บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1. เภสัชพันธุศาสตร์ (pharmacogenetics หรือ pharmacogenomics) [1]

เภสัชพันธุศาสตร์ เป็นศาสตร์แขนงหนึ่งที่ใช้ในการศึกษาถึงความหลากหลายทางพันธุกรรมของจีโนมมนุษย์ (polymorphisms) ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการต่างๆ ครอบคลุมตั้งแต่การพยากรณ์ความเสี่ยงต่อการเกิดโรค การป้องกันโรค การตอบสนองต่อยา การเลือกใช้ยาและขนาดยาที่เหมาะสม การค้นหายาใหม่ การพัฒนายาใหม่ และการค้นหายาขนานใหม่ที่เหมาะสมเฉพาะกลุ่มประชากร ซึ่งสิ่งเหล่านี้มาจากองค์ความรู้พื้นฐานว่า มนุษย์แต่ละคนมีความแตกต่างกันของรหัสดีเอ็นเอในยีนที่เกี่ยวข้องกับวิถีพยาธิกำเนิดของโรค (pathogenesis pathways) ยีนที่เกี่ยวข้องกับการออกฤทธิ์ของยาหรือเภสัชพลศาสตร์ (pharmacodynamics) และยีนที่เกี่ยวข้องกับเภสัชจลนศาสตร์ (pharmacokinetics) การทราบความแตกต่างเหล่านี้โดยละเอียด ย่อมจะนำไปสู่การเลือกใช้ยาตามความเหมาะสมกับโรค สาเหตุของโรค การเลือกขนาดยาที่เหมาะสมเพื่อให้เกิดประโยชน์ในการรักษาสูงสุด และลดอาการอันไม่พึงประสงค์จากการใช้ยากับผู้ป่วย อย่างไรก็ตามการประยุกต์ใช้ความรู้ทางเภสัชพันธุศาสตร์ในเวชปฏิบัติ มีความจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องมีการศึกษาวิจัยเพิ่มเติมเกี่ยวกับอิทธิพลของยีนที่ทำให้เกิดลักษณะทางคลินิก และการตอบสนองต่อยา ในแง่ของความจำเพาะของความแปรผันทางพันธุกรรมในแต่ละเชื้อชาติ ไม่เพียงแพทย์เท่านั้นที่ต้องมีการปรับตัวให้ทันกับความก้าวหน้าที่เกิดขึ้น บุคลากรอื่นๆ ทางสาธารณสุข นักวิจัยสาขาต่างๆ จำเป็นต้องอาศัยความรู้บูรณาการในศาสตร์แต่ละแขนงมาประยุกต์ใช้ในงานด้านต่างๆ ในการดูแลผู้ป่วยในเวชปฏิบัติ เพื่อให้ได้มาซึ่งองค์ความรู้ที่จำเพาะของลักษณะทางพันธุกรรมในเชิงลึกจนนำไปประยุกต์ใช้ในเวชปฏิบัติได้

2.2. ความหลากหลายทางพันธุกรรมระหว่างปัจเจกบุคคล (genetic polymorphisms)

โครงการศึกษาจีโนมมนุษย์เป็นโครงการที่เกิดขึ้นโดยอาศัยความร่วมมือของหลายประเทศ เพื่อให้ได้ข้อมูลเกี่ยวกับแผนที่ของจีโนมมนุษย์ (genomic map) ทั้งในแง่ข้อมูลลำดับเบสในจีโนม (genome sequences) จำนวนและตำแหน่งของยีน ความแตกต่างทางพันธุกรรมในแต่ละเชื้อชาติ รวมทั้งแปลความหมายของลำดับเบสที่เกี่ยวข้องกับหน้าที่การทำงาน

ของยีนต่างๆ ในจีโนมมนุษย์ (functional genomics) โดยหวังว่าความรู้ดังกล่าวจะนำไปสู่ความเข้าใจถึงผลของยีนที่เกี่ยวข้องกับการเกิดโรคทางพันธุกรรมในแบบโรคยีนเดี่ยว (single gene disorder) โรคพันธุกรรมชนิดพหุปัจจัย (multi-factorial genetic diseases) รวมถึงปฏิกิริยาตอบสนองต่อยาที่แตกต่างกัน มนุษย์ไม่ว่าจะเป็นเชื้อชาติไหนก็ตามย่อมมีรหัสแห่งชีวิตที่เป็นลำดับเบสในดีเอ็นเอเหมือนกันทุกคน จะแตกต่างกันบ้างก็เพียงร้อยละ 0.1 ของลำดับเบสทั้งหมดในจีโนมเท่านั้น อย่างไรก็ดี เมื่อคิดเป็นตัวเลข จำนวนที่แตกต่างนี้นับว่าไม่ใช่น้อย กล่าวคือเป็นล้านเบส ความแตกต่างทางพันธุกรรมนี้เองที่ทำให้มนุษย์ ทุกคนมีเอกลักษณ์ที่เป็นของตนเอง ไม่มีทางเหมือนกับมนุษย์คนใดในโลก ยกเว้นแต่ว่าผู้นั้นจะมีฝาแฝดที่เป็นไข่ใบเดียวกัน (monozygotic twin) ความแตกต่างทางพันธุกรรมของมนุษย์ในแต่ละปัจเจกบุคคล เกิดจากความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์ในจีโนม ความแตกต่างนี้พบได้ในอัลลีลของยีนโลคัสใดโลคัสหนึ่งที่มีชนิดของอัลลีลมากกว่า 2 ชนิด หากอัลลีลชนิดที่พบน้อยกว่ามีความถี่มากกว่าร้อยละ 1 ของประชากร ความแตกต่างของอัลลีลเหล่านี้เรียกว่า ความหลากหลายทางพันธุกรรม (genetic polymorphisms) และตำแหน่งยีนนี้เรียกว่า polymorphic locus ในจีโนมของมนุษย์มี genetic polymorphism หลายแบบ ได้แก่ restriction fragment length polymorphism (RFLP), variable number of tandem repeats (VNTRs) polymorphism เป็นต้น [7]

2.3. พันธุกรรมกับความแตกต่างของปัจจัยทางเภสัชศาสตร์ [1]

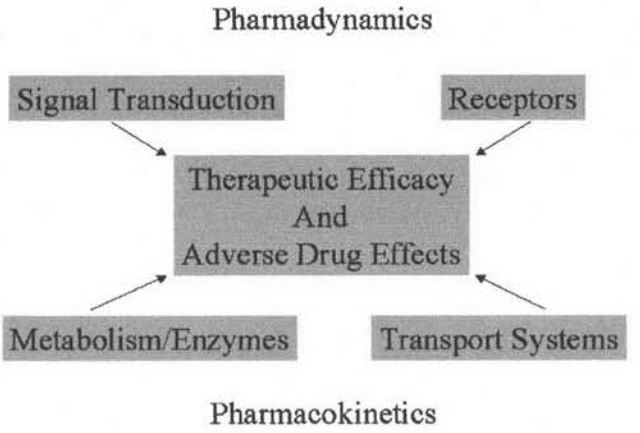
การศึกษาเกี่ยวกับ genetic polymorphisms ของยีนในเวชปฏิบัติจะเน้นเกี่ยวกับการศึกษาเกี่ยวกับผลของ genetic polymorphisms ต่อการเกิดโรค (disease susceptibility genetics) และต่อการออกฤทธิ์ของยา (drug activity genetics) ขณะนี้เป็นที่ทราบแน่ชัดแล้วว่าความแตกต่างทางเภสัชพันธุศาสตร์ทั้งหมดเป็นผลประกอบขึ้นจากยีนหลายยีน (ที่เรียกว่า polygenic) หรือยีนกับสิ่งแวดล้อม (ที่เรียกว่า multifactorial) กล่าวได้ว่ายีนเกือบทุกยีนในจีโนมมนุษย์เกี่ยวข้องกับยา โดยที่ยาและเมตาบอไลต์ของยาสามารถมีปฏิสัมพันธ์กับผลผลิตของกลุ่มยีนที่เกี่ยวข้องกับปัจจัยทางเภสัชศาสตร์ แบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่ม คือ (รูปที่ 1)

2.3.1. ความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีนที่กำหนดปัจจัยทางด้านเภสัชจลนศาสตร์ (pharmacokinetics)

ได้แก่ ยีนที่เกี่ยวข้องกับการดูดซึมยา (drug absorption) ยีนของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการทำลายยา (drug metabolism) ซึ่ง

ทำให้เกิดความแตกต่างในกระบวนการเมตาบอลิสมของยา ส่งผลให้มีระดับยาสูงหรือต่ำในเลือดแตกต่างกันในแต่ละบุคคล

