์ฟิสมที่ตรวจพบบนไมโตคอนเดรียและนิวเคลียร์ดีเอ็นเอ โดยเปรียบเทียบกับผลที่ได้ในกลุ่มชนอื่น

วิธีการและผลการศึกษา

1. ตัวอย่างเลือดที่ใช้ในการศึกษา

ตัวอย่างเลือดที่ใช้ในการศึกษาประกอบด้วยตัวอย่างเลือดชนกลุ่มน้อยที่อาศัยอยู่ตามภูมิภาคต่าง ๆ ทั่วประเทศ ได้แก่ กลุ่มคนซาไก (ภาคใต้) ชนกลุ่มน้อยในเขตอำเภอปะเหลียน จังหวัดตรัง จำนวน 34 ตัวอย่าง กลุ่มคนชอง (ภาคตะวันออก) ในตำบลคลองพลู อำเภอมะขาม จังหวัดจันทบุรี จำนวน 50 ตัวอย่าง กลุ่มชาวไทยภูเขา (ภาคเหนือ) ในเขตอำเภอเชียงดาว จังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 80 ตัวอย่าง โดยจำแนกเป็นลีซอ มูเซอ(ลาหุ) ไทยใหญ่ แม้ว กะเหรี่ยง และจีนฮ่อ จำนวน 27 21 10 9 8 และ 5 ตัวอย่างตามลำดับ กลุ่มคนผู้ไทย (ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ) ในเขตอำเภอคำชะอี จังหวัดมุกดาหาร จำนวน 31 ตัวอย่าง และกลุ่มคนลาวโซ่ง (ภาคกลาง) ในตำบลบางกุ้ง อำเภอเมือง จังหวัดสุพรรณบุรี จำนวน 58 ตัวอย่าง ซึ่งตัวอย่างเลือดที่ทำการศึกษานี้ได้คัดเลือดเอาเฉพาะตัวอย่างเลือดของชนกลุ่มน้อยที่ผ่านการสัมภาษณ์และตรวจสอบแล้วว่าไม่มีความสัมพันธ์กันในครอบครัว โดยตัวอย่างเลือดนี้ได้มาจากการเจาะเส้นเลือดดำ คนละ 2 มิลลิลิตร และใช้เอพาริน หรืออีดีทีเอ เป็นสารกันเลือดแข็ง นำกลับห้องปฏิบัติการโดยการแช่น้ำแข็ง

2. การตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบิน

ตัวอย่างเลือดที่เก็บได้จะนำไปเตรียมเป็นน้ำละลายฮีโมโกลบิน แล้วตรวจวิเคราะห์ชนิดของฮีโมโกลบิน ด้วยวิธีเซลลูโลสอะซีเตตอิเลคโตรโฟรีซีส (cellulose acetate electrophoresis) (38) พบว่าประชากรส่วนใหญ่ของกลุ่มคนซาไก ไทยภูเขา และลาวโซ่ง มีชนิดของฮีโมโกลบินปกติคือ A_2A แต่ในกลุ่มคนชองและผู้ไทย ตรวจพบฮีโมโกลบินผิดปกติคือฮีโมโกลบินอี (HbE) มีความถี่สูงมากดังแสดงในตารางที่ 1 และรูปที่ 1

3. ศึกษาโพลีมอร์ฟิสมของกลุ่มยีนบีตาโกลบิน

นำตัวอย่างเลือดที่เหลือจากการตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินมาสกัดดีเอ็นเอด้วยวิธี salting out (39) จากนั้นนำดีเอ็นเอไปทำการศึกษาโพลีมอร์ฟิสมของกลุ่มยีนบีตาโกลบินด้วยเทคนิคพีซีอาร์และตัดด้วยเอ็นไซม์ตัดจำเพาะซึ่งมีอยู่ 7 ตำแหน่ง (12) คือ **HincII** บริเวณ 5' ε-globin gene **Hind III** ใน $^{G}\gamma$-globin gene **Hind III** ใน $^{A}\gamma$-globin gene **Hinc II** ใน φβ-globin gene **Hinc II** ใน 3' φβ-globin gene **Ava II** ใน β-globin gene และ **Bam HI** บริเวณ 3' β-globin gene (รูปที่ 2) แล้วศึกษาแถบของดีเอ็นเอที่ได้ด้วยการทำอะกาโรสเจลอิเลคโตรโฟรีซีส (agaros

gel electrophoresis) (รูปที่ 3 และ 4) ผลการศึกษาในชนกลุ่มน้อยกลุ่มต่าง ๆ ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 2 และ 3

4. ศึกษาโพลีมอร์ฟิสมของไมโตคอนเดรียดีเอ็นเอชนิดเบสหายไป 9 เบส ที่จำเพาะต่อคนเอเชีย (Asian specific 9bp deletion)

ตัวอย่างดีเอ็นเอจากข้อ 2.3 ได้แบ่งมาทำการศึกษา 9bp-deletion ใน region V ของไมโตคอนเดรียดีเอ็นเอด้วยเทคนิคพีซีอาร์ (32,40) แล้วนำไปศึกษาแถบของดีเอ็นเอที่เพิ่มจำนวนได้ โดยการทำนูซีฟว์ เจล อิเลคโตรโฟรีซีส (NuSieve gel electrophoresis) ถ้าไม่มีการหายไปของแถบเบส 9 เบส จะพบแถบดีเอ็นเอขนาด 100 เบส ถ้ามีการหายไปของเบส 9 เบส จะพบแถบดีเอ็นเอ ขนาด 91 เบส (รูปที่ 5) โดยทำการศึกษาในทุกตัวอย่างได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4 ซึ่งเป็นตารางเปรียบเทียบผล 9bp deletion ในกลุ่มชนต่าง ๆ ที่เคยมีรายงานแล้ว

5. ศึกษาโพลีมอร์ฟิสมของไมโตคอนเดรียดีเอ็นเอ ในส่วน D-loop Major noncoding region

ตัวอย่างดีเอ็นเอจากข้อ 2.3 จำนวน 215 ตัวอย่าง ซึ่งประกอบด้วย ซาไก 20 ตัวอย่าง ซอง 25 ตัวอย่าง ผู้ไทย 25 ตัวอย่าง ลาวโซ่ง 25 ตัวอย่าง ไทยภูเขา (มูเซอหรือลาหุ) 21 ตัวอย่าง ไทยภูเขา (ลีซอ) 25 ตัวอย่าง คนไทยทั่วไปในจังหวัดขอนแก่น 44 ตัวอย่าง และคนไทยทั่วไปในจังหวัดเชียงใหม่ 30 ตัวอย่าง ได้นำมาศึกษาโพลีมอร์ฟิสมของไมโตคอนเดรียดีเอ็นเอ ในส่วน D-loop major noncoding region โดยการทำ direct DNA sequencing จาก PCR product (41) ด้วยเครื่อง ABI PRISM™ 377 DNA Sequencer PERKIN ELMER แล้ววิเคราะห์ข้อมูลเพื่อดูชนิดและความถี่ของมิวเตชั่น เทียบกับ reference sequence ของ Anderson S. (28) ทำการวิเคราะห์ nucleotide diversity ภายในกลุ่มชน และระหว่างกลุ่มชน ดังแสดงในตารางที่ 5 แล้วสร้าง phylogenetic tree ด้วยวิธี neighbor-joining (NJ) (42) (รูปที่ 6) และ phylogenetic dendrogram (รูปที่ 7) ด้วยวิธี unweight pair-group method with arithmetic mean (UPGMA) (43)

Table 1 Incidence of HbE and gene frequencies among various ethnic groups of Thailand.

