

การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการกลายพันธุ์ของยีนซีทีแอลเอโฟร์(ที่ตำแหน่งเอ49จี)
กับการเกิดโรคอโตอิมมูนของต่อมไทรอยด์



นางศุภนิตย์ พุฒิโกคิน

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต


สาขาวิชาอายุรศาสตร์ ภาควิชาอายุรศาสตร์

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2552

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

THE ASSOCIATION OF MUTATION OF CYTOTOXIC T LYMPHOCYTE-ASSOCIATED
ANTIGEN-4(AT A49G) AND AUTOIMMUNE THYROID DISEASE



Mrs. Supanit Puttipokin

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfilment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Medicine

Department of Medicine

Faculty of Medicine

Chulalongkorn University

Academic Year 2009

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์

การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการกลายพันธุ์ของยีนซีทีแอลเอโฟร์ (ที่ตำแหน่งเอ49 จี) กับการเกิดโรคอโตอิมมูนของต่อมไทรอยด์

โดย

นางสาว ศุภนิത്യ พุฒิโกคิน

สาขาวิชา

อายุรศาสตร์

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

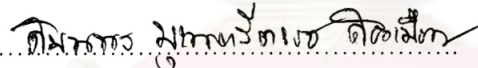
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ ธิติ สันับบุญ

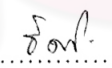
คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้หัวข้อวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต


คณบดีคณะแพทยศาสตร์

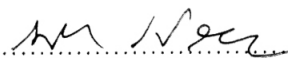
(ศาสตราจารย์ นายแพทย์ อติสร ภัทราดุลย์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....  ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ แพทย์หญิง สมนพร บุณยะรัตเวช สองเมือง)

.....  อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ ธิติ สันับบุญ)

.....  กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ วิโรจน์ ศรีอุฬารพงศ์)

.....  กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ ธีรยุทธ เปล่งวิทยา)

ศุภนิตย์ พุฒิโกคิน: การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการกลายพันธุ์ของยีนซีทีแอลเอโฟร์(ที่ตำแหน่ง ๔๕๙จี) กับการเกิดโรคคออโตอิมมูนของต่อมไทรอยด์ (THE ASSOCIATION OF MUTATION OF CYTOTOXIC T LYMPHOCYTE-ASSOCIATED ANTIGEN-4 (AT A49G) AND AUTOIMMUNE THYROID DISEASE อ. ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: ผศ. นพ .ธิตี สันบุญญา , 65 หน้า.

ที่มา โรคคออโตอิมมูนของต่อมไทรอยด์หรือโรคภูมิคุ้มกันต่อต่อมไทรอยด์เป็นภาวะที่พบได้บ่อย ประกอบด้วย 2 ภาวะที่สำคัญคือ ภาวะไทรอยด์เป็นพิษชนิดเกรฟและไทรอยด์อักเสบชนิดฮาซิโมโต สาเหตุของโรคในกลุ่มนี้พบว่ามีสัมพันธ์กับความเสียหายทั้งทางพันธุกรรมและสิ่งแวดล้อม ปัจจัยทางพันธุกรรมที่สำคัญคือ ยีนซีทีแอลเอโฟร์พบว่ามี ความสัมพันธ์กับโรสดังกล่าวในหลายเชื้อชาติ การศึกษานี้มีจุดประสงค์เพื่อจะศึกษาความสัมพันธ์ของยีนซีทีแอลเอโฟร์ กับการเกิดโรคไทรอยด์เป็นพิษชนิดเกรฟและโรคไทรอยด์อักเสบชนิดฮาซิโมโต

วิธีดำเนินการวิจัย ศึกษาความชุกของการกลายพันธุ์ของยีนซีทีแอลเอโฟร์ สองตำแหน่งคือที่ ๔๕๙จี และ ซีที60 โดยสกัดสารพันธุกรรมโดยวิธีมาตรฐานและทำการตรวจหาการกลายพันธุ์ดังกล่าวโดยวิธีโพลีเมอร์เลส เช่น รีเอคชั่น เรสตริกชัน แฟรงเมนต์ ในผู้ป่วยกลุ่มไทรอยด์เป็นพิษชนิดเกรฟจำนวน 113 คน กลุ่มโรคไทรอยด์อักเสบชนิดฮาซิโมโตจำนวน 41 คน เปรียบเทียบกับของกลุ่มควบคุมจำนวน 113 คน

ผลการวิจัย พบความชุกของอัลลีลชนิด จี ที่ตำแหน่ง ๔๕๙จี ของยีนซีทีแอลเอโฟร์ร้อยละ 63.7 ในกลุ่มผู้ป่วยไทรอยด์เป็นพิษชนิดเกรฟเทียบกับร้อยละ 45.1 ในกลุ่มควบคุม ($P = 0.005$) คิดเป็นค่าความสัมพันธ์ (odds ratio)=2.135, 95%CI = 1.253 - 3.639) ส่วนความชุกของอัลลีลชนิด เอ ที่ตำแหน่ง ซีที60 ของยีนซีทีแอลเอโฟร์เท่ากับ ร้อยละ 33.2 ในกลุ่มผู้ป่วยไทรอยด์เป็นพิษชนิดเกรฟเทียบกับร้อยละ 36.7 ในกลุ่มควบคุม($P = 0.43$) สำหรับโรคไทรอยด์อักเสบชนิดฮาซิโมโตความชุกของอัลลีลชนิด จี ที่ตำแหน่ง ๔๕๙จี ของยีนซีทีแอลเอโฟร์เท่ากับร้อยละ 53.7 ในกลุ่มผู้ป่วยเทียบกับร้อยละ 44.8 ในกลุ่มควบคุม ($P = 0.178$) และความชุกของอัลลีลชนิด เอ ที่ตำแหน่ง ซีที60 ของยีนซีทีแอลเอโฟร์เท่ากับร้อยละ 62.2 ในกลุ่มผู้ป่วยเทียบกับร้อยละ 37 ในกลุ่มควบคุม($P = 0.01$)

สรุปผล การกลายพันธุ์ของยีนซีทีแอลเอโฟร์เฉพาะที่ตำแหน่ง ๔๕๙จี เท่านั้นที่พบว่ามีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคไทรอยด์เป็นพิษชนิดเกรฟในผู้ป่วยชาวไทย ในขณะที่ไม่พบความสัมพันธ์ของการกลายพันธุ์ของยีนดังกล่าวกับการเกิดโรคไทรอยด์อักเสบชนิดฮาซิโมโต

ภาควิชา.....อายุรศาสตร์.....
สาขาวิชา.....อายุรศาสตร์.....
ปีการศึกษา.....2552.....

ลายมือชื่อนิสิต.....
ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก.....

5174839030 : MAJOR MEDICINE(ENDOCRINOLOGY)

KEYWORDS : *CTLA-4 /A49G/CT 60/* autoimmune thyroid disease

SUPANIT PUTTIPOKIN: THE ASSOCIATION OF MUTATION OF CYTOTOXIC T LYMPHOCYTE-ASSOCIATED ANTIGEN-4 (AT A49G) AND AUTOIMMUNE THYROID DISEASE. THESIS ADVISOR: ASST. PROF. THITI SNABBOON, M.D., 65 pp.

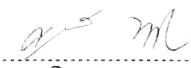

Background Autoimmune thyroid disease (AITD), Graves' disease (GD) and Hashimoto's thyroiditis (HT), is a complex interplay of genetic and environmental factors. Recently, the cytotoxic T-lymphocyte antigen-4 (*CTLA-4*) gene has been reported to be increased susceptibility to AITD. Therefore, we have analyzed two *CTLA-4* polymorphisms including +49G>A and *CT60* in Thai patients affected with AITD.

Methods We studied 113 GD, 41 HT patients and 113 healthy controls, matched for gender. The *CTLA-4* +49G>A and *CT60* polymorphisms were genotyped by using polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism method.

Results An increase in frequency of the G allele at position 49 in exon 1 was seen in GD patients compared with control subjects (63.7% vs. 45.1%, respectively, $P = 0.005$; odds ratio = 2.135 (95%CI = 1.253 - 3.639); however, this finding was not observed in HT patients. No significant association was found for the *CT60* polymorphism with AITD.

Conclusions These results suggest that the *CTLA-4* A49G polymorphism is involved the susceptibility for GD in the Thai.