2.3.2. **ความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีนที่กำหนดปัจจัยทางด้านเภสัชพลศาสตร์ (pharmacodynamics)** ได้แก่ ยีนที่เกี่ยวข้องกับการเกิดโรค (disease associated genes) ยีนที่เป็นรหัสของโปรตีนตัวรับ (receptor) ทำให้เกิดความแตกต่างในการตอบสนองต่อยา (pharmacological effect) การดื้อยา (drug resistant) การพยากรณ์โรค (prognosis) ส่งผลให้การตอบสนองต่อยาของผู้ป่วยในแต่ละรายไม่เท่ากัน



รูปที่1. แสดงความสัมพันธ์ของผลการรักษา และการเกิดอาการไม่พึงประสงค์จากการใช้ยา [1]

2.4. ความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีนในวิถีเมตาบอลิสมของยา [1]

จุดประสงค์ของการให้ยาสำหรับรักษาผู้ป่วยก็คือ ให้ระดับยาในเลือดอยู่ในระดับที่ใช้ในรักษา (therapeutic range) ถ้าระดับยาต่ำไปการรักษาก็จะล้มเหลว (therapeutic failure) แต่ถ้าสูงไปก็อาจเป็นพิษ (toxic level) และเกิดปฏิกิริยาอันไม่พึงประสงค์จากยาได้เมื่อร่างกายได้รับยา ยาจะให้ผลการตอบสนองเมื่อไปถึงตำแหน่งที่ออกฤทธิ์ ซึ่งขึ้นอยู่กับคุณสมบัติทางเคมีกายภาพ (physicochemical properties) ของยา ได้แก่ ขนาดโมเลกุล อัตราการแตกตัว และคุณสมบัติการละลายของยา ที่มีผลต่อการดูดซึมยาเข้าสู่กระแสเลือด และการกระจายตัวไปยังตำแหน่งที่ยาออกฤทธิ์ ในขณะเดียวกันยาจะถูกเปลี่ยนแปลงโครงสร้างโมเลกุลด้วยระบบเอนไซม์ในตับ ซึ่งผลจากการเกิดกระบวนการ biotransformation จะทำให้ยาถูกเปลี่ยนแปลงได้เป็น 3 แบบ คือ

1. ยามีฤทธิ์แรงขึ้น หรือการเปลี่ยนยาในรูปแบบ prodrug ให้เป็น active drug
2. ทำให้ยาหมดฤทธิ์ (inactive metabolites) และ
3. ยาเปลี่ยนอยู่ในรูปเป็นสารที่ละลายน้ำได้ง่าย และสะดวกในการขับถ่ายยาออกทางไต

กระบวนการนี้เกิดขึ้นส่วนใหญ่ที่ตับ และ การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางเคมีของยาจะเกิดขึ้นได้เมื่อมีเอนไซม์ และ co-enzyme ร่วมในปฏิกิริยาด้วย โดยปฏิกิริยาทางเคมีในการเปลี่ยนแปลงยาในร่างกายมีขั้นตอนที่สำคัญอยู่ด้วยกัน 2 ขั้นตอน คือ การเปลี่ยนแปลงโมเลกุลของยาให้มีความเป็นขั้วมากขึ้นโดยอาศัย microsomal enzyme phase 1 biotransformation (oxidation/reduction reactions) ได้แก่ flavin monooxygenases, tissue esterases, dehydrogenases, และ cytochrome P450 และการเปลี่ยนแปลงของโมเลกุลของยาโดยการเข้าคู่กับ conjugating agent (phase 2 biotransformation)

2.4.1. การเปลี่ยนแปลงยาในวิถีเมตาบอลิสมที่ 1 (phase 1 metabolisms)

ดังที่ได้กล่าวมา เอนไซม์มีหน้าที่สำคัญในกระบวนการ biotransformation ของยา ระบบเอนไซม์นี้จะกระจายตัวอยู่ที่ smooth endoplasmic reticulum ของตับ เรียกว่า microsomal enzyme ยาจะถูกเปลี่ยนแปลงโดยกระบวนการ oxidation, reduction, hydrolysis หรือกระบวนการต่างๆ ร่วมกัน ขึ้นอยู่กับคุณสมบัติการละลายไขมันของยา เอนไซม์ cytochrome P450 เป็นกลุ่มเอนไซม์ที่มีหลายรูปแบบ (isotypes) เช่น CYP1A1, CYP1A2, CYP2A6, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP2E1 และ CYP3A4 เป็นต้น (http://drnelson.utmem.edu/CytochromeP450.html) มีหน้าที่ในการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่น และปฏิกิริยาอื่นๆ ให้โมเลกุลของยามีความเป็นขั้วมากขึ้น ในแต่ละ isotype มีความจำเพาะในการเปลี่ยนแปลงสารต่างชนิดกัน ทั้งหมดมีหน้าที่ควบคุมกระบวนการเปลี่ยนแปลงยาและสารเคมีที่ผ่านตับ เอนไซม์แต่ละชนิดมียีนที่ควบคุมการสร้างเอนไซม์เฉพาะเรียกว่า CYP gene ตามแต่ชนิดของเอนไซม์ที่เป็นรหัส ในแต่ละยีนมีความแตกต่างของรหัส หรืออัลลีล (allele) มากมายทั้งชนิดที่ทำหน้าที่ปกติ (wild-type), แบบปานกลาง (intermediate metabolizer; IM) และชนิดที่มีการทำหน้าที่เพิ่มขึ้นหรือลดลง (hyperfunctioning หรือ nonfunctioning alleles) ส่งผลให้เกิดภาวะที่เอนไซม์ทำหน้าที่มากกว่าปกติ (rapid metabolizer; RM, extensive metabolizer; EM หรือ ultra metabolizer; UM) หรือน้อยกว่าปกติ (poor metabolizer; PM) ตามลำดับ

(ความแตกต่างของอัลลีลในยีน CYP P450 ต่างๆ สามารถสืบค้นได้จาก: http://www.imm.ki.se/CYPalleles/) อัลลีลชนิดต่างๆ ในแต่ละยีนมีการกระจายที่แตกต่างกันในประชากรแต่ละเชื้อชาติ ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะทางพันธุกรรมของมนุษย์ ดังนั้นประชากรต่างเชื้อชาติกันจึงมีความสามารถที่จะเปลี่ยนแปลงยาชนิดเดียวกันในร่างกายได้ไม่เท่าเทียมกัน

2.4.2. การเปลี่ยนแปลงยาในวิถีเมตาบอลิสมที่ 2 (phase 2 metabolisms)

เอนไซม์ที่ทำหน้าที่เปลี่ยนแปลงยาในวิถีเมตาบอลิสมที่ 2 ได้แก่ N-acetyltransferase (NAT), UDP glucuronosyltransferase (UGT), thiopurine methyltransferase (TPMT), sulfotransferases (SULT), epoxide hydrolase (EPH) และ glutathione S-transferases (GSTs) เอนไซม์ GSTs จะทำหน้าที่ย้ายหมู่ functional group จาก conjugating agent เข้ากับโมเลกุลของสารตรงบริเวณ sulhydryl group (SH-group) เพื่อเพิ่มความเป็นขั้ว ให้สารนั้นละลายน้ำได้ดีขึ้น ซึ่งในมนุษย์จะพบกลุ่มของเอนไซม์ cytosolic GSTs อย่างน้อย 8 ชนิด คือ Alpha (α), Kappar (κ), Mu (μ), Pi (π), Sigma (δ), Omega (ω), Theta (θ) และ Zeta (ζ) โดยเอนไซม์แต่ละชนิดจะพบการกระจายตัวไม่เท่ากันในแต่ละเนื้อเยื่อของร่างกาย [2] เช่น เอนไซม์ GSTs ชนิด Mu 1 และ ชนิด Pi 1 จะพบมากในตับ และเอนไซม์ GSTs ชนิด Pi 1 มากในปอด เป็นต้น ซึ่งการเกิดความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *GSTs* สามารถเกิดได้หลายลักษณะ (ตารางที่ 1) เช่น การเกิดการเพิ่มขึ้นของยีน (gene duplication), การเกิดการขาดหายไปของยีน (gene deletion) และการเกิดการเปลี่ยนแปลงแทนที่ของลำดับเบสเดี่ยว ๆ (single nucleotide polymorphisms; SNPs) ฯลฯ ซึ่งการเกิดการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวนั้น จะทำให้ประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ GSTs เปลี่ยนแปลงไป คือ ทำให้ประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ทำงานได้เพิ่มขึ้น ลดลง หรือขาดหายไป ซึ่งอาจจะเป็นการเพิ่มแนวโน้มของความเสี่ยงต่อการเกิดโรคมะเร็งบางชนิด เช่น มะเร็งตับ มะเร็งกระเพาะปัสสาวะ มะเร็งปอด และมะเร็งลำไส้ ฯลฯ [3] ทั้งนี้เนื่องมาจากเอนไซม์ GSTs เป็น multifunctional enzyme ที่มีบทบาทหลักและสำคัญในการเปลี่ยนแปลงสารทั้งภายในและภายนอกร่างกาย รวมทั้งสารพิษที่พบในสิ่งแวดล้อม โดยเฉพาะสารก่อมะเร็ง ดังนั้นการเกิดความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *GSTs* จึงอาจเป็นปัจจัยหนึ่งในการส่งเสริมการเกิดโรคมะเร็งต่างๆได้ [8]