Ethnic groups	No	EA	EE	HbE (%)	Gene frequency
Thai					
North	31	3	-	9.7	0.05
Northeast	235	61	4	27.9	0.15
Small ethnic					
Hill tribes	79	2	-	2.5	0.01
Phu Tai	31	13	3	51.6	0.31
Chong	50	24	18	84.0	0.60
Lao song	58	5	-	8.6	0.05
Sakai	34	3	-	11.8	0.06

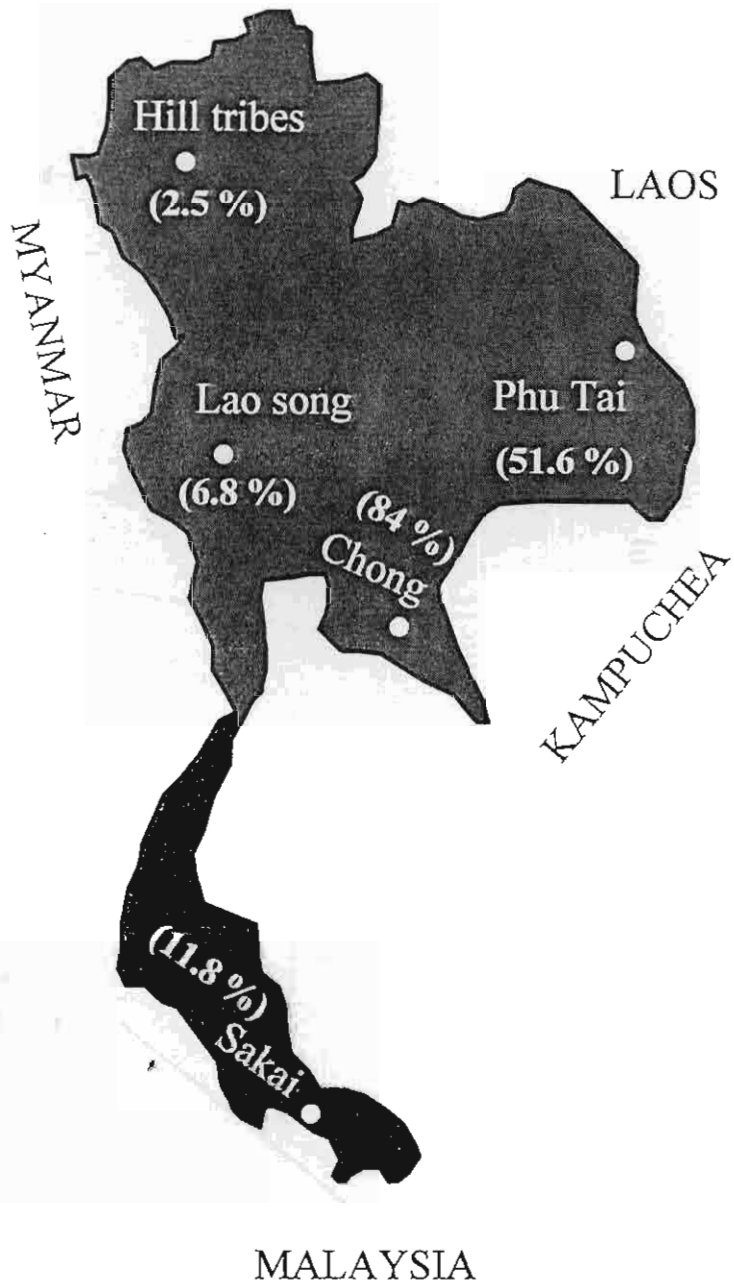

Figure 1 Map of Thailand indicating incidence of Hb E and the place where each ethnic group studied was inhabited

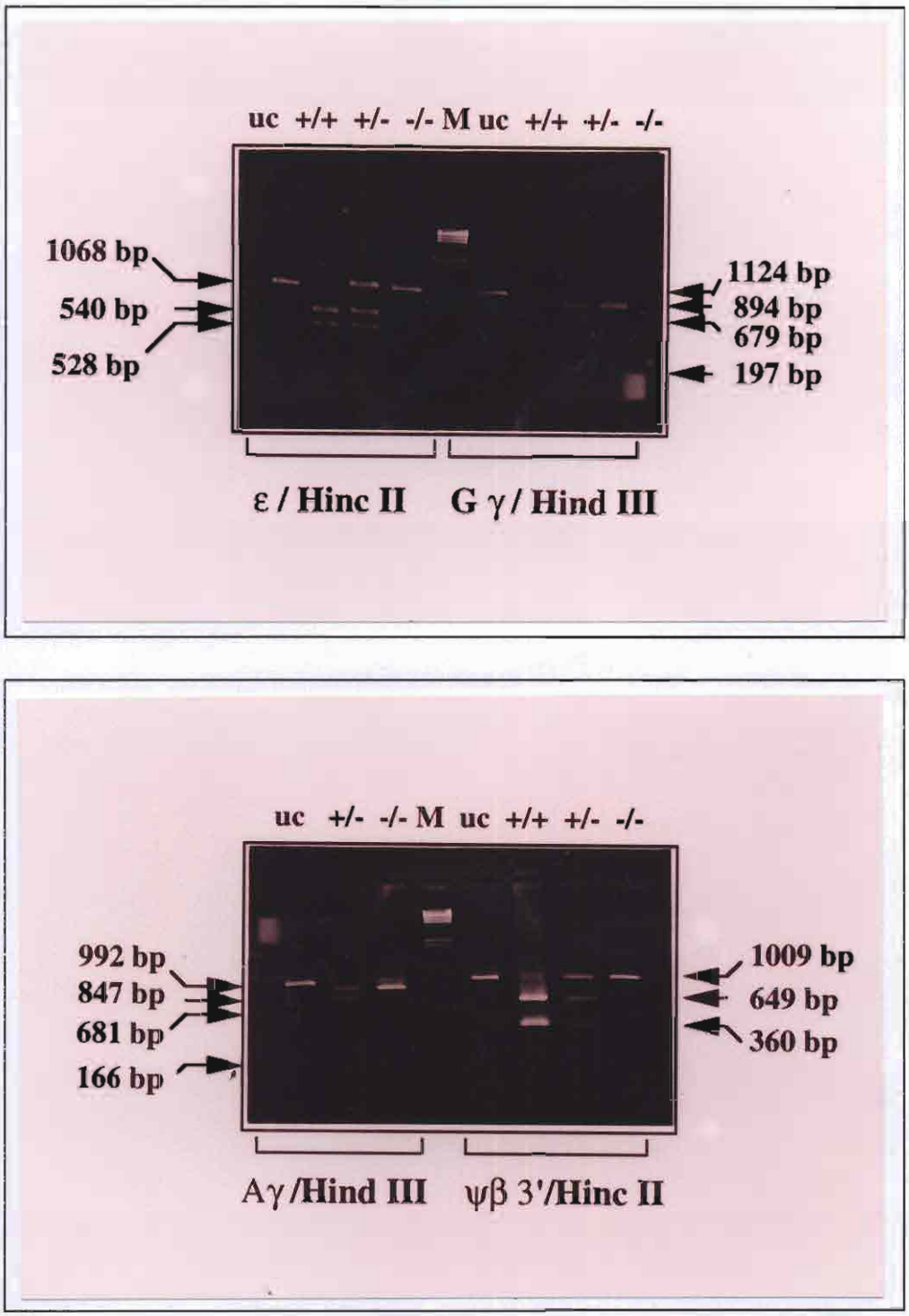

Figure 3 PCR amplified DNA for polymorphic sites analysis in β-globin gene cluster before (uncut, uc) and after digested with restriction enzymes indicated ; ε/Hinc II , Gγ / Hind III , Aγ / Hind III and ψβ/Hinc II. M is λ/Hind III size markers. + and - indicate the presence and absence of each polymorphic site, respectively.

Table 2 Distribution of β^A-globin gene haplotypes and frameworks in various ethnic groups of Thailand.