Department : Medicine
Field of Study : Medicine
Academic Year : 2009

Student's Signature : 
Advisor's Signature : 

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณทุกท่านที่มีส่วนร่วมทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงสมความมุ่งหมาย
หน่วยโรคต่อมไร้ท่อและเมตะบอลิซึมภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

- | | |
|---------------------------|---|
| 1. ผศ.นพ. ธิติ สันับบุญ | อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ |
| 2. นางสาวณัฐนิชา ห่วงงาม | งานในห้องปฏิบัติการ |
| 3. นางโศภิตศจี ปสาทรรัตน์ | สำหรับการช่วยเจาะเลือดและเก็บตัวอย่างเลือดผู้ป่วย |
| 4. นางอังคณา เหลี่ยมมุกดา | สำหรับการช่วยเจาะเลือดและเก็บตัวอย่างเลือดผู้ป่วย |
- ภาควิชาเวชศาสตร์ชั้นสูงตร โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทย
- | | |
|---------------------|---|
| 1. นายศิวากร ตู่ทอง | สำหรับการช่วยเจาะเลือดและเก็บตัวอย่างเลือดผู้ป่วย |
|---------------------|---|



ศูนย์วิทยุทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ฌ
สารบัญภาพ.....	ฎ
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ.....	ฐ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1. ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย.....	1
1.2. วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	5
1.3. คำถามการวิจัย.....	5
1.4. สมมติฐาน.....	6
1.5. กรอบแนวความคิดในการวิจัย.....	6
1.6. ข้อตกลงเบื้องต้น.....	7
1.7. ข้อยกเว้นการวิจัย.....	7
1.8. คำสำคัญ.....	7
1.9. คำจำกัดความที่ใช้ในการวิจัย.....	7
1.10 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	7
1.11 วิธีดำเนินการวิจัย.....	7
1.12 ปัญหาทางจริยธรรม.....	8
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	9
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	19
3.1. รูปแบบการวิจัย.....	19
3.2. ประชากรศึกษาและตัวอย่าง.....	19
3.3. หลักเกณฑ์ในการคัดเลือกประชากรและตัวอย่าง.....	19
3.4. การคำนวณขนาดตัวอย่าง.....	19
3.5. เทคนิคในการสุ่มตัวอย่าง.....	20

3.6. การสังเกตและการวัด.....	20
3.7. วิธีการศึกษา.....	21
3.8. การรวบรวมข้อมูล.....	23
3.9. การวิเคราะห์ข้อมูล.....	23
บทที่ 4 ผลการวิจัย.....	24
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ.....	47
สรุปผลการวิจัย.....	47
อภิปรายผลการวิจัย.....	47
ข้อเสนอแนะ.....	52
รายการอ้างอิง.....	53
ภาคผนวก.....	57
ภาคผนวก ก.....	58
ภาคผนวก ข.....	60
ภาคผนวก.ค.....	63
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....	65

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1	แสดง genotype และ allele ที่ตำแหน่ง A49G ของยีน <i>CTLA-4</i> ในผู้ป่วยโรค GD และผู้ป่วย DM type 1 และกลุ่มควบคุมในการศึกษาโดย Donner และคณะ.....	10
ตารางที่ 2	แสดง genotype และ allele ที่ตำแหน่ง A49G ของยีน <i>CTLA-4</i> ของผู้ป่วยโรค GD และ กลุ่มควบคุมในการศึกษาโดย Heward และคณะ.....	11
ตารางที่ 3	แสดง genotype และ allele ที่ตำแหน่ง A49G ของยีน <i>CTLA-4</i> ของผู้ป่วยโรค GD และ กลุ่มควบคุมในการศึกษาโดย Bednarczuk และคณะ.....	12
ตารางที่ 4	การวิเคราะห์แบบต่างๆของ <i>CTLA-4</i> polymorphism ที่ตำแหน่ง A49G กับการเกิดโรค ไทรอยด์เป็นพิษชนิด GD เทียบกับกลุ่มควบคุมในการศึกษาโดย Ban และคณะ.....	13
ตารางที่ 5	แสดง genotype และ allele ที่ตำแหน่ง A49G ของยีน <i>CTLA-4</i> ของผู้ป่วยโรค GD และ กลุ่มควบคุมในการศึกษาโดย Donner และคณะ.....	14
ตารางที่ 6	แสดงความสัมพันธ์ ของ haplotype ชนิดต่างๆ กับการเกิด AITDในการศึกษาโดย Cho และคณะ.....	16
ตารางที่ 7	แสดงอาการทางคลินิกของผู้ป่วยโรคไทรอยด์เป็นพิษชนิด GD และกลุ่มควบคุม.....	26
ตารางที่ 8	แสดงอาการทางคลินิกของผู้ป่วยโรคไทรอยด์อักเสบชนิด HT และกลุ่มควบคุม.....	27
ตารางที่ 9	แสดง allele ที่ตำแหน่ง A49G ของยีน <i>CTLA-4</i> ของผู้ป่วยโรคไทรอยด์เป็นพิษชนิด GD เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม.....	28
ตารางที่ 10	แสดง genotype ที่ตำแหน่ง A49G ของยีน <i>CTLA-4</i> ของผู้ป่วยโรคไทรอยด์ เป็นพิษชนิด GD เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม.....	28
ตารางที่ 11	แสดงการวิเคราะห์แบบต่างๆของ <i>CTLA-4</i> polymorphism ที่ตำแหน่ง A49G กับการ เกิดโรคไทรอยด์เป็นพิษชนิด GD เทียบกับกลุ่มควบคุม.....	29
ตารางที่ 12	แสดง allele ที่ตำแหน่ง CT60 ของยีน <i>CTLA-4</i> ของผู้ป่วยโรคไทรอยด์เป็นพิษชนิด GD เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม.....	29
ตารางที่ 13	แสดง genotype ที่ตำแหน่ง CT60 ของยีน <i>CTLA-4</i> ของผู้ป่วยโรคไทรอยด์ เป็นพิษชนิด GD เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม.....	30
ตารางที่ 14	แสดงการวิเคราะห์แบบต่างๆของ <i>CTLA-4</i> polymorphism ที่ตำแหน่ง CT60 กับการ เกิดโรคไทรอยด์เป็นพิษชนิด GD เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม.....	30

ตารางที่ 15	แสดง allele ที่ตำแหน่ง A49G ของยีน <i>CTLA-4</i> ของผู้ป่วยโรคไทรอยด์อักเสบชนิด HT เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม.....	31
ตารางที่ 16	แสดง genotype ที่ตำแหน่ง A49G ของยีน <i>CTLA-4</i> ของผู้ป่วยโรคไทรอยด์อักเสบชนิด HT เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม.....	31
ตารางที่ 17	แสดงการวิเคราะห์แบบต่างๆของ <i>CTLA-4</i> polymorphism ที่ตำแหน่ง A49G กับ การเกิดโรคไทรอยด์อักเสบชนิด HT เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม.....	32
ตารางที่ 18	แสดงเปรียบเทียบ A allele กับ G allele ที่ตำแหน่ง CT60 ของยีน <i>CTLA-4</i> กับ การเกิดโรคไทรอยด์อักเสบชนิด HT	32
ตารางที่ 19	แสดง genotype ที่ตำแหน่ง CT60 ของยีน <i>CTLA-4</i> ของผู้ป่วยโรคไทรอยด์อักเสบชนิด HT เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม.....	33
ตารางที่ 20	การวิเคราะห์แบบต่างๆของยีน <i>CTLA-4</i> polymorphism ที่ตำแหน่ง CT60 กับ การเกิดโรคไทรอยด์อักเสบชนิด HT เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม.....	33
ตารางที่ 21	แสดง allele ที่ตำแหน่ง A49G ของยีน <i>CTLA-4</i> ของผู้ป่วยโรคไทรอยด์อักเสบชนิด HT และโรคไทรอยด์เป็นพิษชนิด GD เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม.....	34
ตารางที่ 22	แสดง genotype ที่ตำแหน่ง A49G ของยีน <i>CTLA-4</i> ของผู้ป่วยโรคไทรอยด์อักเสบชนิด HT และโรคไทรอยด์เป็นพิษชนิด GD เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม.....	34
ตารางที่ 23	การวิเคราะห์แบบต่างๆของ <i>CTLA-4</i> polymorphism ที่ตำแหน่ง A49G กับ การเกิดโรคไทรอยด์อักเสบชนิด HT และโรคไทรอยด์เป็นพิษชนิด GD เปรียบเทียบกับ กลุ่มควบคุม.....	35
ตารางที่ 24	แสดง allele ที่ตำแหน่ง CT60 ของยีน <i>CTLA-4</i> ของผู้ป่วยโรคไทรอยด์อักเสบ ชนิด HT และโรคไทรอยด์เป็นพิษชนิด GD เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม.....	35
ตารางที่ 25	แสดง genotype ที่ตำแหน่ง CT60 ของยีน <i>CTLA-4</i> ของผู้ป่วยโรคไทรอยด์อักเสบชนิด HT และโรคไทรอยด์เป็นพิษชนิด GD เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม.....	36
ตารางที่ 26	การวิเคราะห์แบบต่างๆของ <i>CTLA-4</i> polymorphism ที่ตำแหน่ง CT60 กับ การเกิดโรคไทรอยด์อักเสบชนิด HT และโรคไทรอยด์เป็นพิษชนิด GD เปรียบเทียบกับ กลุ่มควบคุม.....	36
ตารางที่ 27	แสดงประวัติครอบครัวของผู้ป่วยโรคไทรอยด์เป็นพิษชนิด GD แยกตาม allele ที่ตำแหน่ง A49G ของยีน <i>CTLA-4</i>	37