ตารางที่ 1. แสดงความหลากหลายทางพันธุกรรมของมนุษย์ในยีน *GSTs* [6]

Class	Allele	Nucleotide change(s)	Protein change (s)*
Alpha (α)	*GSTA1*A*	-631T/G,-567T,-69C,-52G	-
	*GSTA1*B*	-631G,-56G,-69T,-52A	Low protein level
	*GSTA2*A*	328C, 335G, 588G, 629A	Pro^{110}, Ser^{112}, Lys^{196}, Glu^{210}
	*GSTA2*B*	328C, 335G, 588G, 629C	Pro^{110}, Ser^{112}, Lys^{196}, Ala^{210}
	*GSTA2*C*	328C, 335C, 588G, 629A	Pro^{110}, Thr^{112}, Lys^{196}, Glu^{210}
	*GSTA2*D*	328C, 335G, 588T, 629C	Pro^{110}, Ser^{112}, Asn^{196}, Glu^{210}
	*GSTA2*E*	328T, 335G, 588G, 629A	Ser^{110}, Ser^{112}, Lys^{196}, Glu^{210}
Mu (μ)	*GSTM1*A*	519G	Lys173
	*GSTM1*B*	519C	Asn173
	*GSTM1*0*	gene deletion	No protein
	*GSTM1*1×2*	gene duplication	Protein over expression
	*GSTM3*A*	wild type	-
	*GSTM3*B*	3 bp deletion in intron 6	none
	*GSTM4*A*	wild type	-
	*GSTM4*B*	T2517C	None
Pi (π)	*GSTP1*A*	313A, 341C, 555C	Ile^{105}, Ala^{114}, Ser^{185}
	*GSTP1*B*	313G, 341C, 555T	Val^{105}, Ala^{114}, Ser^{185}
	*GSTP1*C*	313G, 341T, 555T	Val^{105}, Val^{114}, Ser^{185}
	*GSTP1*D*	313A, 341T	Ile^{105}, Val^{114}
Sigma (δ)	*GSTS1*A*	IVS2+11A	-
	*GSTS1*B*	IVS2+11C	Protein unexchange
Theta (θ)	*GSTT1*A*	wild type	-
	*GSTT1*0*	gene deletion	No protein
	*GSTT2*A*	415A	Met139
	*GSTT2*0*	415G	Ile139
Zeta (ζ)	*GSTZ1*A*	94A, 124A, 245C	Lys^{32}, Arg^{42}, Thr^{82}
	*GSTZ1*B*	94A, 124G, 245C	Lys^{32}, Gly^{42}, Thr^{82}
	*GSTZ1*C*	94G, 124G, 245C	Glu^{32}, Gly^{42}, Thr^{82}
	*GSTZ1*D*	94G, 124G, 245T	Glu^{32}, Gly^{42}, Met^{82}
Omega (ω)	*GSTO1*A*	419C, 464-IVS4+1AAG	Ala^{140}, Glu^{155}
	*GSTO1*B*	419C, 464 deleted	Ala^{140}, Glu^{155} deleted
	*GSTO1*C*	419a, 464-IVS4+ 1AAG	Asp^{140}, Glu^{155}
	*GSTO1*D*	419A, 464 deleted	Asp^{140}, Glu^{155} deleted
	GSTO2 A*	424A	Asn^{142}
	*GSTO2*B*	424G	Asp^{142}

*Numbering of amino acids includes initiator methionine.

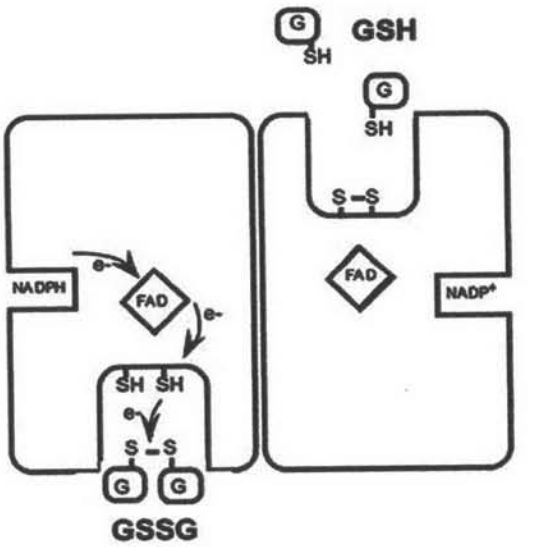
2.5. กลูทาไทโอน เอส-ทรานสเฟอเรส

GSTs (Enzyme Commission number 2.5.1.18) เป็นหนึ่งในเอนไซม์ที่ทำหน้าที่เปลี่ยนแปลงยาในวิถีเมตาบอลิสมที่ 2 (phase II metabolic enzyme) ที่พบกระจายตัวอยู่ในส่วนต่าง ๆ ของร่างกาย โดยจะพบมากในเนื้อเยื่อตับส่วนของ cytosol ที่ได้จากการสกัด microsome ซึ่งเอนไซม์ GSTs นี้มีหน้าที่และบทบาทที่สำคัญหลายอย่าง อาทิเช่น บทบาททางเภสัชวิทยา คือ เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ของสารจำพวก free radical และ electrophile โดยเอนไซม์จะทำการ conjugate โดยการเติมหมู่ gluthathione reduce (GSH) ให้กับสารตรงบริเวณที่เป็น sulhydryl group (SH-group) แล้วทำให้สารนั้นละลายน้ำได้มากขึ้น (รูปที่ 2) และบทบาททางสรีรวิทยา คือ ทำลายสารพิษในเซลล์ (cellular detoxification) จำพวก alklylating agent ต่างๆ รวมทั้งสารก่อมะเร็งที่พบทั่วไปในสิ่งแวดล้อม เช่น สารประกอบจำพวก polycyclic aromatic hydrocarbons (benzo[α]-pyrene, Anthracene, Chrysene, Coroene ฯลฯ) (ตารางที่ 2) [9]

$$\text{R-X} + \text{GSH} \rightarrow \text{R-SG} + \text{XH}$$

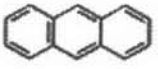
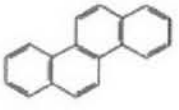
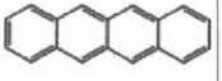
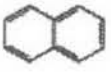
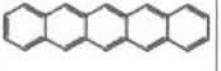
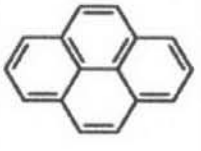
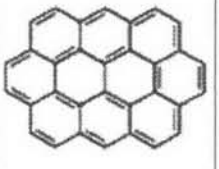
$$\text{R-O-OH} + \text{GSH} \rightarrow \text{R-OSG} + \text{H2O}$$

$$\text{R-OSG} + \text{GSH} \rightarrow \text{ROH} + \text{GSSG}$$



รูปที่ 2. แสดงการเกิดปฏิกิริยา glutathione conjugation [10]

ตารางที่ 2. แสดงสารประกอบจำพวก polycyclic aromatic hydrocarbon [10]

Chemical compound	Structure	Chemical compound	Structure
Anthracene		Benzo[α]pyrene	
Chrysene		Coronene	
Corannulene		Naphthacene	
Naphthalene		Pentacene	
Phenanthrene		Pyrene	
Triphenylene		Ovalene	

ในปี พ.ศ. 2547 มีการศึกษามากกว่า 500 งานวิจัย ทำการศึกษาถึงผลของความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *GSTs* ในประชากรหลายเชื้อชาติยกเว้นในกลุ่มประชากรไทยต่อความเสี่ยงในการเกิดโรคมะเร็งชนิดต่าง ๆ เช่น มะเร็งเต้านม มะเร็งปอด มะเร็งลำไส้ มะเร็งสมอง และมะเร็งอื่น ๆ อีกมากมาย ซึ่งโรคมะเร็งมีสาเหตุของการเกิดได้หลายสาเหตุ เช่น การดื่มแอลกอฮอล์ การสูบบุหรี่ การได้รับเชื้อไวรัส การได้รับสารพิษที่เป็นสารก่อมะเร็ง (carcinogen) และปัจจัยทางพันธุกรรม ฯลฯ ซึ่งปัจจัยทางพันธุกรรม (genetic factor) เป็นเพียงหนึ่งในสาเหตุของการเกิดมะเร็งที่อาจจะเป็นปัจจัยที่ส่งเสริมการเกิดโรคมะเร็ง โดยส่วนใหญ่ที่ผ่านมาจะทำการศึกษาในยีน *GSTs* ชนิด M1, P1 และ T1 [3] ซึ่งผลของการศึกษานั้นมีความแตกต่างกัน อาจเนื่องมาจากผลของความแตกต่างทางพันธุกรรม เชื้อชาติ และจำนวนตัวอย่าง (sample size) ดังนั้นในการศึกษาถึงผลของความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *GSTs* อาจเป็นเพียงข้อมูลพื้นฐานของกลุ่มประชากร เพื่อใช้ติดตามและเฝ้าระวังในกลุ่มประชากรที่มีความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งได้ (ตารางที่ 3)