β^A-haplotype	Framework	North	North east	Hill tribes	Phu Tai	Chong	Sakai	Lao song
(+ - - - - + +)	1	7	8	10	5	-	-	8
(- + + - + + +)	1	1	-	-	1	2	-	4
(- + - + + + +)	1	2	3	4	1	1	10	-
(+ - - - - + -)	2	8	8	53	27	2	26	26
(- + + - + + -)	2	-	-	-	-	-	-	3
(- + - + + + -)	2	1	-	9	1	4	3	4
(+ - - - - - +)	3	13	8	53	5	24	4	58
(- + + - + - +)	3	3	-	6	1	-	-	1
(- + - + + - +)	3	1	-	8	1	2	16	7
(- + - - + - +)	3	1	-	3	1	4	1	-
(- + - - - - +)	3	-	-	2	-	-	1	-
Total number of chromosome :		*37*	*27*	*148*	*43*	*39*	*61*	*111*

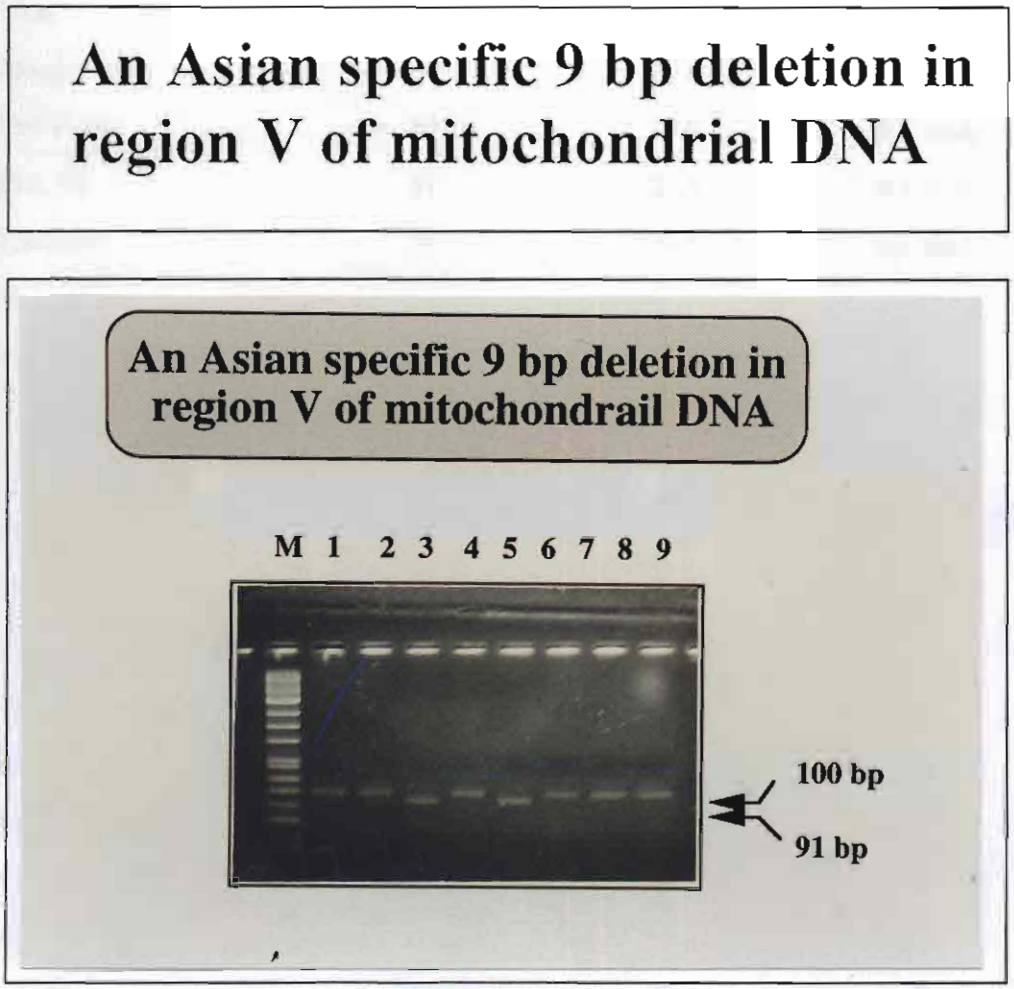

Figure 5 Detection of the 9bp deletion polymorphism in the region V of mtDNA. PCR-amplified mtDNA were run on 4% NuSeive gel electrophoresis. Lanes 1, 2, 4, 6, 7 and 8 contain samples without the 9 bp deletion polymorphism whereas 3 and 5 have this polymorphism. M is ϕX174/Hinf I size markers.

Table 4 Frequency of the region V 9bp deletion polymorphism of mtDNA in various ethnic groups

Population	sample size	9 bp deletion (%)	Reference
Thai			
- Sakai	34	0	this study
- Chong	50	32.0	this study
- Thai Tribes	80	20.0	this study
- Phu Tai	31	22.6	this study
- Lao Song	58	34.5	this study
- North	30	23.0	40
- Northeast	40	26.0	40
Japan			
- Mainland	254	15.0	44
- Okinawa	82	4.9	44
Taiwan			
- Chinese	132	17.4	44
- Native	120	28.3	44
Indonesia	10	60.0	45
Australia	51	0	32
Papua new Guinea	94	0	32
New Zealand	30	100	32
Polynesians	150	93.0	32
Hawaiian	25	92.0	45
African	14	0	45
European	3	0	45
Caucasians (Spain)	124	0.8	46

Table 5 Estimates of interpopulational (d_{xy}) , intrapopulational (d_x or d_y) and net (d_A) nucleotide diversity among 8 ethnic groups .

	n=25 CH	n=25 HIL	n=21 HIM	n=25 LAS	n=25 PHT	n=20 SAK	n=30 CM	n=44 KK
CH	**1.363**	1.464	1.483	1.367	1.561	1.548	1.433	1.452
HiL	0.100	**1.363**	1.263	1.370	1.433	1.448	1.345	1.373
HiM	0.190	0.015	**1.132**	1.342	1.333	1.443	1.250	1.297
LAS	0.039	0.041	0.129	**1.293**	1.455	1.521	1.330	1.371
PHT	0.198	0.069	0.086	0.127	**1.363**	1.586	1.388	1.412
SAK	0.590	0.489	0.600	0.589	0.628	**0.553**	1.353	1.502
CM	0.127	0.038	0.059	0.059	0.082	0.452	**1.249**	1.322
KK	0.093	0.012	0.053	0.047	0.052	0.547	0.019	**1.356**

Note All values are multiplied by 100. The figures on the diagonal refer to d_x (or d_y),and those above the diagonal d_{xy} . The figures below the diagonal represent the value of $d_A = d_{xy} - [(d_x + d_y)/2]$