ตารางที่ 28	แสดงประวัติครอบครัวของผู้ป่วยไทรอยด์เป็นพิษชนิด GD แยกตาม allele ที่ตำแหน่ง CT60 ของยีน CTLA-4.....	38
ตารางที่ 29	แสดงประวัติครอบครัวของผู้ป่วย ไทรอยด์อักเสบชนิด HT แยกตาม allele ที่ตำแหน่ง A49G ของยีน CTLA-4.....	39
ตารางที่ 30	แสดงประวัติครอบครัวของผู้ป่วยไทรอยด์อักเสบชนิด HT แยกตาม allele ที่ตำแหน่ง CT60 ของยีน CTLA-4.....	40
ตารางที่ 31	ขนาดต่อมไทรอยด์ และระดับฮอร์โมนของผู้ป่วย GD และไทรอยด์อักเสบชนิด HT.....	41
ตารางที่ 32	แสดงวิธีการรักษาของผู้ป่วย GD แยกตาม allele ที่ตำแหน่ง A49G ของยีน CTLA-4.....	42
ตารางที่ 33	แสดงวิธีการรักษาของผู้ป่วย GD แยกตาม allele ที่ตำแหน่ง CT60 ของยีน CTLA-4.....	42
ตารางที่ 34	แสดง allele ที่ตำแหน่ง A49G ของยีน CTLA-4 ของผู้ป่วยโรคไทรอยด์อักเสบ ชนิด HT เปรียบเทียบระหว่าง hypothyroidism และ subclinical hypothyroidism.....	43
ตารางที่ 35	แสดง genotype ที่ตำแหน่ง A49G ของยีน CTLA-4 ของผู้ป่วยโรคไทรอยด์อักเสบ ชนิด HT เปรียบเทียบระหว่าง hypothyroidism และ subclinical hypothyroidism.....	43
ตารางที่ 36	แสดง allele ที่ตำแหน่ง CT60 ของยีน CTLA-4 ของผู้ป่วยโรคไทรอยด์อักเสบชนิด HT เปรียบเทียบระหว่าง hypothyroidism และ subclinical hypothyroidism.....	44
ตารางที่ 37	แสดง allele ที่ตำแหน่ง CT60 ของยีน CTLA-4 ของผู้ป่วยโรคไทรอยด์อักเสบชนิด HT เปรียบเทียบระหว่าง hypothyroidism และ subclinical hypothyroidism.....	44
ตารางที่ 38	แสดง genotype ที่ตำแหน่ง A49G และ CT60 ของยีน CTLA-4 ของผู้ป่วยโรค ไทรอยด์เป็นพิษชนิด GD เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม.....	45
ตารางที่ 39	แสดง genotype ที่ตำแหน่ง A49G และ CT60 ของยีน CTLA-4 ของผู้ป่วยโรค ไทรอยด์อักเสบชนิด HT เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม.....	46
ตารางที่ 40	ศึกษาความสัมพันธ์ของยีน CTLA-4 ที่ตำแหน่ง A49G กับการเกิดโรค GDในชาวเอเชีย..	48
ตารางที่ 41	ศึกษาความสัมพันธ์ของยีน CTLA-4 ที่ตำแหน่ง CT60 กับการเกิดโรค GDในชาวเอเชีย..	49
ตารางที่ 42	ศึกษาความสัมพันธ์ของยีน CTLA-4 ที่ตำแหน่ง A49G กับการเกิดโรค GDในชาวเอเชีย..	50
ตารางที่ 43	ศึกษาความสัมพันธ์ของยีน CTLA-4 ที่ตำแหน่ง CT60กับการเกิดโรค GDในชาวเอเชีย...	51

สารบัญภาพ

ภาพที่ 1	แสดงการกระตุ้น T lymphocyte ด้วยเซลล์ Antigen presenting cell โดยแสดงโปรตีนบนผิวเซลล์.....	2
ภาพที่ 2	แสดงโปรตีนทั้งสองชนิด คือ fICTLA-4 และ sCTLA4.....	2
ภาพที่ 3	แสดง sCTLA-4 ที่เพิ่มขึ้นแย่งโปรตีน CD28 ในการจับกับโปรตีน B7(CD80/86).....	3
ภาพที่ 4	แสดงยีน <i>CTLA-4</i>	4
ภาพที่ 5	แสดงตำแหน่ง SNPs ตำแหน่ง CT44 หรือ -319C>T, CT42 หรือ +49G>A, CT55 หรือ +1822C>T, CT60, JO31, JO30, JO27-1 และ (AT) _n repeated sequence บนยีน <i>CTLA-4</i>	5
ภาพที่ 6	meta-analysis แสดงความสัมพันธ์ของ SNPs ที่ตำแหน่ง A49G กับการเกิดโรค ไทรอยด์เป็นพิษชนิด GD.....	17
ภาพที่ 7	meta-analysis แสดงความสัมพันธ์ของ SNPs ที่ตำแหน่ง CT60 กับการเกิดโรค ไทรอยด์เป็นพิษชนิด GD.....	17
ภาพที่ 8	meta-analysis แสดงความสัมพันธ์ของ SNPs ที่ตำแหน่ง A49G กับการเกิดโรค ไทรอยด์อักเสบชนิด HT.....	18
ภาพที่ 9	meta-analysis แสดงความสัมพันธ์ของ SNPs ที่ตำแหน่ง CT60 กับการเกิดโรค ไทรอยด์อักเสบชนิด HT.....	18
ภาพที่ 10	<i>CTLA4</i> A49G หลังทำ PCR-RFLP ใช้ 2.5%gel electrophoresis.....	22
ภาพที่ 11	<i>CTLA4</i> CT60 หลังทำ PCR-RFLP ใช้ 2.5%gel electrophoresis.....	22

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

CTLA-4	Cytotoxic T lymphocyte associated antigen-4
A49G	SPN บนยีน CTLA-4 บน exon ที่ 1 เกิดจากการเปลี่ยนจาก A → G allele
CT60	SPN บนยีน CTLA-4 บน exon ที่ 4 ด้าน 3'untranslated มีการเปลี่ยนจาก G → A allele
PCR	Polymerase chain reaction