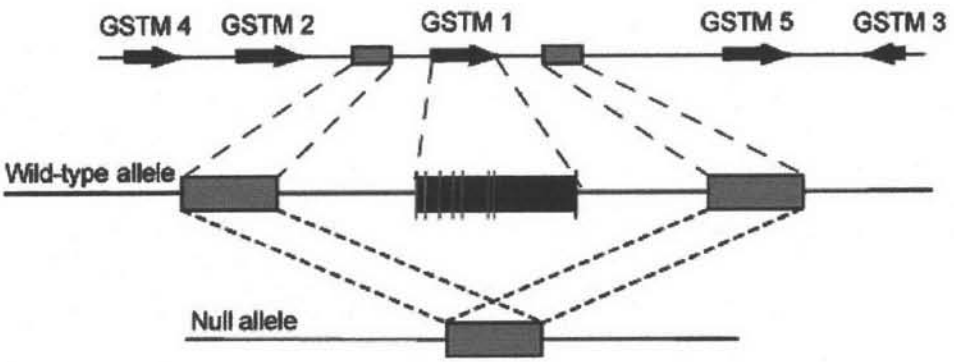
ตารางที่ 3. แสดงลักษณะการเกิดความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *GSTs* ชนิด M1, P1 และ T1 [11]

Gene	*GSTM1*	*GSTP1*		*GSTT1*
Chromosome location of gene	1p13.3	11q13.3		22q11.23
Length of gene	5.92 kb	2.84 kb		8.09 kb
Number of exons	8	7		5
Position of polymorphism	Deletion	A313G (Ile105Val)	C341T (Ala114Val)	Deletion
Enzyme activity	Null [5]	Reduced by ~30% [143]		Null [5]
Main sites of tissue expression	Liver, kidney, and adrenal	Lung		Liver and kidney
Main substrates	Polycyclic aromatic hydrocarbons, aflatoxins	N-acetylbenzoquinone imine, 4-nitroquinoline-1-oxide, polycyclic aromatic hydrocarbons		Hydroxyalkylarenes, butadiene, mono- and dihaloalkanes
Approximate frequencies of polymorphisms in individuals of European continental ancestry / Asians/ African Americans	50% / 51% / 30%	10% / 2% / 14%	1% / ? / ?	24% / 51% / 25%

2.6. กลูทาไทโอน เอส-ทรานสเฟอเรส ชนิด M1 (*GSTM1*)

GSTM1 เป็นส่วนหนึ่งใน Mu class ซึ่งอยู่บนโครโมโซมที่ 1p13.3 โดยมีการจัดเรียงตัวแบบ 5'-*GSTM4-GSTM2-GSTM1-GSTM5-GSTM3*-3' ซึ่ง *GSTM1* จะประกอบด้วย 10 exons โดยด้านข้างของยีน *GSTM1* จะมีลำดับเบสที่มีลักษณะเหมือนกันอยู่ 2 ข้าง (extensive homologies) โดยมีขนาด 4.2 kb จากรายงานการศึกษาวิจัยถึงความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *GSTM1* จำนวน 12,525 รายในกลุ่มชน Caucasians 2,136 รายในกลุ่ม Asians และ

996 รายในกลุ่ม African-Americans พบการเกิดการขาดหายไปของยีน (deletion) คิดเป็นร้อยละ 53 ในกลุ่มชน Caucasian และ Asian (ร้อยละ 42-60) โดยในกลุ่มชน Caucasian และ Asian จะพบการเกิดการขาดหายไปของยีนเท่าๆกัน แต่พบเพียงร้อยละ 27 (ร้อยละ 16-36) ในประชากรกลุ่ม African-American (รูปที่ 3)



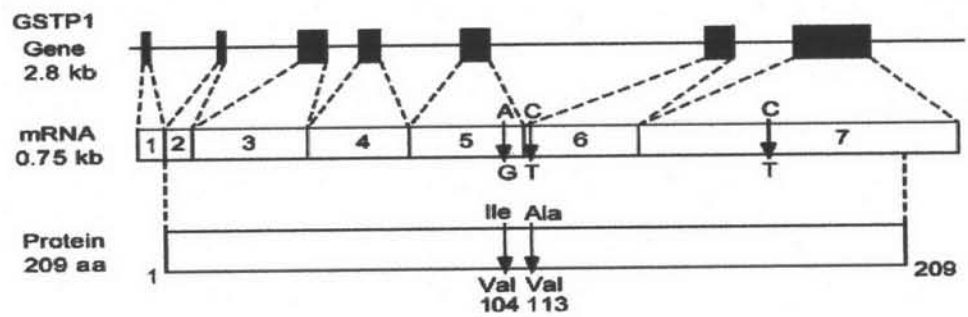
รูปที่ 3. แสดงการเกิดการขาดหายไปของยีน *GSTM1* [3]

การเกิดความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *GSTM1* สามารถเกิดได้หลายแบบ เช่น การเกิดการขาดหายไปของยีนทั้งยีน (whole gene deletion; *GSTM1*0*) จึงเกิดการรวมกันของลำดับเบสทั้งสองข้าง (homologous recombination) ทำให้ลำดับเบสจำนวน 16 kb หายไป เกิดเป็น null allele (homologous deletion) ซึ่งการเกิดการขาดหายไปของยีนทั้งยีนดังกล่าวนี้จะส่งผลต่อประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ คือ ทำให้ปริมาณเอนไซม์ขาดหายไปและส่งผลต่อการเพิ่มความเสี่ยงในการเกิดมะเร็งบางชนิดได้ โดยตำแหน่งของยีนที่เกิดการขาดหายไปนั้นไม่สามารถระบุตำแหน่งได้ โดยการขาดหายไปของยีน *GSTM1* ไม่เกี่ยวข้องกับ *GSTM2* และ *GSTM5* ส่วนการเกิดความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *GSTM1* อีกลักษณะหนึ่ง คือ การเกิดการเปลี่ยนแปลงแทนที่ของลำดับเบสเดี่ยว ๆ (SNPs) ที่ตำแหน่ง 534 โดยเปลี่ยนลำดับเบสจาก G เป็น C เป็นผลให้กรดอะมิโนตำแหน่ง 172 เปลี่ยนจาก Lysine (Lys) เป็น Asparagine (Asn) เกิดเป็น *GSTM1*B* ส่วนแบบ *GSTM1*A* (wild type) ซึ่งการเกิดการเปลี่ยนแปลงแทนที่ของลำดับเบสดังกล่าวไม่มีผลต่อประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ GSTs จึงไม่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงสารพิษต่าง ๆ ที่ได้รับมาจากภายใน-ภายนอกร่างกาย จึงไม่มีผลในการเพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งได้

ส่วนใน exon 8 ของ *GSTM1* และ *GSTM2* มีลำดับเบสที่มีลักษณะเหมือนกัน 583 nucleotide ส่วน *GSTM3* เป็นชนิดที่สั้นกว่ายีนในชนิดอื่น ๆ โดย *GSTM3* A* (wild type) และ *GSTM3*B* จะเกิดการขาดหายไปของ 3 bp ในส่วนของ intron 6 ส่งผลต่อ transcription factor ของ YY1 และในส่วนของ *GSTM4* จะมีลำดับเบสที่เหมือนกับ *GSTM1* คิดเป็นร้อยละ 87 *GSTM2* คิดเป็นร้อยละ 83 และ *GSTM3* คิดเป็นร้อยละ 70 ดังนั้นในการศึกษาวิจัยในครั้งนี้จึงเลือกทำการศึกษาเฉพาะ *GSTM1* เท่านั้น เนื่องจากว่าลำดับเบสของยีนใน Mu class ในแต่ละชนิดมีความคล้ายคลึงกันมาก และความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *GSTM1* เป็นการขาดหายไปของยีนทั้งยีน ซึ่งส่งผลทำให้เกิดการขาดประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ ซึ่งเอนไซม์ GSTs ทีมีบทบาทหลักใน phase II โดยมีหน้าที่ในการกำจัดสารพิษจากภายในและภายนอกร่างกาย จึงส่งผลต่อการเพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งต่างๆได้เพิ่มมากยิ่งขึ้น