CH = Chong HIL = Hill Tribe;Lisu HIM = Hill Tribe;Musur

LAS = Lao Song PHT = Phu Tai SAK = Sakai

CM = Chiang Mai KK = Khon kaen

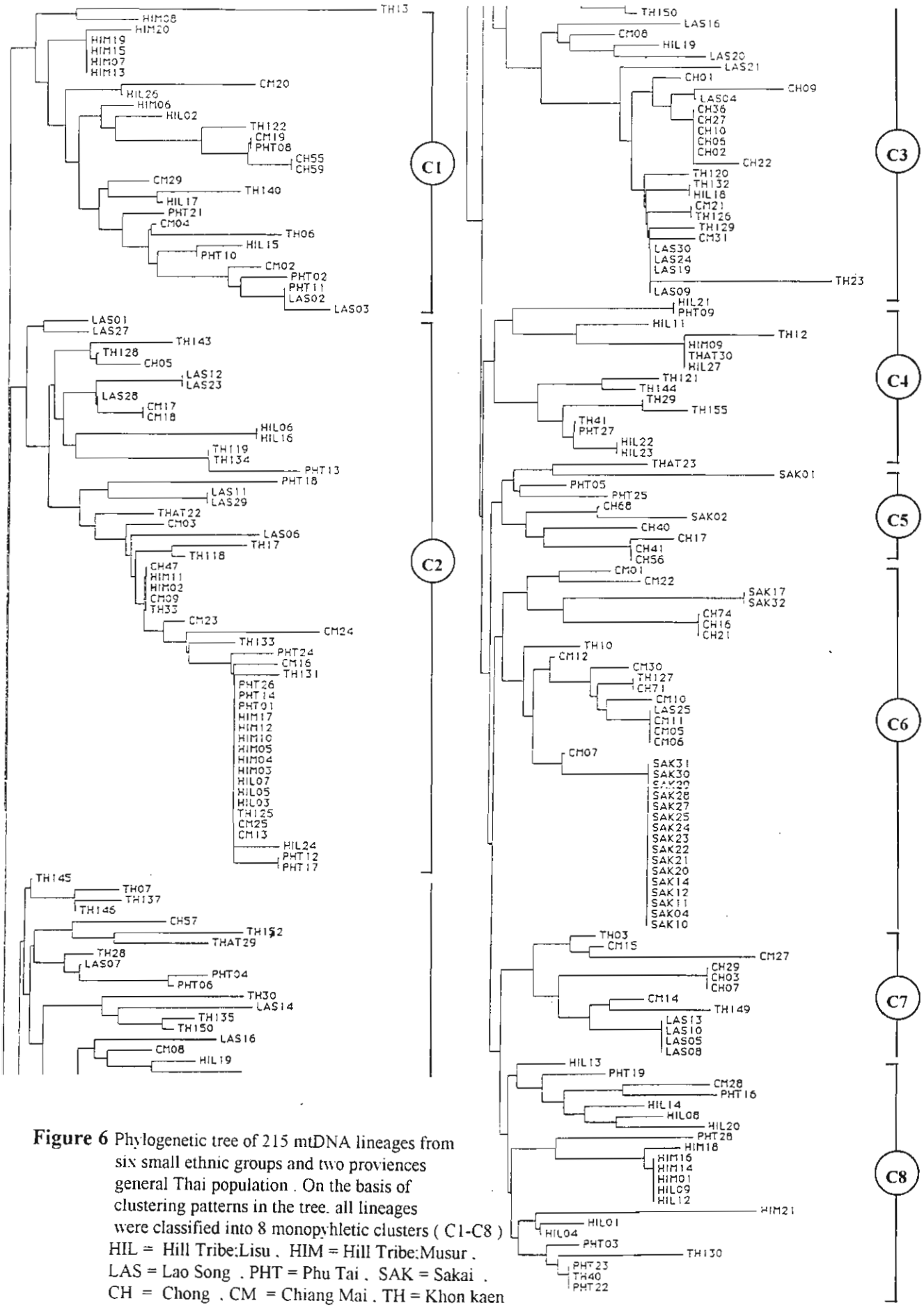

Figure 6 Phylogenetic tree of 215 mtDNA lineages from six small ethnic groups and two proviences general Thai population . On the basis of clustering patterns in the tree. all lineages were classified into 8 monopyhletic clusters (C1-C8)
HIL = Hill Tribe:Lisu . HIM = Hill Tribe:Musur .
LAS = Lao Song . PHT = Phu Tai . SAK = Sakai .
CH = Chong . CM = Chiang Mai . TH = Khon kaen

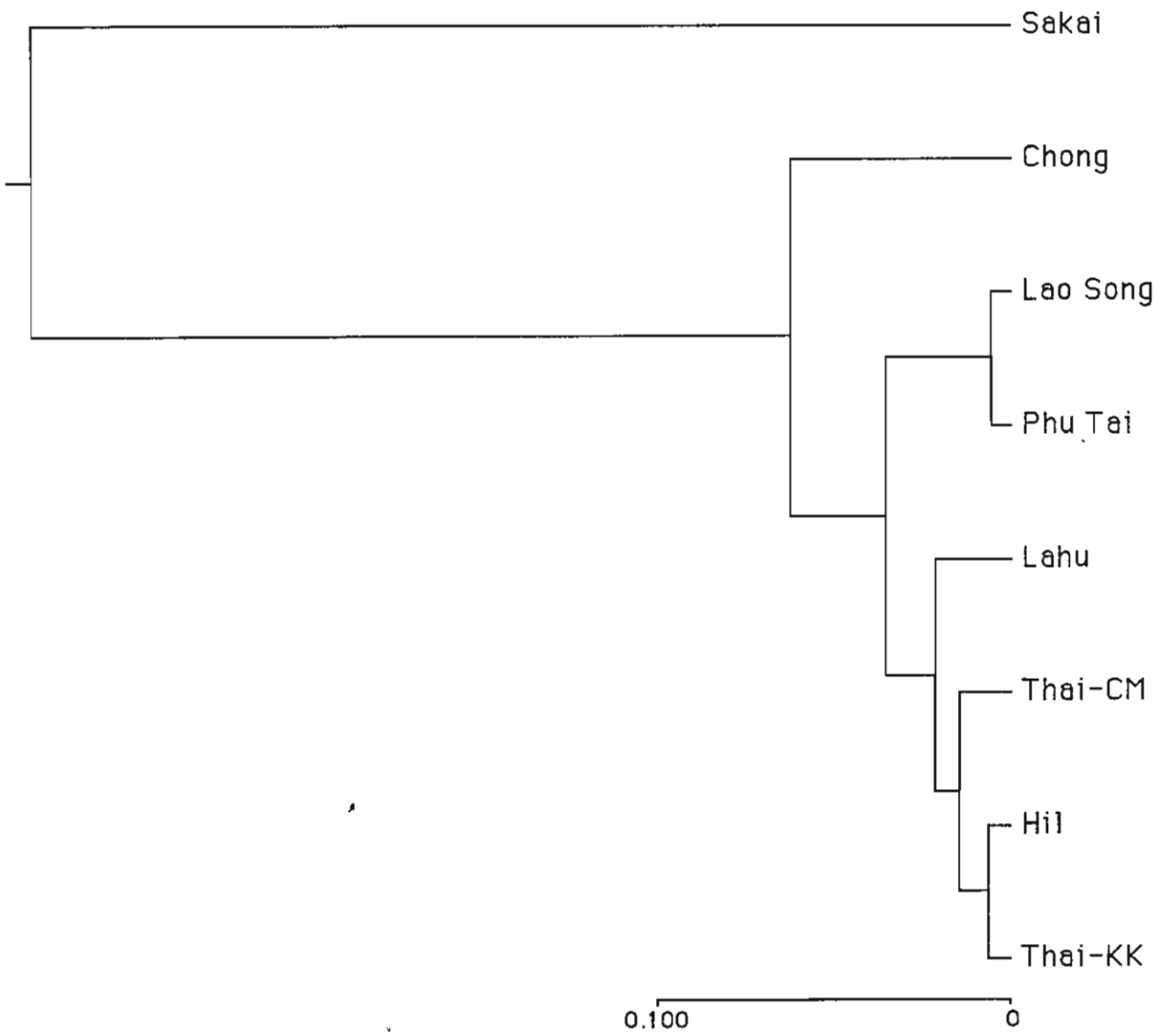

Figure 7 UPGMA Phylogenetic dendogram ,showing the relationships of the 8 groups based on d_A(x100) distances.
CH = Chong , HIL = Hill Tribe;Lisu , HIM = Hill Tribe;Musur ,
LAS = Lao Song , PHT = Phu Tai , SAK = Sakai ,
CM = Chiang Mai , KK = Khon kaen