ศูนย์วิจัยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1

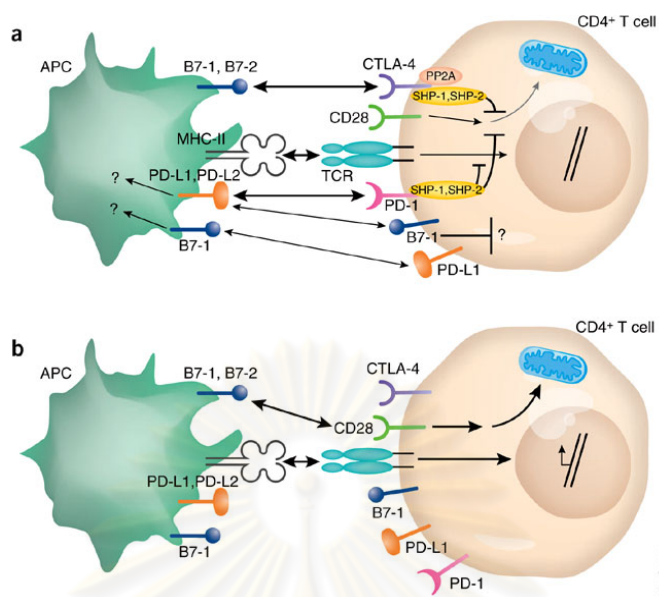
บทนำ

1.1. ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย

Autoimmune thyroid disease (AITD) พบได้มากกว่า 5% ของประชากร [1] โดยที่โรคไทรอยด์เป็นพิษชนิด Graves' disease (GD) และโรคไทรอยด์อักเสบชนิด Hashimoto (HT) ถือเป็นโรคที่พบบ่อยที่สุดในกลุ่ม AITD สาเหตุของโรคกลุ่มนี้ มีทั้งจากปัจจัยทางพันธุกรรมและสิ่งแวดล้อม พบความเสี่ยงของการเกิดโรคไทรอยด์เป็นพิษชนิด GD ในฝาแฝดไข่ใบเดียวกัน 35% ขณะที่ในฝาแฝดพี่น้องพบได้เพียง 3% [2] สำหรับโรคไทรอยด์อักเสบชนิด HT พบความเสี่ยงของการเกิดโรคในฝาแฝดไข่ใบเดียวกัน 55% แต่ไม่พบความเสี่ยงในฝาแฝดพี่น้อง [3] เป็นหลักฐานบ่งว่าพันธุกรรมมีผลต่อการเกิดโรค ส่วนปัจจัยทางสิ่งแวดล้อม ได้แก่ ฮอร์โมนเพศ ปริมาณไอโอดีน การสูบบุหรี่ ความเครียด และยา เช่น interferon [4]

ปัจจัยทางพันธุกรรมที่ศึกษากันมากนอกเหนือจากตำแหน่งเอ็มเอชซี (MHC) บนโครโมโซมที่ 6p21 ซึ่งกำหนดการสร้างโปรตีนเอชแอลเอ (HLA antigen) แล้ว ได้แก่ ยีนซีทีแอลเอฟ (CTLA-4) ซึ่งพบว่าสัมพันธ์กับโรคไทรอยด์เป็นพิษชนิด GD และโรคไทรอยด์อักเสบชนิด HT ทั้งในชาวผิวขาวและชาวเอเชีย [5]

CTLA-4 (cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4) เป็นโปรตีนบนผิวทีเซลล์ ลิมโฟไซท์ (T cell Lymphocyte) ทำหน้าที่เกี่ยวกับสัญญาณเสริม (co-stimulatory signal) ในการจับของเซลล์นำเสนอแอนติเจน (antigen presenting cell, APC) กับ T cell Lymphocyte โดยที่โปรตีน HLA class II บนผิว APC จะจับกับตัวรับบนผิว T cell lymphocyte (T cell receptor) แล้วจะมีการกระตุ้นให้ T cell Lymphocyte นั้นหลั่งไซโตไคน์ (cytokines) หรือแบ่งตัวต่อไป ซึ่งการจับกันของโปรตีน HLA class II กับ T cell receptor จะกระตุ้นการทำงานของ T cell Lymphocyte ได้ต้องอาศัย co-stimulatory signal ได้แก่ การจับกันระหว่าง B7(CD80/86) บนผิว APC กับโปรตีน CD 28 บนผิว T cell Lymphocyte แต่ถ้าโปรตีน B7 จับกับโปรตีน CTLA-4 บนผิว T cell Lymphocyte จะยับยั้งการกระตุ้น T cell Lymphocyte นั้นโดยจะมีการส่งสัญญาณจาก post receptor signal โปรตีน CTLA-4 สามารถแย่งที่ CD28 ในการจับกับโปรตีน B7 ได้ โดยความสามารถในการจับโปรตีน B7 มากกว่า CD28 ถึง 10 เท่า [6,7]



รูปที่ 1 แสดงการกระตุ้น T cell lymphocyte ด้วย APC โดยแสดงโปรตีนบนผิวเซลล์

โปรตีน CTLA-4 มีสองชนิดคือ ชนิดที่หนึ่งประกอบด้วยกรดอะมิโน 149 ตัว ขนาด 45 kD หรือเรียกว่า full-length CTLA-4 (fICTLA-4) และชนิดที่สองซึ่งตัด exon3 ซึ่งเป็นส่วน transmembrane region ออก เหลือกรดอะมิโน 122 ตัว ขนาด 23 kD และละลายในพลาสมา ไม่ได้อยู่บนผิวเซลล์เรียกว่า soluble CTLA-4 (sCTLA-4) แสดงในรูปที่ 2

mRNA

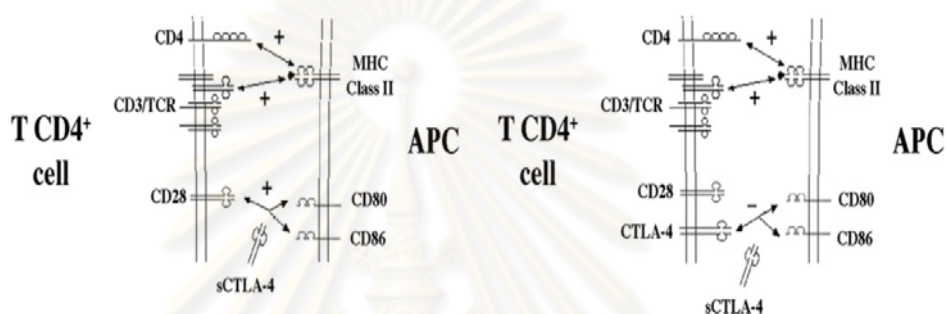
fICTLA-4 672bp	1	2	3	4
-------------------	---	---	---	---

sCTLA4 563bp	1	2	4
-----------------	---	---	---

รูปที่ 2 แสดงโปรตีนทั้งสองชนิด คือ fICTLA-4 และ sCTLA4

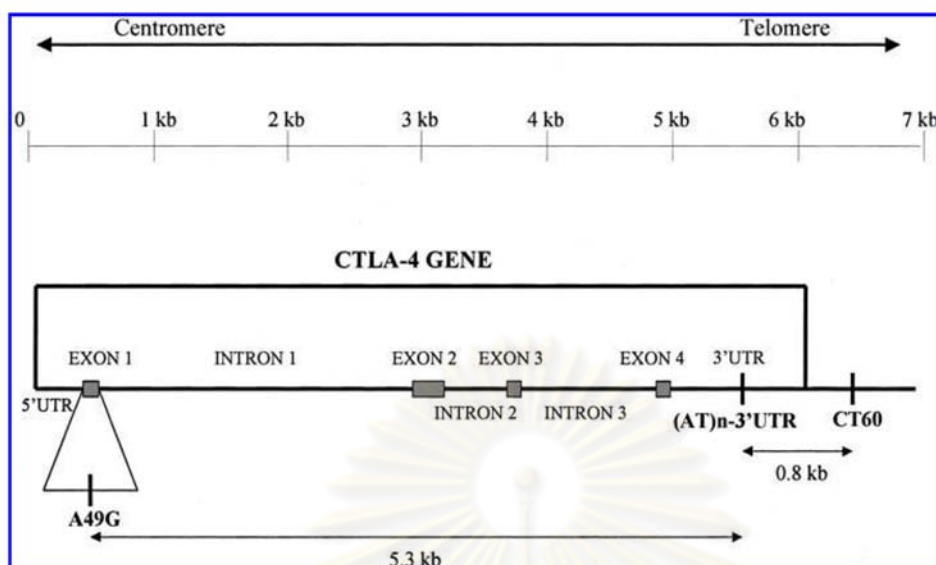
sCTLA-4 สามารถจับโปรตีน B7 บนผิว APC ในหลอดทดลองได้ โดยผลใน ระยะ 2-3 วันแรกพบว่าการจับกันจะยับยั้งการแบ่งตัวของเซลล์ในหลอดทดลองได้โดยขึ้นกับปริมาณของ sCTLA-4 (dose dependent manner) แต่หลังจาก 2-3 วันกลับเพิ่มการแบ่งตัวของ APC โดยรูปที่ 3 อธิบายว่าในระยะแรก sCTLA-4 ที่เพิ่มขึ้นแย่งจับกับโปรตีน B7 (CD80/86) กับโปรตีน CD28 ทำให้