2.7. กลูทาไทโอน เอส-ทรานสเฟอเรส ชนิด P1 (*GSTP1*)

GSTP1 เป็นส่วนหนึ่งใน Pi class อยู่บนโครโมโซมที่ 11q13 ประกอบด้วย 7 exons ซึ่งพบความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *GSTP1* แบบการเกิดการเปลี่ยนแปลงแทนที่ของลำดับเบสเดี่ยว ๆ (SNPs) ในยีน *GSTP1* ได้ 2 แบบ คือ ในตำแหน่ง codon ที่ 104 จะเปลี่ยนแปลงกรดอะมิโนจาก Isoleucine (Ile) → Valine (Val) ในตำแหน่งของลำดับเบสที่ 341 บน exon 5 โดยพบการเกิด SNPs คิดเป็นร้อยละ 54 ในกลุ่ม African-American คิดเป็นร้อยละ 31 ในกลุ่มชน Caucasian แต่พบเพียงร้อยละ 17 ในประชากรกลุ่ม Asian ส่วนอีกตำแหน่งหนึ่งจะพบบน codon ที่ 113 จะเปลี่ยนแปลงกรดอะมิโนจาก Alanine (Ala) → Valine (Val) ในตำแหน่งของลำดับเบสที่ 313 บน exon 6 โดยพบการเกิด SNPs เพียงร้อยละ 10 ในกลุ่มชน Caucasian และไม่พบเลยในประชากรกลุ่ม Asian และ African-American (รูปที่ 4)



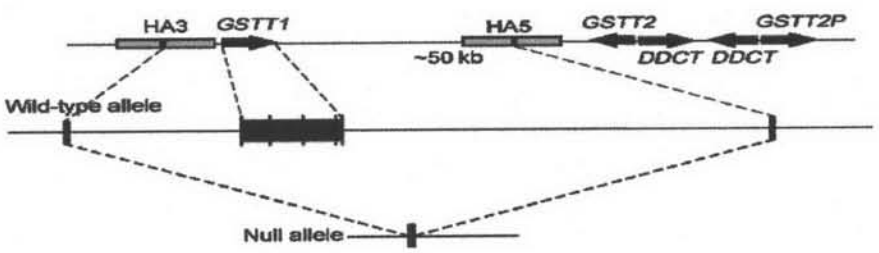
รูปที่ 4. แสดงการเกิด SNPs ของยีน *GSTP1* [3]

ซึ่งการเกิด SNPs บน codon ที่ 104 พบว่าเมื่อเกิดการเปลี่ยนแปลงจาก Isoleucine เป็น Valine จะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสารก่อมะเร็งได้ลดลง เนื่องจาก Isoleucine จะมีความแรงในการเปลี่ยนแปลงสารก่อมะเร็งบางชนิดที่มีความจำเพาะกับสารตั้งต้น (specific substrate) ได้มากกว่า Valine เป็น 5 เท่า ดังนั้น wild type จึงสามารถเปลี่ยนแปลงสารพิษต่างๆ รวมทั้งสารก่อมะเร็งได้มากกว่าแบบที่เกิด SNPs [12]

แต่การเกิดความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *GSTP1* โดยการแทนที่ของลำดับเบส (SNPs) จะมีผลต่อประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ (enzyme activity) น้อยกว่าการเกิดความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *GSTs* ชนิด M1 และ T1 ที่เกิดการขาดหายไปของยีนทั้งยีน ดังนั้นในงานวิจัยนี้ทำการศึกษาเฉพาะในตำแหน่ง codon ที่ 104 เท่านั้น เนื่องจากในตำแหน่งที่ 113 ไม่มีอุบัติการณ์ในการเกิด SNPs ในกลุ่มประชากร Asian ซึ่ง SNPs ที่เกิดจะมีลักษณะ ดังนี้ *GSTP1*A* (104Ile; 113Ala), *GSTP1*B* (104Val; 113Ala) และ *GSTP1*C* (104Val; 113Val)

2.8. กลูทาไทโอน เอส-ทรานสเฟอเรส ชนิด T1 (*GSTT1*)

GSTT1 เป็นส่วนหนึ่งใน Theta class (ประกอบด้วย *GSTT1* และ *GSTT2* โดยยีนทั้งสองชนิดนี้จะห่างกันประมาณ 50 kb) อยู่บนโครโมโซมที่ 22q11.23 ประกอบด้วย 5 exons โดยด้านข้างของยีน *GSTT1* จะมีลำดับเบสที่มีลักษณะคล้ายกันอยู่ 2 ข้าง(extensive homologies; HA3, HA5) โดยมีขนาด 18 kb ซึ่ง HA3 และ HA5 นั้นจะมีความเหมือนกันมากกว่า 90 % โดยส่วนตรงกลางของ HA3 และ HA5 นั้นจะมีลำดับเบสที่เหมือนกันจำนวน 403 bp ซึ่งพบการเกิดการขาดหายไปของยีนคิดเป็นร้อยละ 47 ในกลุ่มชน Caucasian (ร้อยละ 35-53) คิดเป็นร้อยละ 27 (ร้อยละ 16-36) ในประชากรกลุ่ม African-American แต่พบเพียงร้อยละ 20 ในกลุ่ม Asian (ร้อยละ 13-26) (รูปที่ 5)

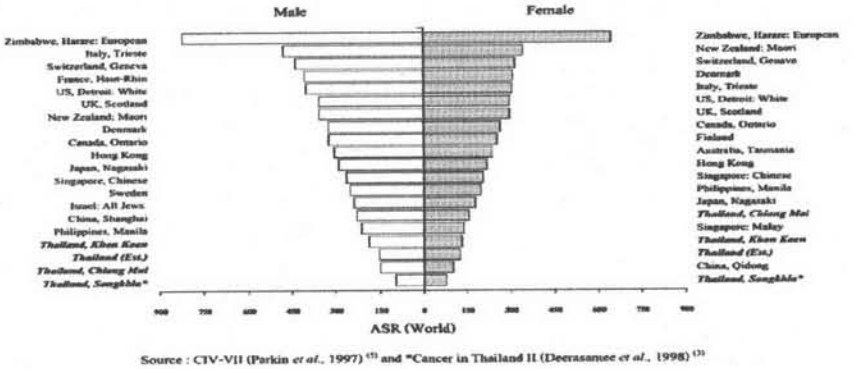


รูปที่ 5. แสดงการเกิดการขาดหายไปของยีน *GSTT1* [3]

ซึ่งการเกิดความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *GSTT1* จะเกิดการขาดหายไปของยีนทั้งยีน (whole gene deletion; *GSTT1*0*) คือ ทำให้เกิดการรวมกันของลำดับเบสทั้งสองข้าง (homologous recombination) ทำให้ลำดับเบสจำนวน 54 kb หายไปเกิดเป็น null allele (homologous deletion) โดยตำแหน่งของยีนที่เกิดการขาดหายไปนั้นไม่สามารถบอกตำแหน่งได้ ซึ่งการเกิดการขาดไปของยีน *GSTT1* นั้นไม่มีความเกี่ยวข้องกับยีน *GSTT2* โดยยีน *GSTM1* และ *GSTT1* มีการเกิดความหลากหลายทางพันธุกรรมเป็นแบบการขาดหายไปของยีนทั้งยีนเป็นไปในลักษณะเดียวกันกับยีน *GSTM1* ซึ่งส่งผลต่อประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ ทำให้เกิดการขาดหายไปของการทำงานของเอนไซม์ ทำให้เอนไซม์ GSTs มีการทำงานที่บกพร่องหรือลดลงจากเดิม จึงอาจจะเพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งบางชนิดได้เพิ่มมากยิ่งขึ้น [13]

2.9. มะเร็งตับ (Liver cancer)

มะเร็งตับเป็นมะเร็งที่พบมากเป็นอันดับ 5 รองจากมะเร็งชนิดอื่น ๆ และมีอัตราการเสียชีวิตเป็นอันดับ 3 ในประชากรโลก รองจากมะเร็งปอดและมะเร็งกระเพาะ (รูปที่ 6) ซึ่งในประเทศไทยมีอุบัติการณ์ในการเกิดมะเร็งตับมีค่าเท่ากับ 38.6, 17.2 ASIR (Aged Standard Incidence Rate) ต่อประชากร 100,000 คนต่อปี ในเพศชายและเพศหญิง ตามลำดับ [14] (ตารางที่ 4) ซึ่งเป็นอุบัติการณ์ในการเกิดมะเร็งตับจากสถาบันมะเร็งแห่งชาติในประชากรไทยระหว่างปี 2540-2545 จึงนับได้ว่าเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้ประชากรไทยเสียชีวิต โดยส่วนใหญ่จะพบในคนที่มีอายุระหว่าง 35-55 ปี โดยในเพศชายมีอุบัติการณ์ในการเกิดมากว่าเพศหญิง 4 เท่า ซึ่งข้อมูลรายงานล่าสุดในการเกิดมะเร็งตับที่สหรัฐอเมริกาในปี 2551 พบว่ามีอุบัติการณ์ในการเกิดมะเร็งตับ 21,370 ราย และมีสาเหตุการเสียชีวิต 18,410 ราย ซึ่งถือว่ามีอัตราในการเกิดมะเร็งตับสูง โดยมีแนวโน้มในการเกิดมะเร็งตับนั้นจะมีอัตราการเกิดเพิ่มขึ้นในทุก ๆ ปี [12]