วิจารณ์และสรุปผลการศึกษา

จากผลการตรวจวิเคราะห์ชนิดฮีโมโกลบินในชนกลุ่มน้อย 5 กลุ่ม ที่มีภูมิลำเนาอยู่ในภูมิภาคต่าง ๆ ของประเทศ พบฮีโมโกลบิน อี (HbE) ซึ่งเป็นฮีโมโกลบินผิดปกติที่มีอุบัติการสูงในประเทศไทยในทุกกลุ่มชน ดังแสดงในตารางที่ 1 ซึ่งเมื่อคำนวณเป็นความถี่ของยีน HbE ที่ตรวจพบในกลุ่มคน ซาไก ชอง ไทยภูเขา ผู้ไทย และลาวโซ่ง จะเท่ากับ 0.06, 0.60, 0.01, 0.31 และ 0.05 ตามลำดับ ซึ่งกลุ่มชนที่พบความถี่ของยีน HbE สูงคือกลุ่มคนชอง ซึ่งมีภูมิลำเนาอยู่ที่ตำบลคลองพลู อำเภอมะขาม จังหวัดจันทบุรี ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทยติดกับประเทศเขมร ซึ่งถ้าคิดเป็นร้อยละของประชากรที่ตรวจพบ HbE จะเท่ากับร้อยละ 84 ซึ่งนับว่าสูงที่สุดนับแต่มีรายงานมา นอกจากนี้จากการศึกษายังพบว่ามีโฮโมไซโกทมากด้วย และอีกกลุ่มคือคนผู้ไทย ซึ่งมีภูมิลำเนาอยู่ที่อำเภอคำชะอี จังหวัดมุกดาหาร ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทยติดกับประเทศลาว (รูปที่ 1) พบร้อยละ 51.6 ของประชากร ซึ่งเป็นการพบ HbE ในกลุ่มประชากรที่สูงมาก และสูงที่สุดเท่าที่เคยมีรายงานมาก่อนหน้านี้ในกลุ่มคนโซ่ จังหวัดสกลนคร ซึ่งพบร้อยละ 74 (47) และสอดคล้องกับการศึกษาของ สุภา ณ นคร และคณะ ที่พบอุบัติการของ HbE สูง ในกลุ่มประชากรที่อาศัยอยู่บริเวณรอยต่อของประเทศไทย ลาว กัมพูชา และให้ชื่อบริเวณที่พบ HbE สูงนี้ว่า "สามเหลี่ยม HbE" (Hb Triangle) (18) ส่วนในกลุ่มชนอื่นอีก 3 กลุ่ม คือ ไทยภูเขา ในเขตอำเภอเชียงดาว จังหวัดเชียงใหม่ ภาคเหนือของประเทศไทย กลุ่มคนซาไก ในเขตอำเภอปะเหลียน จังหวัดตรัง ภาคใต้ของประเทศไทย และกลุ่มคนลาวโซ่ง ในตำบลบางกุ้ง อำเภอเมือง จังหวัดสุพรรณบุรี ภาคกลางของประเทศไทย พบความถี่ของยีน Hb E ต่ำมาก คือน้อยกว่า 0.1 หรือร้อยละ 8.6 ซึ่งน้อยกว่าอุบัติการที่รายงานในกลุ่มประชากรไทยทั่วไป คือร้อยละ 13.00 (2)

เมื่อทำการศึกษาบีตา-โกลบินยีนแฮพโพลไทป์ของกลุ่มชนทั้ง 5 กลุ่มนี้ ทั้งโครโมโซมที่เป็น β^A และ β^E โกลบินยีนพบว่า β^A โกลบินยีน จะสัมพันธ์ 5' haplotype ชนิด (+ - - - -) มากที่สุดในทุกกลุ่มชน ซึ่ง 5' haplotypes ชนิดนี้ได้ถูกเสนอโดย Chen และคณะ (48) ว่าเป็น 5'haplotypes ดั้งเดิมชนิดหนึ่ง (ancestral) ซึ่งมีรายงานความถี่สูงทั้งคนเอเชีย และยุโรป โดยมีรายงานน้อยมากในคน african (49) โดยที่ 5' haplotype (framework) นั้นพบในทั้ง 3 framework ในทุกกลุ่มชน แต่สำหรับ β^E โกลบิน ยีน นั้น จะสัมพันธ์กับ 5' haplotypes ชนิด (- + - + +) มากที่สุด สอดคล้องกับการศึกษาของหลายคณะซึ่งพบว่า 5' haplotypes ชนิดนี้สัมพันธ์กับ HbE ในกลุ่มประชากรแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ (7,50,51) ส่วน framework นั้น β^E จะสัมพันธ์กับ framework 2 (AvaII + Bam HI -) ในทุกกลุ่มชน ยกเว้นกลุ่มคนชองที่จะสัมพันธ์กับ framework 3 (AvaII - Bam HI +) มากกว่า ซึ่ง framework 3 นี้ เคยมีรายงานเฉพาะในกลุ่มคนเขมรของประเทศกัมพูชาเท่านั้น (21, 51) (ตารางที่ 2 และ 3)

จากผลการศึกษาอุบัติการของ HbE และ β^E โกลบิน ยีน แฮพโพลไทป์นี้ทำให้ได้ข้อสรุปว่า ในชนกลุ่มน้อยที่มีความถี่ของยีน HbE ต่ำ และ β^E-globin gene haplotypes และ framework ที่ตรวจพบนั้นก็คล้ายกับของประชากรไทยทั่วไป จึงเชื่อว่า HbE ในกลุ่มชนเหล่านั้นน่าจะได้รับการแพร่กระจายเข้าไปจากกลุ่มประชากรไทยทั่วไปที่เข้าไปปะปนแล้วแต่งงานกับกลุ่มชนดังกล่าวมานานแล้ว ซึ่งไม่สามารถสืบประวัติได้ ดังเช่นในกลุ่มคนไทยภูเขาซึ่งจากรายงานที่ผ่านมา (15) ไม่พบ HbE เลย แต่ในการศึกษาครั้งนี้เราพบพาหะ HbE 2 รายในเผ่าลีซอ และมูเซอ ส่วนประชากรไทยทั่วไปก็น่าจะได้รับการกระจายของยีน HbE แพร่เข้าไปจากชนกลุ่มน้อยที่มีอุบัติการของ HbE สูง คือกลุ่มชอง และผู้ไทย ซึ่ง 2 กลุ่มชนที่มี HbE สูงนี้กลับพบว่ามี β^E globin gene framework ที่ต่างกัน จึงเชื่อว่า β^E ของกลุ่มคนชอง และผู้ไทยนี้น่าจะมี origin ที่ต่างกัน (21) ดังนั้นการศึกษาต่อไปในชนกลุ่มน้อยที่อยู่ในภูมิภาคที่มีความถี่ของยีน HbE สูง โดยเฉพาะในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทยทั้งอิสานเหนือและอิสานใต้ก็น่าจะให้ข้อมูลในเรื่องการกระจาย และแหล่งกำเนิดของ HbE ในประชากรไทยได้ชัดเจนยิ่งขึ้น

ในการศึกษาครั้งนี้ผู้วิจัยได้ใช้ genetic marker อีกชนิดหนึ่งคือ mtDNA polymorphism มาทำการศึกษาในชนกลุ่มน้อยทั้ง 5 กลุ่มเพื่อดูความสัมพันธ์ของกลุ่มชนที่ทำการศึกษานี้ด้วย ซึ่ง genetic marker นี้มีข้อดีคือจะตัดปัญหาในแง่ของ DNA recombination ได้ เพราะถ่ายทอดทางพันธุกรรมผ่านทางแม่เท่านั้น โดยทำการศึกษา เปรียบเทียบ กับกลุ่มคนไทยทั่วไปในภาคเหนือจากจังหวัดเชียงใหม่ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือจากจังหวัดขอนแก่นด้วยโดยmtDNA polymorphism ที่ศึกษาทำการศึกษามี 2 ชนิด คือ asian specific 9bp deletion และ mtDNA polymorphism ในส่วน D-loop major noncoding region ซึ่งผลการศึกษา asian specific 9bp deletion พบความถี่ของ polymorphism ชนิดนี้ในกลุ่มประชากรที่ทำการศึกษามีค่าใกล้เคียงกัน คือพบในช่วงร้อยละ 20.0-34.5 ซึ่งใกล้เคียงกับที่เคยมีรายงานในกลุ่มคนจีน แต่สูงกว่าในกลุ่มคนญี่ปุ่น (44) ยกเว้นกลุ่มเดียวที่ทำการศึกษาในครั้งนี้ไม่พบ polymorphism นี้เลยคือ กลุ่มคนซาไก ซึ่งไปคล้ายกับกลุ่มคน Australia, Pupua new guinea, African และ European (32,45) ซึ่งตัวเลขความถี่ของ 9bp deletion ของแต่ละกลุ่มประชากรนี้สามารถบอกความสัมพันธ์ของกลุ่มประชากรได้คร่าว ๆ ระดับหนึ่งเท่านั้น ซึ่งผลสรุปด้วย polymorphism นี้บอกได้เพียงว่ากลุ่มคนซาไกมีความแตกต่างกับกลุ่มชนอื่น ๆ ที่ทำการศึกษามาก