ไม่มีสัญญาณเสริมกระตุ้น T cell lymphocyte แต่เมื่อ T cell lymphocyte ถูกกระตุ้นแล้ว sCTLA-4 จะแย่ง fCTLA-4 ในการจับโปรตีน B7 ทำให้ไม่มีสัญญาณเสริมไปยัง T cell lymphocyte นั้น ซึ่งหาก T cell lymphocyte นั้นเป็นเซลล์ที่ตอบสนองต่อเนื้อเยื่อตนเอง (autoreactive T cell) sCTLA-4 ที่เพิ่มขึ้นจึงเพิ่มการตอบสนองภูมิคุ้มกันต่อเนื้อเยื่อตนเองได้ [8,9]



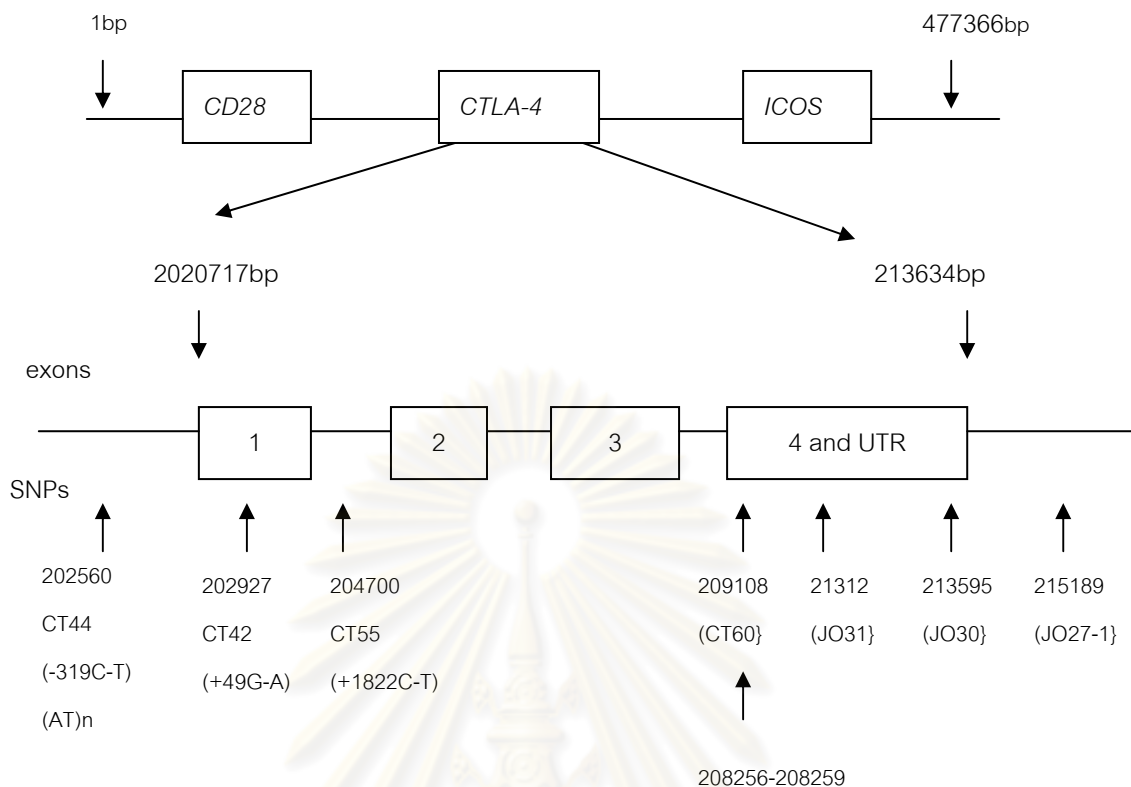
รูปที่ 3 แสดง sCTLA-4 ที่เพิ่มขึ้นแย่งโปรตีน CD28 ในการจับกับโปรตีน B7 (CD80/86) ในระยะแรกของการกระตุ้น T cell lymphocyte (รูปด้านซ้ายมือ) เมื่อ T cell lymphocyte ถูกกระตุ้นแล้ว (รูปด้านขวามือ) sCTLA-4 จะแย่ง fCTLA-4 ในการจับโปรตีน B7 ทำให้ไม่มีสัญญาณเสริมไปยัง T cell lymphocyte (T CD4+ cell คือ T cell lymphocyte, APC คือเซลล์นำเสนอแอนติเจน)

โปรตีน CTLA-4 สร้างจากยีน *CTLA4* บนโครโมโซมคู่ที่ 2q33 [10] ประกอบด้วย 4 exon พบว่า single nucleotide polymorphisms (SNPs) ที่ตำแหน่ง A49G ซึ่งอยู่บน exon 1 ประกอบด้วย 2 allele คือ A (adenine) และ G (guanine) การเปลี่ยนจาก A allele เป็น G allele ทำให้มีการแทนที่โปรตีน Treonine โดย Alanine ซึ่งมีความสัมพันธ์ระหว่างการเกิดโรคไทรอยด์เป็นพิษชนิด GD (Relative Risk) 2 เท่า สำหรับ SNPs ที่ตำแหน่ง C760 polymorphism ไม่เปลี่ยนแปลงชนิดกรดอะมิโน แต่การศึกษาพบว่าเกี่ยวข้องกับการตัดโปรตีนเป็น fCTLA-4 หรือ sCTLA-4 ซึ่งมีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคไทรอยด์เป็นพิษชนิด GD มีค่า Odds Ratio 1.51 เท่า (ค่าความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์เท่ากับ 1.31-1.75)



รูปที่ 4 แสดงยีน CTLA-4

การศึกษาทบทวนวรรณกรรม (meta-analysis) [11] ในผู้ป่วยโรคไทรอยด์เป็นพิษชนิด GD พบความสัมพันธ์ของ SNPs ที่ตำแหน่ง A49G ต่อการเกิดโรค (Odds ratio, OR) 1.4 เท่า ส่วนการศึกษาที่ตำแหน่ง CT60 polymorphism พบความสัมพันธ์ต่อการเกิดโรค (Odds ratio, OR) 1.45 เท่า ในผู้ป่วยโรคไทรอยด์อักเสบชนิด HT พบความสัมพันธ์ของ G allele ที่ตำแหน่ง A49G ต่อการเกิดโรค (Odds ratio, OR) 1.3 เท่าซึ่งมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 2 \times 10^{-9}$) ส่วนการศึกษาที่ตำแหน่ง CT60 พบความสัมพันธ์ต่อการเกิดโรค (Odds ratio, OR) 1.31 เท่าซึ่งมีนัยสำคัญทางสถิติ



รูปที่ 5 แสดงตำแหน่ง SNPs ตำแหน่ง CT44 หรือ -319C>T, CT42 หรือ +49G>A, CT55 หรือ +1822C>T, CT60, JO31, JO30, JO27-1 และ (AT)_n repeated sequence บนยีน *CTLA-4* (*ICOS* ย่อมาจาก inducible costimulatory molecule, UTR ย่อมาจาก untranslated region)

การศึกษานี้ได้ทำการศึกษาดำเนินการตำแหน่ง A49G และ CT60 ต่อการเกิดโรคไทรอยด์เป็นพิษชนิด GD และไทรอยด์อักเสบชนิด HT ในประชากรไทย ซึ่งยังไม่เคยมีการศึกษามาก่อน

1.2.วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาหาความสัมพันธ์ระหว่างการกลายพันธุ์ของยีน *CTLA-4* (ที่ตำแหน่ง A49G) กับการเกิดโรค AITD
2. เพื่อศึกษาหาความสัมพันธ์ระหว่างการกลายพันธุ์ของยีน *CTLA-4* (ที่ตำแหน่ง CT60) กับการเกิดโรค AITD

1.3.คำถามของการวิจัย

คำถามหลัก

การกลายพันธุ์ของยีน *CTLA-4* ที่ตำแหน่ง A49G มีความสัมพันธ์กับการเกิดโรค AITD หรือไม่