Source : CIV-VII (Parkin *et al.*, 1997) [15] and "Cancer in Thailand II (Deerasamee *et al.*, 1998) [15]

รูปที่ 6. แสดงอุบัติการณ์การเกิดมะเร็งของประชากรโลกในปี 1997 [15]

โดยมะเร็งตับนั้นแบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ มะเร็งตับปฐมภูมิ (primary liver cancer) เป็นชนิดที่เกิดกับเซลล์ตับโดยตรง ซึ่งมะเร็งที่พบในชนิดนี้ส่วนใหญ่จะเป็นมะเร็งเซลล์ตับ (hepatocellular carcinoma; HCC) และมะเร็งท่อน้ำดี (cholangiocarcinoma) ส่วนอีกประเภทหนึ่ง คือ มะเร็งตับทุติยภูมิ (secondary liver cancer) เป็นชนิดที่ลุกลามมาจากอวัยวะอื่น ๆ เช่น มะเร็งลำไส้ มะเร็งปอด และมะเร็งทวารหนัก เป็นต้น

ตารางที่ 4. แสดงอุบัติการณ์ในการเกิดมะเร็งตับในกลุ่มประชากรโลก [5]

Country	Liver cancer incidence ASR (per 100,000 population) [5]	
	Male	Female
China	37.9	14.2
South Korea	47.1	11.4
Thailand	38.6	17.2
USA	5.5	2.0
UK	3.3	1.7
Germany	4.2	1.5
Canada	4.0	1.4

ASR= Age Standardise Rate

มะเร็งเซลล์ตับ (Hepatocellular carcinoma; HCC) พบเป็นร้อยละ 85-90 ของคนที่เป็นมะเร็งตับชนิดปฐมภูมิ โดยพบส่วนใหญ่ในประเทศแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ และแอฟริกา ซึ่งจะมีความแตกต่างกันในกลุ่มประชากรแต่ละชนชาติ/เชื้อชาติ/เผ่าพันธุ์ โดยสาเหตุหลักในการเกิด HCC ที่เกิดจากพันธุกรรม คือ hemochromatosis หรือการขาด alpha-1-antitrypsin และปัจจัยอื่น ๆ ที่เหนี่ยวนำให้เกิดจากไวรัสตับอักเสบบี, ไวรัสตับอักเสบซี, สารอะฟลาท็อกซิน (aflatoxin) ซึ่งเป็นสารก่อมะเร็งตับ (hepatocarcinogen) และการดื่มแอลกอฮอล์เป็นประจำ ซึ่งจะพบได้ทั่วไปในทุกภาคของประเทศไทย แต่พบมากที่สุดในภาคกลางของประเทศไทย [5]

ส่วนมะเร็งท่อน้ำดี (cholangiocarcinoma) นั้นมีสาเหตุการเกิดมาจากการรับประทานอาหารที่สุกๆ ดิบๆ ที่มีไข่พยาธิ *Opisthorchis viverrini* (OV) มากกว่า 10,000 ฟองต่อกรัม โดยจะพบมากในประชากรในภาคอีสาน โดยเฉพาะที่จังหวัดขอนแก่น คิดเป็นร้อยละ 89 ซึ่งถือว่าเป็นอุบัติการณ์ในการเกิดที่สูงที่สุดในประชากรโลก โดยสาเหตุที่เลือกผู้เข้าร่วมวิจัยเป็นมะเร็งตับชนิด hepatocellular carcinoma และ cholangiocarcinoma นั้น เนื่องมามีความถี่และอุบัติการณ์ในการเกิดมะเร็งทั้ง 2 ชนิดนี้พบมากเป็นสองอันดับแรกในการเกิดมะเร็งตับในคนไทย โดยทั่วไป

การเกิดมะเร็งตับจะนำไปสู่การเกิดโรคตับแข็ง (cirrhosis) ซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดการเสียชีวิตในเวลาต่อมา [5]

จากการทบทวนวรรณกรรมในการศึกษาวิจัยที่เกี่ยวข้องกับความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *GSTs* พบว่ามีการศึกษาเฉพาะความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *GSTs* ชนิด M1 และ T1 เท่านั้นต่อความเสี่ยงในการเกิดมะเร็งตับ (hepatocellular carcinoma) เนื่องมาจากในแต่ละงานวิจัยนั้นมีสมมติฐานว่าการเกิดความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *GSTs* ชนิด M1, T1 แบบที่มีการขาดหายไปของยีนทั้งยีนนั้น (whole gene deletion) จะส่งผลต่อการเพิ่มความเสี่ยงในการเกิดมะเร็งตับ ซึ่งในแต่ละงานวิจัยก็ให้ผลที่แตกต่างกันไปทางสถิติ ทั้งนี้ขึ้นกับปัจจัยต่างๆ อาทิเช่น ปัจจัยทางเชื้อชาติ พันธุกรรม สิ่งแวดล้อม การได้รับสารก่อมะเร็งจำพวกสาร aflatoxin ที่เป็นสารก่อมะเร็งตับ หรือสารจำพวก polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) หรือการดื่มแอลกอฮอล์เป็นประจำ รวมทั้งจำนวนตัวอย่างที่นำมาทำการศึกษา ซึ่งปัจจัยดังกล่าวนี้มีผลในการเพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งตับ ซึ่งข้อมูลดังกล่าวยังไม่มีการศึกษาในกลุ่มประชากรไทย ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับผลของความหลากหลายของยีน *GSTs* ทั้งชนิด Mu (M1), Pi (P1) และ Theta (T1) เปรียบเทียบกับการทำงานของเอนไซม์ (genotype-phenotype correlation) และทำการศึกษาความสัมพันธ์ของความความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *GSTs* ต่อความเสี่ยงในการเกิดมะเร็งตับ โดยคัดเลือกบุคคลที่เข้าร่วมวิจัยที่เป็นมะเร็งตับทั้ง 2 ชนิด คือ มะเร็งเซลล์ตับ (hepatocellular carcinoma) และมะเร็งท่อน้ำดี (cholangiocarcinoma) จากรายงานการวิจัยที่ผ่านมา พบว่ามีการศึกษาถึงความหลากหลายทางพันธุกรรมในยีนต่างๆ ที่อาจส่งผลต่อการเกิดมะเร็งตับในกลุ่มประชากรในประเทศต่างๆ ในหลายเชื้อชาติ ดังนี้

1. Sun, C. A. และคณะ รายงานว่าปัจจัยทางพันธุกรรม (genetic factors) มีผลต่อการเกิดมะเร็งตับ (hepatocellular carcinoma; HCC) จึงได้มีการศึกษาในกลุ่มประชากรประเทศจีน และไต้หวัน (ซึ่งมีอุบัติการณ์ในการเกิดสูงสุดที่ Southeast Asia และ Sub-Saharan Africa) โดยในประเทศไต้หวันพบว่าปัจจัยทางพันธุกรรมมีผลต่อการเกิด HCC เป็นอันดับ 1 ในเพศชาย และพบเป็นอันดับ 5 ในเพศหญิง ซึ่งสาเหตุสำคัญของการเกิด HCC มักเกิดจากการได้รับเชื้อไวรัสตับอักเสบบี/ซี (hepatitis virus B/C) และการได้รับสารพิษจำพวกสารอะฟลาท็อกซิน B1 โดยทำการศึกษาในประชากรที่มีโอกาสได้รับเชื้อไวรัสตับอักเสบและได้รับสารเคมีที่ส่งผลต่ออุบัติการณ์ในการเกิด HCC สูงขึ้น จึงได้ทำการศึกษาผลของ