mtDNA polymorphism ที่ให้ข้อมูลในเรื่องความสัมพันธ์ระหว่างกลุ่มชนได้มากกว่า คือ polymorphism ในส่วน D-loop major noncoding region ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้ได้ทำการศึกษาในชนกลุ่มน้อยทั้ง 5 กลุ่ม โดยกลุ่มไทยภูเขาทำใน 2 เผ่า แล้ววิเคราะห์ข้อมูลแยกกันคือ มูเซอ(ลาหุ) และลีซอ และนอกจากนี้ยังได้ทำการวิเคราะห์ข้อมูลเปรียบเทียบกับกลุ่มคนไทยทั่วไปในจังหวัดขอนแก่น และเชียงใหม่ด้วย รวมทำการศึกษาและวิเคราะห์ข้อมูลเปรียบเทียบกันทั้งหมด 8 กลุ่มชน

โดยเทียบลำดับเบสที่ sequence ได้กับ reference sequence ของ Anderson S (28) และเปรียบเทียบกันระหว่างตัวอย่างที่ทำการศึกษาทั้งหมด 215 ตัวอย่างโดยทำการเปรียบเทียบทั้งหมด 560 คู่เบสในส่วน D-loop major noncoding region เพื่อดูจำนวน nucleotide substitution ระหว่างแต่ละคู่ของตัวอย่างที่ทำการเปรียบเทียบ เพื่อนำไปคำนวณค่า nucleotide diversity ของแต่ละคน แล้วสร้างเป็น phylogenetic tree ด้วยวิธี NJ (42) ดังแสดงในรูปที่ 6 ซึ่งสามารถจำแนกออกได้ตามสาขาที่แตกออก (branching pattern) ได้เป็น 8 กลุ่ม (cluster) โดยแต่ละกลุ่มจะมีอย่างน้อย 1 polymorphic site ที่จะพบร่วมกัน และแตกต่างจาก cluster อื่นๆ แต่ละ cluster จึงเปรียบเสมือนเป็น บรรพบุรุษของแต่ละเชื้อสายที่แตกแยกออกไป โดยในตารางที่ 6 ได้แสดงให้เห็นถึงร้อยละของกลุ่มชนที่กระจายอยู่ในแต่ละ Monophyletic cluster ซึ่งจะเห็นว่าคนไทยทั่วไปจากจังหวัดขอนแก่นจะพบกระจายทั่วไปในทุก cluster รองลงมาจะเป็นคนไทยจากจังหวัดเชียงใหม่ และกลุ่มคนผู้ไทย ส่วนชนกลุ่มน้อยกลุ่มอื่น ๆ จะพบจำเพาะอยู่ในบาง cluster เท่านั้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งกลุ่มซาไก พบอยู่ใน 2 cluster เท่านั้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งใน cluster ที่ 6 ซาไกจะเป็นกลุ่มชนหลักใน cluster นั้น ส่วน cluster ที่ 5 ก็จะมีชองเป็นกลุ่มชนหลัก แสดงให้เห็นว่าซาไกและชองนั้นเป็นกลุ่มชนที่มีความสัมพันธ์กับกลุ่มชนอื่น ๆ น้อย และน่าจะมีแหล่งกำเนิดที่ต่างกัน

นอกจากนี้ยังได้ทำการศึกษา nucleotide diversity ภายในกลุ่มชน (d_x or d_y) ระหว่างกลุ่มชน (d_{xy}) และ net nucleotide diversity (d_A) ระหว่างกลุ่มชนที่ทำการศึกษาทั้ง 8 กลุ่ม ดังแสดงในตารางที่ 5 โดยพบว่าตัวเลข nucleotide diversity ของแต่ละกลุ่มชนมีความใกล้เคียงกัน ยกเว้นกลุ่มซาไกที่มีค่าต่ำแตกต่างจากกลุ่มอื่น และเมื่อเทียบค่า d_{xy} และ d_A ของซาไกกับกลุ่มอื่น ๆ ก็พบว่ามีค่าสูงในทุกคู่ ส่วนค่า d_A ที่ใกล้เคียงศูนย์หรือมีค่าต่ำมากซึ่งแสดงถึงพันธุกรรมที่ใกล้เคียงกันมากคือระหว่างกลุ่มมูเซอ(ลาหุ) และลีซอ รวมไปถึงไทยขอนแก่นและไทยเชียงใหม่ ซึ่งจะเห็นภาพชัดเจนขึ้นเมื่อนำไปสร้างเป็น phylogenetic dendrograms ด้วยวิธี UPGMA (43) ดังแสดงในรูปที่ 7 ซึ่งจะเห็นความชัดเจนว่า ซาไก และ ชอง มี origin ที่ต่างจากกลุ่มอื่น ส่วนลาวโซ่ง และผู้ไทยนั้นมีบรรพบุรุษที่สัมพันธ์กัน สอดคล้องกับข้อมูลทางประวัติศาสตร์ ที่เชื่อว่า ลาวโซ่ง เป็นกลุ่มคนไทยกลุ่มเดียวกับกลุ่มคนผู้ไทย และพวน ที่อพยพมาจากดินแดนล้านช้าง หลวงพระบาง และแคว้นสิบสองจุไทยมากกว่าสองพันปีแล้ว (52) และที่น่าสนใจคือ กลุ่มคนไทยทั่วไปในจังหวัดขอนแก่นและเชียงใหม่ มีบรรพบุรุษที่สัมพันธ์กับกลุ่มคนไทยภูเขา ทั้งลีซอ และมูเซอ (ลาหุ) ซึ่งชาวเขา 2 เผ่านี้จัดอยู่ในกลุ่มเดียวกัน คือ กลุ่ม จีน-ทิเบต (Sino-Tebetan stock) โดยอพยพมาจากจีน พม่า และลาว เข้าสู่ดินแดนของประเทศไทย (53)

Table 6 The distribution of each ethnic groups in each nonophyletic cluster of phylogenetic tree

Cluster	CH (%)	HIL (%)	HIM (%)	LAS (%)	PHT (%)	SAK (%)	CM (%)	KK (TH)	Total (n)
1	6.9	13.8	24.1	6.9	17.2	0	17.2	13.8	29
2	3.8	11.5	15.4	15.4	15.4	0	17.3	21.2	52
3	22.0	4.9	0	24.4	4.9	0	7.3	36.6	41
4	0	33.3	6.7	0	13.3	0	0	46.7	15
5	50.0	0	0	0	20.0	20.0	0	10.0	10
6	11.8	0	0	2.9	0	52.9	26.5	5.9	34
7	25.0	0	0	33.4	0	0	25.0	16.6	12
8	0	36.4	22.7	0	27.3	0	4.5	9.1	22
								Total	215

CH = Chong HIL = Hill Tribe;Lisu HIM = Hill Tribe;Musur LAS = Lao Song PHT = Phu Tai SAK = Sakai

CM = Chiang Mai KK(TH) = Khon kaen

กล่าวโดยสรุปข้อมูลทางพันธุกรรมทั้งในส่วน β-globin gene haplotypes ของ nuclear DNA และ mtDNA Polymorphism ให้ข้อมูลด้านประชากรพันธุศาสตร์ที่น่าสนใจ ซึ่งถึงแม้จะต่างมุมมองกันแต่ก็พบว่าข้อมูลบางส่วนมีความสอดคล้องกันชัดเจนดังนี้ คือ