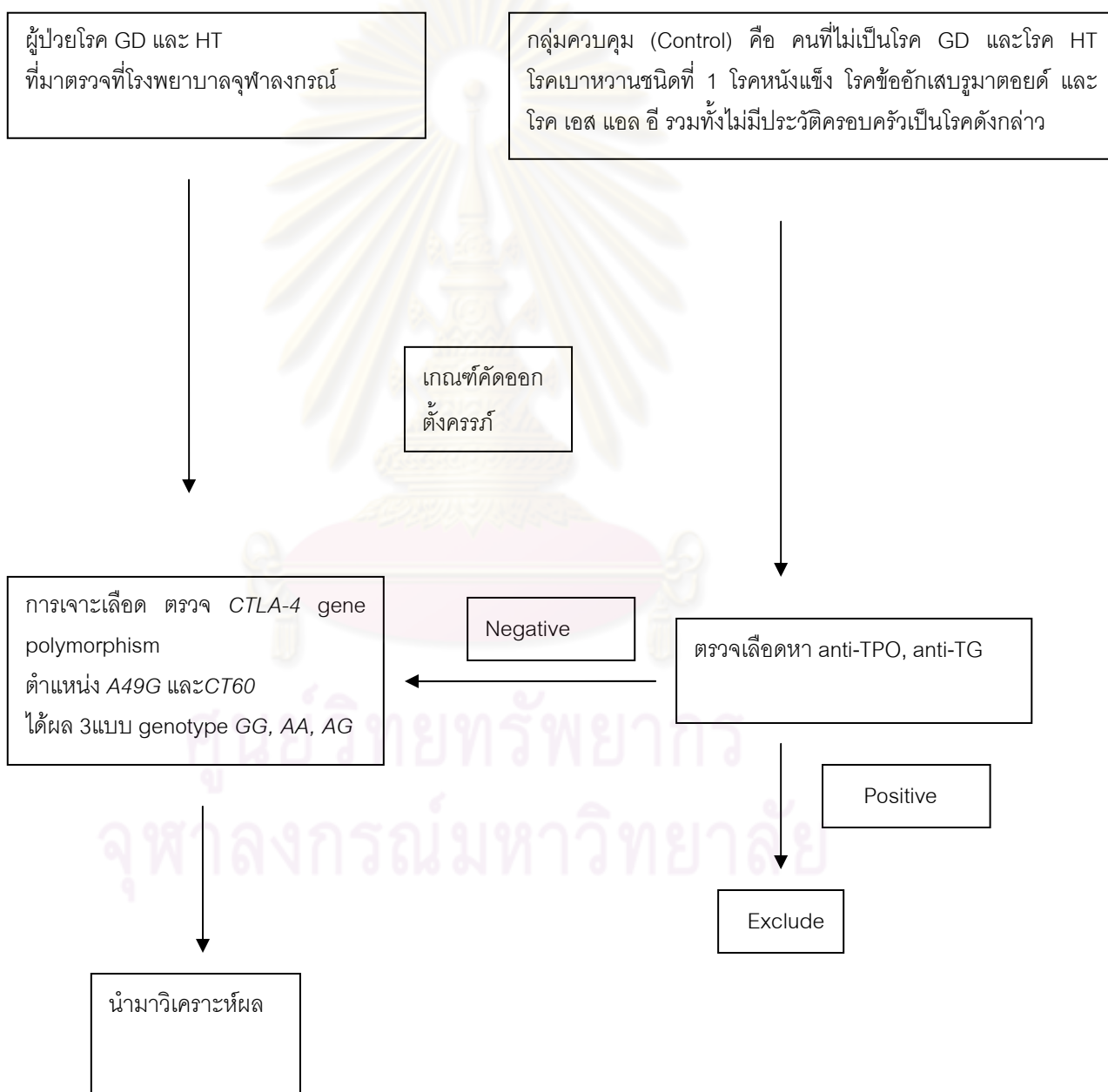
คำถามรอง

การกลายพันธุ์ของยีน *CTLA-4* ที่ตำแหน่ง *CT60* มีความสัมพันธ์กับการเกิดโรค AITD หรือไม่

1.4.สมมติฐาน (Hypothesis)

G allele ที่ตำแหน่ง *A49G* ของยีน *CTLA-4* มีความสัมพันธ์กับการเกิดโรค AITD

1.5.กรอบแนวคิดในการวิจัย



1.6. ข้อตกลงเบื้องต้น

ไม่มี

1.7. ข้อจำกัดในการวิจัย

1. ข้อมูลไม่ครบถ้วน
2. กลุ่มควบคุมและครอบครัว อาจยังไม่ปรากฏอาการของโรคไทรอยด์เป็นพิษชนิด GD หรือโรคไทรอยด์อักเสบชนิด HT ได้

1.8. คำสำคัญ (Key Words)

CTLA-4 polymorphism

A49G

CT 60

autoimmune thyroid disease

1.9. คำจำกัดความที่ใช้ในการวิจัย

1. ผู้ป่วย GD ในการศึกษานี้ใช้เกณฑ์การวินิจฉัยทางคลินิก คือ มีภาวะไทรอยด์เป็นพิษ จากอาการ การตรวจร่างกายพบต่อมไทรอยด์โตแบบทั่วๆ และผลตรวจทางห้องปฏิบัติการพบฮอร์โมนไทรอยด์สูง ร่วมกับฮอร์โมนไทโรโทรปิน (thyrotropin, TSH) ต่ำ หรือร่วมกับตรวจร่างกายได้ยินเสียงฟู่ที่ต่อมไทรอยด์ (bruit) อาการแสดงทางตา (Graves' ophthalmopathy, GO) ลักษณะผิวหนังผิดปกติได้แก่ pretibial myxedema หรือ thyroid uptake สูง

2. ผู้ป่วยไทรอยด์อักเสบชนิด HT วินิจฉัยจากการตรวจพบแอนติบอดีต่อต่อมไทรอยด์ (thyroid antibody; anti-TPO และ anti-TG) ร่วมกับการตรวจร่างกายพบต่อมไทรอยด์โตแบบทั่วๆ และมีภาวะไทรอยด์ทำงานต่ำ

3. กลุ่มควบคุม (Control) คือ คนที่ไม่เป็นโรค GD HT และไม่มีคนในครอบครัวเป็นโรค GD หรือ HT และตรวจไม่พบแอนติบอดีต่อต่อมไทรอยด์ (anti-TPO < 5.61 IU/ml และ anti-TG < 4.11 IU/ml)

1.10. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย

ได้ทราบความชุกของการกลายพันธุ์ของยีน *CTLA-4* ที่ตำแหน่ง *A49G*, *CT60* ในการเกิดโรค AITD ในประชากรไทย

1.11. วิธีดำเนินการวิจัย

อาสาสมัครที่เข้าเกณฑ์การวิจัยที่มาตรวจตามนัดที่คลินิกเบาหวานและต่อมไร้ท่อของโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ได้ฟังข้อมูลการวิจัย ให้ความยินยอมเข้าร่วมการวิจัย สอบถามประวัติ

เพิ่มเติมและเจาะเลือดเพื่อสกัด DNA จากเม็ดเลือดขาวเพื่อหาความแปรผันของยีน CTLA 4 ในทุกกลุ่มและตรวจ thyroid antibody ในกลุ่มควบคุม

1.12. ปัญหาทางจริยธรรม

การศึกษานี้ใช้ข้อมูลจากเวชระเบียนผู้ป่วยนอกและการซักประวัติเพิ่มเติมโดยข้อมูลส่วนตัวของอาสาสมัครจะถูกเก็บเป็นความลับ ไม่มีการเปิดเผยชื่อ และใช้ข้อมูลเพื่องานวิจัยนี้เท่านั้นไม่เปิดเผยเพื่อประโยชน์อื่น ส่วนความเสี่ยงจากการเจาะเลือดนั้นผู้ป่วยจะมีอาการเจ็บปวดได้และอาจมีรอยช้ำหรือภาวะแทรกซ้อน ได้แก่ การอักเสบติดเชื้อดังนั้นการเจาะเลือดจะกระทำอย่างระมัดระวังโดยวิธีที่เป็นมาตรฐาน โดยผู้เชี่ยวชาญและใช้เทคนิคปลอดเชื้อ หากมีภาวะแทรกซ้อนเกิดขึ้นทางคณะผู้วิจัยจะรับผิดชอบดูแลให้ในทุกๆด้าน การศึกษาจะทำเฉพาะอาสาสมัครที่เข้าใจและยินยอมเป็นลายลักษณ์อักษรเท่านั้นและการวิจัยนี้ได้รับความเห็นชอบจากคณะกรรมการจริยธรรมของโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การศึกษาที่ผ่านมามีทั้งที่สนับสนุนและคัดค้านความสัมพันธ์ระหว่างการกลายพันธุ์ของยีน *CTLA4* ที่ตำแหน่ง A49G และ CT60 กับการเกิดโรค GD หรือโรค HT การศึกษานี้สนับสนุนได้แก่