ความหลากหลายของยีน *GSTM1* และ GSTT1 ในกลุ่มประชากรที่มีความเสี่ยงในการเกิด HCC เช่น ได้รับสารพิษ aflatoxin หรือเป็นพาหะของไวรัสตับอักเสบ B (HBsAg) และในปี ค.ศ. 1991-1997 Sun, C. A. และคณะ ได้ทำการศึกษาผลของความหลากหลายของยีน GSTM1 และ GSTT1 ในกลุ่มประชากรของประเทศไต้หวันจำนวน 79 คน ที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นพาหะของเชื้อไวรัสตับอักเสบ B (HBsAg) โดยพิจารณาความสัมพันธ์ของยีนกับการเหนี่ยวนำจากสารอะฟลาท็อกซิน ซึ่งเป็นสารก่อมะเร็งตับ พบว่าปริมาณ Albumin ในเลือดที่จับกับสารอะฟลาท็อกซิน (OR 2.0 [1.1-3.7]) สัมพันธ์กับคนที่มีจีโนไทป์ *GSTT1*0* (OR 3.7 [1.5-9.3]) และ GSTT1*1 (OR 0.9[0.3-2.4]) โดยไปเพิ่มความเสี่ยงของการเกิด HCC ($p = 0.03$) ส่วนในกลุ่มประชากรที่มียีน *GSTM1* เมื่อถูกเหนี่ยวนำด้วยสารอะฟลาท็อกซิน พบว่าชนิดที่เป็น null genotype (OR 2.8 [1.0-7.8]) พบความเสี่ยงต่อการเป็นมะเร็งตับมากกว่ากลุ่มที่เป็น gene present (OR 1.8 [0.8-4.5]) แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p = 0.91$) จากการศึกษาครั้งนี้จึงสรุปได้ว่าปัจจัยที่เสี่ยงต่อการเกิด HCC คือ เป็นกลุ่มประชากรที่มียีน *GSTT1* และได้รับสารอะฟลาท็อกซินในการเหนี่ยวนำ [37]

2. Yu, M. W. และคณะ ได้ศึกษาเพิ่มเติมโดยทำการหาความสัมพันธ์ระหว่างประชากรที่มียีน *GST* กับอุบัติการณ์เกิด HCC ในรัฐ Mainland ประเทศจีน โดยทำการทดลองในกลุ่มประชากรจำนวน 577 คน ที่ตรวจพบไวรัส HBV ร่วมกับภาวะ HCC โดยเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมจำนวน 389 คน ที่ตรวจพบเฉพาะไวรัส HBV พบว่ายีน *GSTT1*0* ไม่มีความเสี่ยงต่อการเกิด HCC แต่ยีน *GSTM*0* มีผลในการลดความเสี่ยงในระยะเริ่มต้นของ HCC และพบความเสี่ยงของการเกิด HCC เพิ่มขึ้นหลังจากทำการรวมยีน *GSTM1* และ *GSTT1* กับ ยีน *XRCC1* โดยการรวมกันของยีน *GSTT*0* และ *GSTM1* กับ *XRCC1* ชนิด Gln/Gin (odds ratio = 8.07[1.67-38.93]) จะมากกว่า *XRCC1* ชนิด Arg/Arg ซึ่งการทดลองครั้งนี้จึงได้ตั้งสมมติฐานว่า ยีน *GSTs* ที่ได้รับการเชื่อมต่อเข้ากับยีน XRCC1 อาจมีผลทำให้เกิด HCC ขึ้นได้ [33]
3. Deng, Z. L. และคณะ ทำการศึกษาในพื้นที่ที่มีสารพิษ aflatoxin สูง ในแถบ Guangxi ในประเทศจีน โดยทำการศึกษาในกลุ่มประชากร 2 กลุ่ม คือ กลุ่มผู้ป่วยจีนที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นมะเร็งตับ HCC จำนวน 188 คน และกลุ่มคนปกติที่มีสุขภาพดี จำนวน 360 คน ที่ไม่มีประวัติเป็นมะเร็ง พบความหลากหลายของยีน *GSTs* แบบ *GSTM1*0* และ *GSTT1*0* คิดเป็นร้อยละ 47.8 และ 42.7 ในกลุ่มคนปกติ ส่วนในกลุ่มผู้ป่วย HCC พบความหลากหลายของยีน *GSTs* แบบ *GSTM1*0* และ *GSTT1*0* คิดเป็นร้อยละ 64.6

และ 59.7 ซึ่งพบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.01$) และเมื่อทำการรวมกันระหว่างยีน *GSTM1*0* และ *GSTT1*0* พบเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมพบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยมีความหลากหลายของยีนคิดเป็นร้อยละ 38.2 และ 18.5 ในกลุ่มผู้ป่วย HCC และกลุ่มคนปกติ ตามลำดับ [32]

4. Jose M. Ladero และคณะ ทำการศึกษาผลของกลูทาไทโอน เอส-ทราสเฟอเรส *(GSTs)* ชนิด M1 และ P1 ในกลุ่มประชากรสเปน ซึ่งงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาว่าการเกิดความหลากหลายของยีน *GSTM1* และ *GSTT1* แบบ null genotype หรือ homologous deletion จะเพิ่มมีความเสี่ยงต่อการเกิด hepatocellular carcinoma (HCC) โดยทำการศึกษาในกลุ่มประชากร 2 กลุ่ม คือ กลุ่มผู้ป่วยสเปนที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นมะเร็งตับ HCC จำนวน 184 คน และกลุ่มคนปกติที่มีสุขภาพดี จำนวน 329 คนโดยใช้เทคนิค multiplex PCR แล้วใช้ dihydrofolate reductase (DHFR) เป็น internal control ซึ่งจากผลการทดลองพบว่าไม่มีความแตกต่างของความถี่ระหว่างผู้ป่วยมะเร็งตับและคนปกติ ในยีน *GSTM1* และ *GSTT1* คิดเป็นร้อยละ 47.8 และ 28.8 ในกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งตับตามลำดับ ส่วนในกลุ่มคนปกติพบว่ายีน *GSTM1* และ *GSTT1* คิดเป็นร้อยละ 45.3 และ 23.1 ตามลำดับ [35]
5. Tianlun Zhu และคณะ ได้ทำการศึกษาผลของไวรัสตับอักเสบบี (HBV) และสาร อะฟลาท็อกซิน B1 (aflatoxin B_1) ซึ่งเป็นปัจจัยเสี่ยงหลักต่อการเกิดมะเร็งตับ ซึ่ง GSTs เป็นเอนไซม์ใน phase II ที่ใช้ในการทำลายสารพิษโดยการทำปฏิกิริยา conjugation กับสารทั้งภายในและภายนอกร่างกายให้ละลายน้ำได้เพิ่มมากขึ้น และพร้อมในการขับออกรวมทั้งสารอะฟลาท็อกซิน B1 ด้วย โดยยีน GSTs ที่นำมาศึกษามีทั้งชนิด α, π, และ μ จากผู้ป่วย 32 คน ที่ได้รับเชื้อ HBV และเป็น HCC โดยทำการวิเคราะห์ในชิ้นเนื้อตับที่ปกติและที่เป็นมะเร็ง พบว่าระดับ GST activity จะสูงในชิ้นเนื้อตับที่ปกติมากกว่าชิ้นเนื้อตับที่เป็นมะเร็ง โดย GST activity ของ *GSTM1* (null-allele) ในชิ้นเนื้อตับปกติ มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบ GST activity ในชิ้นเนื้อที่เป็นมะเร็ง 264.6 และ 422.2 nmol/min/mg, ตามลำดับ P-value = 0.005 ซึ่งในคนที่มี HBV positive จะมี GST activity น้อยกว่าคนที่มี HBV negative จึงสรุปได้ว่าการได้รับเชื้อ HBV จะส่งผลต่อการเกิด HCC ได้เพิ่มขึ้น [39]

จากตัวอย่างการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *GSTs* ต่อความเสี่ยงในการเกิดมะเร็งตับ พบว่าในกลุ่มประชากรในแต่ละเชื้อชาตินั้น มีแนวโน้มต่อการเพิ่มความ

เสี่ยงในการเกิดมะเร็งตับไม่เป็นไปในลักษณะเดียวกัน จึงอาจจะสรุปได้ว่าเชื้อชาติ พันธุกรรม หรือปัจจัยด้านอื่นๆ อาจจะเป็นปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลในการเกิดมะเร็งตับได้

ตารางที่ 5. แสดงการศึกษาจีโนไทป์ของยีน *GSTs* ต่อการเกิด HCC ในประชากรกลุ่ม African, Caucasian และ Asian [12]