1. กลุ่มคนชองกับกลุ่มคนผู้ไทย ซึ่งถึงแม้จะมีความถี่ของยีนฮีโมโกลบินอีสูงเช่นกัน แต่ผล mtDNA Polymorphism พบว่ามีความสัมพันธ์กันน้อย เช่นเดียวกับผล β^{E}-globin gene haplotypes ที่บ่งบอกว่า 2 กลุ่มนี้มี origin ของ HbE ที่ต่างกัน

2. กลุ่มคนผู้ไทยและลาวโซ่ง ซึ่งมีความถี่ของยีนฮีโมโกลบินอีแตกต่างกัน แต่ผลผล β^{E}-globin gene haplotypes มี origin ที่เหมือนกัน และผล mtDNA Polymorphism ก็ยืนยันว่ากลุ่มคนผู้ไทยมีความสัมพันธ์กับกลุ่มคนลาวโซ่งมากกว่ากลุ่มคนชอง

จากการศึกษาทั้งหมดที่กล่าวมาทำให้ได้ข้อมูลด้านประชากรพันธุศาสตร์ที่มากขึ้น และเริ่มที่จะเห็นภาพประวัติศาสตร์ชนชาติไทยได้ชัดเจนขึ้น อย่างไรก็ตามหากได้มีการศึกษาข้อมูลทางพันธุกรรมทั้งในส่วน β-globin gene haplotypes และmtDNA Polymorphism ให้คลอบคลุมในกลุ่มชนอื่นๆ ของประเทศไทยยิ่งมากกลุ่มขึ้นเท่าใดก็น่าจะทำให้ได้ข้อมูลอันจะนำไปสู่ความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับความเป็นมาของประวัติศาสตร์ชนชาติไทยได้ชัดเจนมากยิ่งขึ้นเท่านั้น

เอกสารอ้างอิง

1. Weatherall DJ, Clegg JB. The thalassemia syndromes. 3rd. edition, Blackwell Scientific Publications, 1981.
2. Wasi P. Hemoglobinopathies in Southeast Asia. In Bowman JE ed. Distribution and Evolution of hemoglobin and globin loci. Elsevier Science Publishing Co., Inc. 1983; 179-208.
3. Wasi P, Pootrakul S, Suingdumrong A. Studies on the distribution of hemoglobin E, thalassemias and glucose 6 phosphate dehydrogenase deficiency in North-Estern Thailand. Nature 1967; 214 : 501-2.
4. ศรีศักดิ์ วัลลิโภดม สุจิตต์ วงษ์เทศ. ไทยน้อย ไทยใหญ่ ไทยสยาม. ศิลปวัฒนธรรม ฉบับพิเศษ สำนักพิมพ์มติชน 2534.
5. Antonarakis SE, Boehm CD, Giardana PJV, Kazazian HHJr. Nonrandom association of polymorphic restriction sites in the β-globin gene cluster. Proc Natl Acad Sci USA 1982; 9: 137-141.
6. Honig GR, Adams JG. Human hemoglobin genetics. Springer-Verlag Wein New York, 1986: 48-50.
7. Yongvanit P, Sriboonlue P, Mularlee N, et al. DNA haplotypes and frameworks linked to the β-globin locus in an Austro-Asiatic population with a high prevalence of hemoglobin E. Hum Genet 1989; 83: 171-4.
8. Fuchroen Sp, Fucharoen G, Sriroongrueng W, et al. Molecular basis of β-thalassemia in Thailand: analysis of β_{γ}thalassemia mutation by the polymerase chain reaction. Hum Genet 1989; 84: 41-6.
9. Fucharoen G, Fucharoen Sp, Jetsrisuparb A, Fukumaki Y. Molecular basis of HbE-β-thalassemia and the originof HbE in northeast Thailand : identification of one novel mutation using amplified DNA from buffy coat specimen. Biochem Biophys Res Commun 1990;170:698-704.
10. Thein SL, Winichagoon P, Hesketh C, et al. The molecular basis of β-thalassemia in Thailand: application to prenatal diagnosis. Am J Hum Genet 1990; 47: 369-75.
11. Laig M, Sanguansermsri T, Wiangnon S, et al. The spectrum of β-thalassemia mutations in northern and northeastern Thailand. Hum Genet 1989; 84: 47-50.

12. Fukumaki Y, Fucharoen Sp. Generation and spread of globin gene mutations in populations: β-thalassemia in Asian Countries. In Kimura M, Takahata N (eds.) New Aspects of the Genetics of Molecular Evolution 1991; 153-176.

13. Cann RL, Stoneking M, Wilson AC. Mitochondrial DNA and human evolution. Nature 1987; 325: 31-6.

14. Na-Nakorn S, Minnich V, Chernoff AI. Studies of hemoglobin E. II. The incidence of hemoglobin E in Thailand. J Lab Clin Med. 1956; 47: 490-8.

15. Flatz G, PiK C, Sringam S. Haemoglobin E and β-thalassemia: their distribution in Thailand. Ann Hum Genet 1965; 29:151-70.

16. Na-Nakorn S. Hemoglobinophathies in Thailand. In Jonxis JHP, Delafresnaye JF. (eds.) Abnormal hemoglobin. Oxford Blackwell Scientific Publications, 1959; 357-367.

17. Baup H. Frequency of hemoglobin E in Laos. Med Trop 1964; 24: 51-60.

18. Na-Nakorn S, Wasi P. The distribution of hemoglobin E: hemoglobin E triangle in South-east Asia. J Med Assoc Thai 1978; 61:65.

19. Lie-Injo LE. Distribution of genetic red cells defects in Southeast Asia. Trans Roy Soc Trop Med Hyg 1969; 63: 664-74.

20. Kan YW, Dozy AM. Polymorphism of the DNA sequence adjacent to the β-globin structural gene: relationship to sickle mutation. Proc Natl Acad Sci USA 1978; 75: 5671-5.

21. Long JC, Chakravarti A, Boehm CD, Antonarakis S, Kazazian HHJr. Phylogeny of human β-globin haplotypes and its implication for recent human evolution. Am J Phys Anthropol 1990;81:113-30.

22. Bevilaqua LRM, Mattevi VS, Ewald GM, et al. Beta-globin gene cluster haplotype distribution in five Brazilian Indian Tribes. Am J Phys Anthropol 1995;98:395-401.

23. Chan V, Chan TK, Chehb FF, Todd D. Distribution of β-thalassemia mutation in South China and their association with haplotype. Am J Hum Genet 1987; 41: 678-85.

24. Antonarakis SE, Kang J, Lam VMS, et al. Molecular characterization of β-globin gene mutations in patients with β-thalassemia intermadia in South China. Br J Haematol 1988; 70:357-61.

25. Antonarakis SE, Orkin SH, Kazazian HHJr, et al. Evidence for multiple origin of the β^E-globin gene in Southeast Asia. Proc Natl Acad Sci USA 1982; 79: 6608-11.

26. Fairbanks VF, et al. Hemoglobin E trait reexamined : a cause of microcytosis and erythrocytosis. Blood 1979; 53: 109-15.

27. Bowman JE, et al. Hemoglobin and red cell enzyme variation in some populations of the Republic of Veitnam with comments in the malaria hypothesis. Am J Phys Anthropol 1971; 34: 313-24.

28. Anderson S, Bankier AT, Barrell BG, et al. Sequence and organization of the human mitochondrial genome. Nature 1981; 290: 457-64.

29. Horai S, Gojobori T, matsunaga E. Mitochondrial DNA polymorphism in Japanese. Hum Genet 1984; 68: 324-32.

30. Vigilant L, Pennington R, Harpending H, Kocher TD, Wilson A. Mitochondrial DNA sequences in single hairs form a southern African population. Proc Natl Acad Sci USA 1989; 86: 9350-4.

31. Torroni A, Schurr TG, Cabell MF, et al. Asian affinities and continental radiation of the four founding native American mtDNA. Am J Hum Genet 1993; 53: 563-90.