การศึกษาโดย Marron และคณะ [12] ในผู้ป่วยโรค GD ชาวจีน 28 คน กลุ่มควบคุม 94 คน พบมี G allele ที่ตำแหน่ง A49G ของยีน *CTLA-4* ในผู้ป่วยโรค GD มากกว่ากลุ่มควบคุมแต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติเนื่องจากจำนวนผู้เข้าร่วมการศึกษาน้อย แต่พบความสัมพันธ์ของยีนดังกล่าวกับโรค DM type 1 ในกลุ่มตัวอย่าง

การศึกษาโดย Donner และคณะ [13] ในประชากรผิวขาว จำนวน 923 คน เป็นผู้ป่วยโรค GD 305 คน ผู้ป่วย inulin dependent diabetes mellitus (DM type 1) 293 คน และ กลุ่มควบคุม 325 คน โดยใช้วิธี PCR-based, single stranded conformation polymorphism (SSCP) assay of the *CTLA 4* exon 1 polymorphism พบว่า genotype GG และ G allele ที่ตำแหน่ง A49G ของยีน *CTLA-4* มีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคดังกล่าวดังแสดงในตาราง

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 1 แสดง genotype และ allele ที่ตำแหน่ง A49G ของยีน *CTLA-4* ในผู้ป่วยโรค GD และผู้ป่วย DM type 1 และกลุ่มควบคุมในการศึกษาโดย Donner และคณะ

	IDDM (n = 293, %)	GD (n = 305, %)	Control (n = 325, %)
Nucleotide at position 49			
GG	55(19%) ^a	63(21%) ^b	41(13%)
AG	147(50%) ^a	161(53%) ^b	149(46%)
AA	91(31%) ^a	81(26%) ^b	135(42%)
gene frequencies			
G allele	257(44%) ^c	287(47%) ^d	321(36%)
A allele	329(56%) ^c	323(53%) ^d	419(64%)
Phenotype frequencies			
G allele (Ala)+	202(69%) ^e	224(73%) ^f	190(58%)
A allele(Thr)+	238(81%) ^g	242(79%) ^h	284(87%)

^a $P = 0.01$

^b $P < 2 \times 10^{-4}$

^c $P < 4 \times 10^{-3}$

^d $P < 5 \times 10^{-5}$

^e $P < 0.009$, RR = 1.6

^f $P = 10^{-4}$, RR = 2

^g $P < 0.05$, RR = 0.6

^h $P < 0.1$, RR = 1.6

นอกจากนี้ SPN ดังกล่าวยังมีความสัมพันธ์กับการเกิดโรค DM type 1 ในการศึกษานี้เช่นเดียวกัน

การศึกษาโดย Chistyakov และคณะ [14] ในประชากรเมือง Moscow ประเทศรัสเซีย

จำนวน 171 คน เป็นผู้ป่วยโรค GD 78 คน และ กลุ่มควบคุม 93 คน โดยศึกษา polymorphism ของ *Ala17Thr* หรือ *A49G* ของยีน *CTLA-4* พบว่า *Ala/Ala* genotype มีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (RR = 2, $P = 0.001$)

การศึกษาโดย Kacem และคณะ [15] ในประชากรชาว Tunisian จำนวน 349 คน เป็นผู้ป่วยโรค GD 144 คนและ กลุ่มควบคุม 205 คน พบว่า AA homozygous ที่ตำแหน่ง A49G ของยีน *CTLA-4* มีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (OR = 1.89, $P = 0.02$)

การศึกษาโดย Heward และคณะ [16] ในประชากรอังกฤษจำนวน 747 คน เป็นผู้ป่วยโรค GD 379 คน และกลุ่มควบคุม 364 คน พบว่า G allele ที่ตำแหน่ง A49G ของยีน *CTLA-4* ในผู้ป่วยที่เป็นโรคเท่ากับร้อยละ 42 มากกว่ากลุ่มควบคุมซึ่งพบร้อยละ 31.5 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (OR = 1.58, $P < 0.0002$) และการกระจายตัวของแต่ละ genotype ที่พบของทั้งสองกลุ่มมีความแตกต่างกันตามตาราง

ตารางที่ 2 แสดง genotype และ allele ที่ตำแหน่ง A49G ของยีน *CTLA-4* ของผู้ป่วยโรค GD และกลุ่มควบคุมในการศึกษาโดย Heward และคณะ

	GD n(%)	Control n(%)	<i>P value</i>
Genotype frequency	379	363	
AA	122(32.1%)	164(45.1%)	3×10^{-5}
AG	192(50.6%)	171(47.1%)	
GG	65(17.3%)	28(7.8%)	
gene frequencies			
G allele	318(42%)	228(32%)	2×10^{-4}
A allele	440(58%)	498(68%)	

นอกจากนี้ยังพบผู้ป่วย GD ที่มี GG genotype มี thyroid function test คือค่าเฉลี่ยของระดับ thyroxine (free thyroxine, FT4) สูงกว่ากลุ่มที่มี AA genotype คือ estimated mean, 62.5 pmol/l; ระดับความเข้มข้นร้อยละ 95 อยู่ระหว่าง 53.9 - 72.4 เมื่อเทียบกับกลุ่ม AA genotype มีค่า mean, 50.9 pmol/l; ระดับความเข้มข้นร้อยละ 95 อยู่ระหว่าง 45.9 - 56.4 คิดเป็นค่า $F = 3.26$; $P = 0.021$

การศึกษาโดย Kouki และคณะ [17] ในประชากรจำนวน 104 คน ผู้ป่วยโรค GD 43 คน ผู้ป่วยโรค HT 18 คน และกลุ่มควบคุม 43 คน พบว่า G allele ที่ตำแหน่ง A49G ของยีน *CTLA-4* ในผู้ป่วยโรค GD มากกว่ากลุ่มควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P = 0.049$)

การศึกษาโดย Bednarczuk และคณะ [18] ในประชากรตัวอย่าง 2 กลุ่ม คือชาว

โปแลนด์ และชาวญี่ปุ่น โดยที่ชาวโปแลนด์ที่เป็นโรค GD จำนวน 264 คน กลุ่มควบคุม 194 คน ขณะที่ชาวญี่ปุ่นเป็นโรค GD 319 คน กลุ่มควบคุม 112 คน พบว่า GG genotype ที่ตำแหน่ง A49G ของยีน *CTLA-4* ในผู้ป่วย GD ชาวโปแลนด์และชาวญี่ปุ่นมากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (OR = 2.1, $P = 0.04$, OR = 1.7 $P = 0.03$ ตามลำดับ) ดังแสดงในตาราง ตารางที่ 3 แสดง genotype และ allele ที่ตำแหน่ง A49G ของยีน *CTLA-4* ของผู้ป่วยโรค GD และกลุ่มควบคุมในการศึกษาโดย Bednarczuk และคณะ

Subjects	n	Genotype			OR	allele		OR
		A/A	A/G	G/G		A	G	
Caucasian								
GD total	264	75 (28)	123 (47)	66 (25) ^a	1.7	273 (52)	255 (48) ^b	1.5
control	194	77 (40)	85 (44)	32 (16)		239 (62)	149 (38)	
Japanese								
GD total	319	28 (9)	140 (44)	151 (47) ^c	2.1	196 (31)	442 (69) ^d	1.6
control	112	15 (13)	63 (56)	34 (30)		93 (42)	131 (58)	