Study, year (ref*)	Country (regions)	Sample size (cases/controls)	Study eligibility dates (month/year)	Race/ ethnicity	Case selection†	Mean age (years) of cases (SD* or %)	Male cases	
							No.	%
Kirk, 2005 (29)	Gambia (Banjul, Fajara, Bansang)	624 (216/408)	9/1997–11/2001	African	Hospital based	48.1 (15.2)	173	80.1
Covolo, 2005 (30)	Italy (Brescia, Pordenone)	600 (200/400)	3/1999–7/2002	Caucasian	Hospital based	66.5 (8.0)	158	79.0
Chen, 2005 (31)	Taiwan (Taipei, Taoyan)	966 (577/389)	9/1997–12/2001	Asian	Cohort based	52.3 (12.7)	496¶	86.0
Deng, 2005 (32)	China (Guangxi)	541 (181/360)	1/1998–12/2002	Asian	Hospital based	49 (NR*)	145	80.1
Yu, 1999 (33)#	Taiwan (Taipei)	459 (84/375)	8/1988–12/1996	Asian	Cohort based	≥60 (33.3%)	84	100
Tiemersma, 2001 (34)	Sudan (west and central)	306 (112/194)	9/1996–12/1998	African and Arab	Hospital based	57.0 (12.2)	86	76.8
Ladero, 2006 (35)	Spain (Madrid)	513 (184/329)	1/1994–12/2004	Caucasian	Hospital based	65.3 (7.0), males	150	81.5
Munaka, 2003 (36)	Japan (Kitakyushu)	216 (78/138)	6/1997–4/1998	Asian	Hospital based	66.1 (7.7)	61	78.2
McGlynn, 2003 (43)	China (Haimen City)	487 (231/256)	2/1992–12/1993	Asian	Cohort based	55.8, males; 59.3, females	187	81.0
Sun, 2001 (37)#	Taiwan (mainland, Ponghu islets)	228 (79/149)	1991–1997	Asian	Cohort based	53 (7)	66	83.5
Liu, 2002 (38)**	China (Shanghai)	228 (84/144)	NR	Asian	Hospital based	NR	NR	
Zhu, 2005 (39)**	China (Hangzhou)	225 (91/134††)	5/2004–10/2004	Asian	Hospital based	50.2 (10.1)	79	86.8
Long, 2005 (40)	China (Guangxi)	676 (140/536)	2002–2003	Asian	Hospital based	>65 (18.6%)	111	79.3
Marahatta, 2006 (41)	Thailand (Khon Kaen)	58 (28/30)	NR	Asian	Hospital based	NR	NR	
Long, 2006 (42)¶,**	China (Guangxi)	906 (257/649)	1/2004–5/2005	Asian	Hospital based	>65 (18.3%)	208	80.9

ตารางที่ 5. แสดงการศึกษาจีโนไทป์ของยีน *GSTs* ต่อการเกิด HCC ในประชากรกลุ่ม African, Caucasian และ Asian (ต่อ) [12]

Control selection†,‡	Type of controls	Mean age (years) of controls (SD or %)	Male controls		Matched design (criteria)	Restrictions	*GST* polymorphisms evaluated
			No.	%			
Hospital based	No clinical liver disease and normal α-fetoprotein levels	44.8 (15.2)	292	71.6	Frequency (gender, 10-year age group, recruitment site)		*GSTM1; GSTT1*
Hospital based	Not admitted for liver disease, cancer, or alcohol- or smoking-related disease	66.5 (8.0)	316	79.0	Frequency (gender, date,§ age ± 5 years, recruitment site)	Caucasian, native-born Italian, aged <76 years	*GSTM1; GSTT1*
Cohort based	No liver disease per clinical, radiologic, and laboratory evaluations	53.0 (12.5)	335¶	86.0	Frequency (gender, ±10 years of birth)	All cases and controls HepBsAg+*	*GSTM1; GSTT1*
Hospital based	Without cancer	NR	288¶	80.0	Frequency (age, gender)		*GSTM1; GSTT1*
Cohort based	No liver disease per ultrasonography and α-fetoprotein levels	≥60 (30.1%)	375	100	Cases (age ± 5 years, date,§ recruitment site)	Males only	*GSTM1; GSTT1*
Community based	Randomly selected	44.9 (10.9)	146	75.3	Frequency (gender, region)		*GSTM1; GSTT1*
Community based	Healthy per clinical and laboratory evaluations	70.4 (9.0), males	198	60.2	Unmatched (NA*)	Caucasian, Spanish ancestry and nationality	*GSTM1; GSTT1*
Hospital based	Without cancer	67.2 (10.5)	94	68.1	Unmatched (NA)		*GSTM1; GSTT1; GSTP1*
Cohort based	Healthy	NR	189	73.8	Cases (gender, age, township)		*GSTM1; GSTT1; GSTP1; GSTM2; GSTM3; GSTA1; GSTA4*
Cohort based	Without liver disease per laboratory values	53 (7)	122	81.9	Cases (age ± 5 years, gender, date,§ residence)	All cases and controls HepBsAg+	*GSTM1; GSTT1*
Hospital based	Healthy	NR	NR		Unmatched (NA)		*GSTP1; GSTM1; GSTT1*
Hospital based	Normal liver function test without cancer, alcohol, or hepatitis B virus	48.2 (9.2)	117	87.3	Matched (age, gender)	All cases and controls HepBsAg+	*GSTM1*
Hospital based	Without personal or family history of cancer	>65 (14.7%)	384	71.6	Frequency (age, race, gender)		*GSTM1; GSTT1*
Community based	Community controls	NR	NR		Matched (race, gender)		*GSTO1; GSTO2*
Hospital based	Healthy without clinical evidence of liver disease	>65 (14.6%)	490	75.5	Frequency (age ± 5 years, gender, ethnicity, HepBsAg)	Aged 25–75 years	*GSTM1; GSTT1*

* Ref, reference citation; SD, standard deviation; HepBsAg−, hepatitis B surface antigen positive; NR, not reported; NA, not applicable.

† Source of selection is hospital based, i.e., selected from specific hospital(s) or clinic(s); cohort based, i.e., selected from preexisting hepatocellular carcinoma or hepatitis B surface antigen cohort studies; or community based, i.e., selected from specified community(ies).

‡ Hardy-Weinberg equilibrium fulfilled in all studies.

§ Date is the date recruited, seen at recruitment location, or obtained data.

¶ Calculated from data provided in the original manuscript.

Nested case-control study.

** Foreign language.

†† Only normal control group eligible and included; two additional control groups, liver cirrhosis ($n = 58$) and chronic hepatitis B virus ($n = 63$), not included.

จากตารางที่ 5 ผลการศึกษา Meta-analysis ของความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *GSTs* ชนิด M1, T1, P1 และยีนอื่นที่คิดว่ามีผลต่อการเพิ่มความเสี่ยงในการเกิดมะเร็งตับ พบว่ามีการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *GSTM1* มี 13 งานวิจัยที่ทำการศึกษา [29-40, 42, 51] จำนวน 2,514 คนใน case group และ 4,416 คนใน control group โดยทำการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมแบบ null allele กับ present โดยทำการเปรียบเทียบกับกลุ่มคนปกติ พบความถี่ของการเกิด null allele คิดเป็นร้อยละ 25.9 ในประเทศแอฟริกา [29], คิดเป็นร้อยละ 60.2 ในประเทศจีน [37] ซึ่งผลการศึกษาที่ได้มี 2 แนวทาง คือ พบว่ามีเพียง 5 งานวิจัยที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ [32, 38-40, 42] และอีก 8 งานวิจัยที่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ มีค่า OR เท่ากับ 1.65, 95% CI (0.89-1.53) แต่มีผลในการเพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งตับ และไม่เป็นไปตามสมการของ Hardy-Weinberg Equilibrium (HWE) [29-31, 33-37, 51]

ส่วนความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *GSTT1* [29-38, 40, 42, 51] 13 งานวิจัยที่ทำการศึกษา จำนวน 2,423 คน ใน case group และ 4,327 คนใน control group โดยทำการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมแบบ null allele กับ present โดยทำการเปรียบเทียบกับกลุ่มคนปกติ พบความถี่ของการเกิด null allele คิดเป็นร้อยละ 18 ในประเทศอิตาลี [30], คิดเป็นร้อยละ 60.2 ในประเทศจีน [37] ซึ่งพบว่า *GSTT1* (null allele) มีผลในการเพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งตับ [29, 31-33, 35, 36, 38, 40, 42] มีค่า OR เท่ากับ 1.19, 95% CI (0.99-1.44) และไม่เป็นไปตามสมการของ Hardy-Weinberg Equilibrium (HWE)

ส่วนความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *GSTP1* ในตำแหน่ง A313G มีเพียง 3 งานวิจัยที่ทำการศึกษา [36, 38, 51] จำนวน 398 คน ใน case group และจำนวน 538 คน ใน control group มีหนึ่งงานวิจัยที่พบว่าไม่มีความสัมพันธ์กับการเกิดมะเร็งตับ ($p< 0.17$) [51] ส่วนในอีกสองงานวิจัยที่เหลือ มีหนึ่งงานวิจัยพบว่าเมื่อทำการศึกษาร่วมกันระหว่าง heterozygous กับ homozygous mutant พบว่ามีความเสี่ยงเพิ่มต่อการเกิดมะเร็งตับ [36] ซึ่งเป็นไปตามสมการของ Hardy-Weinberg Equilibrium (HWE) ส่วนอีกหนึ่งงานวิจัย พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่มีผลในการลดความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งตับ โดยมีค่า OR เท่ากับ 0.75, 95% CI (0.50-1.15) [38]