32. Hertzberg M, Micklesson KNP, Serjeantson SW, Prier JF, Trent RJ. An asian specific 9 bp deletion of mitochondrial DNA is frequently found in polynesians. Am J Hum Genet 1989; 44:504-10.

33. Saiki RK, Gelfand DH, Stoffel SJ, et al. Primer directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. Science 1988; 239: 487-91.

34. Kocher TD, Thomas WK, Meyer A, et al. Dynamics of mt DNA evolution in animals: amplification and sequencing with conserved primers. Proc Natl Acad Sci USA 1989; 86: 6196-200.

35. Harihara S, Saitou N, Hirai M, et al. Mitochondrial DNA polymorphism among five Asian population. Am J Hum Genet 1988; 43: 134-43.988

36. Wrischnik LA, Higuchi RG, Stoneking M, et al. Length mutations in human mitochondrial DNA: direct sequencing of enzymatically amplified DNA. Nucleic Acids Res 1987; 15: 529-42.

37. Horai S, Hayasaka K. Intraspecific nucleotide sequence difference in the major noncoding region of human mitochondrial DNA. Am J Hum Genet 1990; 46: 828-42.

38. Wood WG . Hemoglobin analysis . In : Weatherall DJ , ed. The Thalassemia . Churchill Livingstone : London , 1983 : 31-53 .

39. Fucharoen Sp. Amplification of β-globin gene sequences by the PCR . Manual of laboratory diagnosis of thalassemia and hemoglobinopathies including prenatal diagnosis . Jakarta, September 15-18,1992.

40. กุลนภา ฟู่เจริญ, สุพรรณ ฟู่เจริญ, Satoshi Horai. An asian specific 9bp deletion of mitochondrial DNA in North and Northeast Thai population. บทคัดย่อการประชุมสัมมนาวิชาการพันธุศาสตร์ ครั้งที่ 9 ณ โรงแรมปางสวนแก้ว จ.เชียงใหม่ 22-24 มีนาคม 2538.

41. Horai S, Murayama K, Hayasaka K, et al. mtDNA polymorphism in east asian populations , with special reference to the peopling of Japan . Am J Hum Genet 1996;59:579-90.

42. Saito N, Nei M. The neighbor-joining method : a new method for constructing phylogenetic trees. Mol Biol Evol 1987 ; 4 : 406-25.

43. Nei M. Molecular evolutionary genetics . Columbia University Press , New York . 1987 : 406-25.

44. Horai S. A genetic trial of human mitochondrial DNA. In : Mukohata Y(ed). New era of bioenergetics. Academic Press, Tokyo 1991; 273-99.

45. Koji Lum J, Rickards O, Ching C, Cann RL. Polynesian mitochondrial DNA reveal three deep maternal lineage cluster. Hum Biol 1994; 66:567-90.

46. Barrientons A, Casademont J, Solans A, et al. The 9bp deletion in region V of mitochondrial DNA : evidence of mutation recurrence. Hum Genet 1995; 96:225-8.

47. Sriboonlue P, Prasongwatana V, Prasongwatana J, et al. Hb E frequencies of Pootai and So tribes , Northeast Thailand. J Med Ass Thailand 1985; 68 : 130-2.

48. Chen LZ, Easteal S, Board PG, Kirk RL. Evolution of β-globin haplotypes in human population. Mol Biol Evol 1990; 7 : 423-37.

49. Flint G, Harding RM, Boyce AJ, Clegg JB. The population genetics of the hemoglobinopathies. Bailliere's Clin Haematol 1993 ; 6: 215-62.

50. Kazazian Hhjr, Waber PG,Boehm CD, Lee JI, Antonarakis Se, Fairbanks VF. Hemoglobin E in Europeans: further evidence for multiple origin of β^{E}-globin gene. Am J Hum Genet 1984; 36: 212-7.

51. Hundrieser J, Sansguansermsri T, Papp T, Liag M, Flatz G. β-globin gene linked DNA haplotypes and frameworks in three South-East Asian population . Hum Genet 1988; 80:90-4.

52. ม. ศรีบุษรา . ไทยดำรำพัน . กรุงเทพ : สำนักพิมพ์บรรณกิจ. 2522 : 108-33.

53. สายเมือง วิริยศิริ . ชาวเขาในประเทศไทย. องค์การค้าคุรุสภา . 2529 : 1-53 .

Research Output

****

1. Publication ในวารสารวิชาการระดับนานาชาติ

1.1 **Fucharoen G**, Fucharoen Sp, Wilai Y, Chinoluk P, Khunsuk S, Sanchaisuriya K, Sae-ung N. *Beta globin gene haplotypes in some minor ethnic groups in Thailand*. Southeast Asian J Trop Med Pub Hlt (in press)

2. Publication ที่คาดว่าจะตีพิมพ์ในวารสารวิชาการระดับนานาชาติ

2.1 **Fucharoen G** , Fucharoen Sp , Horai S . *β^E-globin gene haplotypes and mitochondrial DNA polymorphisms in five minor ethnic groups of Thai population* . Hum Genet (submitted)

2.2 **Fucharoen G** , Fucharoen Sp , Sanchaisuriya K, Sae-ung N. *Thalassemia and hemoglobinopathies in five minor ethnic groups from various part of Thailand.* . Acta Hematol (submitted)

3. การจดทะเบียนสิทธิบัตร

-

4. การเสนอผลงานในที่ประชุมวิชาการ

4.1 **Fucharoen G**, Fucharoen Sp, Horai S. *An asian specific 9 bp deletion of mitochondrial DNA in north and northeast Thai population.* Paper presented at the 9th National meeting of the Genetic Society of Thailand, 22-24 March, 1995, Chiangmai, Thailand.

4.2 **Fucharoen G**, Fucharoen Sp, Wilai Y, et al. *Beta-globin gene haplotypes in some minor ethnic groups in Thailand.* Paper presented at the "PSU-ICMR symposium" 25-26 July1996, Songkla Thailand.

4.3 Horai S, Tsugane K, Fugita Y, **Fucharoen G**, Fucharoen Sp, Sudoyo H, Marzuki S.*Mitochondrial DNA polymorphism in Southeast Asian population with special reference to the peopling of Asia*. Paper presented at the "PSU- ICMR symposium" 25-26 July,1996, Songkla Thailand.

4.4 **Fucharoen G**, Fucharoen Sp, Wilai Y, et al. *Types of hemoglobin, β^E-globin gene frameworks and mtDNA polymorphism in some ethnic groups of Thailand.* Peper presented at the 22nd Congress on Science and Technology of Thailand, 16-18 Oct,1996, Bangkok Thailand.

4.5 **Fucharoen G**, Fucharoen Sp, Sanchaisuriya K, Sae-ung N. *Thalassemia and hemoglobinopathies among Phutai in Mukdaharn province*. Peper presented at the 4th Annual conference on the Prevention and Control of Thalassemia , 21-22 November 1996 Khon Kaen, Thailand.

4.6 **Fucharoen G**, Fucharoen Sp, Sanchaisuriya K, Sae-ung N. *Distribution and haplotypic heterogeneity of β^E - globin gene among five indigenous Thai populations.* Paper presented at the 6th International

Conference on Thalassemia and the Hemoglobinopathies ,5-10 April, 1997, Malta.

4.7 **Fucharoen G** , Fucharoen Sp , Horai S . *β^E-globin gene haplotypes and mitochondrial DNA polymorphisms in five minor ethnic groups of Thai population* . Paper presented at the Third Asia-Pacific Conference on Medical Genetics, 2-4 Dec,1997,Kuala Lumpur ,Malaysia.

5.Publication ในวารสารวิชาการในประเทศ

5.1 Ayukarn K , **Fucharoen G** , Fucharoen Sp. *Thalassemia and hemoglobinopathies among Lao Song in Suphanburi province* . J Med Tech Phy Ther 1996; 8 :149-54.

OUTPUTGF.DOC

30/11/97