^a $P = 0.03$

^b $P = 0.003$

^c $P = 0.02$

^d $P = 0.003$

การศึกษาโดย Yanagawa และคณะ [19] ในประชากรญี่ปุ่น จำนวน 353 คน โรค GD 153 คน กลุ่มควบคุม 200 คน พบว่า G allele ที่ตำแหน่ง A49G ของยีน *CTLA-4* ในผู้ป่วยโรค GD มากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (OR = 2.64, 95%CI = 1.92 - 3.36)

การศึกษาโดย Terauchi และคณะ [20] ในประชากรญี่ปุ่นจำนวน 175 คน เป็นผู้ป่วยโรค HT 70 คน กลุ่มควบคุม 105 คน พบว่า G allele ที่ตำแหน่ง A49G ของยีน *CTLA-4* ในผู้ป่วยโรค HT มากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (OR = 4.95, $P = 0.01$)

การศึกษาโดย Ikegami และคณะ [21] ในประชากรญี่ปุ่นจำนวน 1,837 คน โรค AITD 345 คน โรค DM type 1 769 คน กลุ่มควบคุม 723 คน พบว่า GG ที่ตำแหน่ง A49G และที่ตำแหน่ง CT60 ของยีน *CTLA-4* ในผู้ป่วยโรค AITD มากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (OR = 1.36, $P = 0.018$ และ 1.3, $P = 0.045$ ตามลำดับ)

การศึกษาโดย Ban และคณะ [22] ในประชากรญี่ปุ่นจำนวน 443 คน เป็นผู้ป่วยโรค GD 131 คน ผู้ป่วยโรค HT 133 คน และกลุ่มควบคุม 179 คน พบว่า G allele ที่ตำแหน่ง CT60 ของยีน CTLA-4 ในผู้ป่วยโรค GD มากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (OR = 2.0, P = 0.004) และพบว่า G allele ที่ตำแหน่ง CT60 ของยีน CTLA-4 ในผู้ป่วยโรค GD ชาวญี่ปุ่นมากกว่าชาวผิวขาว (ร้อยละ 84 และร้อยละ 72, P = 0.0008) และในกลุ่มโรค AITD พบร้อยละ 80.1 เมื่อเทียบกับชาวผิวขาวร้อยละ 72.6 (P = 0.009) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม พบมากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติสำหรับโรค GD (OR = 2.0, P = 0.04) และโรค AITD (OR = 1.6, P = 0.03) ดังแสดงในตาราง

ตารางที่ 4 การวิเคราะห์แบบต่างๆของ CTLA-4 polymorphism ที่ตำแหน่ง A49G กับการเกิดโรคไทรอยด์เป็นพิษชนิด GD เทียบกับกลุ่มควบคุมในการศึกษาโดย Ban และคณะ

allele	AITD (n=264)	GD (n=131)	HT (n=133)	Control (n=179)	AITD vs control P value (OR)	GD vs control P value (OR)	HT vs control P value (OR)
A allele	105(19.9%)	42(16.0%)	63(23.7%)	98(27.4%)	0.009	0.009	0.30
G allele	423(80.1%)	220(84.0%)	203(76.3%)	260(72.6%)	(1.5)	(1.5)	
AA	9(3.4%)	2(1.5%)	7(5.3%)	14(7.8%)	0.028	0.003	0.56
AG	87(33.0%)	38(29.0%)	49(36.8%)	70(39.1%)			
GG	168(63.6%)	91(69.5%)	77(57.9%)	95(53.1%)			
GGvs AG +AA					0.03 (1.6)	0.004 (2.0)	0.40
GG+AG vs AA					0.04 (2.4)	0.01 (5.5)	0.37

การศึกษาโดย Weng และคณะ [23] ในประชากรไต้หวัน จำนวน 208 คน เป็นผู้ป่วยโรค GD 107คน, กลุ่มควบคุม 101 คน) พบว่า GG และ G allele ที่ตำแหน่ง CT60 ของยีน CTLA-4 ในผู้ป่วยที่เป็นโรค มากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (OR = 2.34 P = 0.004 และ OR = 1.89 ตามลำดับ)

การศึกษาโดย Tomoyose และคณะ [24] ในประชากรญี่ปุ่นจำนวน 342 คน เป็นผู้ป่วยโรค HT 143 คน กลุ่มควบคุม 199 คน โดยศึกษาที่ตำแหน่ง A49G, 318C/T, microsatellite (AT)n ของยีน *CTLA-4* พบว่า G allele ที่ตำแหน่ง A49G ในผู้ป่วยโรค HT มากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.0001$)

การศึกษาโดย Donner และคณะ [25] ในประชากรตัวอย่างผิวขาวจำนวน 615 คน เป็นผู้ป่วยโรค HT 73 คน โรค Addison's 76 คนและกลุ่มควบคุม 466 คน ศึกษาที่ตำแหน่ง A49G ของยีน *CTLA-4* พบว่า G allele ที่ตำแหน่ง A49G ในผู้ป่วยโรค HT มากกว่ากลุ่มควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังแสดงในตาราง

ตารางที่ 5 แสดง genotype และ allele ที่ตำแหน่ง A49G ของยีน *CTLA-4* ของผู้ป่วยโรค GD และกลุ่มควบคุมในการศึกษาโดย Donner และคณะ

	HT (n = 73, %)	AD (n = 76, %)	Control (n = 466, %)
Nucleotide at position 49			
GG	16(22%) ^a	14(18%)	68(15%)
AG	39(53%) ^a	39(52%)	215(46%)
AA	18(25%) ^a	29(30%)	183(39%)
gene frequencies			
G allele	71(49%) ^b	67(44%)	351(38%)
A allele	75(51%) ^b	85(56%)	581(62%)
Phenotype frequencies			
G allele (Ala)+	55(75%) ^c	53(70%)	283(61%)

^a $P < 0.04$

^b $P < 0.02$

^c $P < 0.03$

การศึกษาโดย Park และคณะ [26] ในประชากรเกาหลีจำนวน 406 คน ประกอบด้วยผู้ป่วยโรค GD 97คน โรค HT 110 คน และกลุ่มควบคุม 199 คน พบว่า ทำการ ศึกษา SPNs 2 ตำแหน่ง คือ A49G และ -318C>T พบว่า G allele ที่ตำแหน่ง A49G ของยีน *CTLA-4* ในผู้ป่วยโรค GD มากกว่ากลุ่มควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ร้อยละ 77 และร้อยละ 68, OR = 1.6) แต่ไม่

พบความสัมพันธ์ระหว่าง G allele ในผู้ป่วยโรค HT ขณะที่ promoter SPNs นั้นพบความสัมพันธ์เฉพาะในโรค GD เช่นเดียวกัน

การศึกษาโดย Petron และคณะ [27] ทำการศึกษาแบบ case control study ในตัวอย่างชาวอิตาลีจำนวน 451 คน ประกอบด้วยผู้ป่วยโรค GD 150 คน กลุ่มควบคุม 301 คน เปรียบเทียบ SPNs 3 ตำแหน่งของยีน *CTLA-4* คือ A49G, CT60 และ [AT]_n-3'UTR รวมทั้ง HLA class II ประกอบด้วย DRB1 และ DQB1 ระหว่างกลุ่มผู้ป่วยและกลุ่มควบคุม พบว่า G allele ที่ตำแหน่ง A49G และที่ตำแหน่ง CT60 ของยีน *CTLA-4* ในผู้ป่วยโรค GD มากกว่ากลุ่มควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (OR = 1.37, P = 0.04 และ OR 1.82, P = 0.02 ตามลำดับ) นอกจากนี้ยังพบว่าตำแหน่ง [AT]_n-3'UTR เมื่อพิจารณารวมกับตำแหน่ง A49G และ CT60 ในรูปแบบ A49G*G-[AT]_n-3'UTR *not262-CT60*G พบในผู้ป่วยโรค GD มากกว่ากลุ่มควบคุม (38% และ 32%, P = 0.04) ในขณะที่รูปแบบ A49G*A-[AT]_n-3'UTR*not262-CT60*A พบในกลุ่มควบคุมมากกว่ากลุ่มผู้ป่วยโรค GD (49% และ 41%, P = 0.03) ส่วนการศึกษาใน HLA พบว่า HLA DRB1*03 มีความสัมพันธ์กับโรค GD (P = 2 x 10⁻⁴ หรือ OR = 2.29) ในส่วน DRB1*0701พบต่ำในกลุ่มผู้ป่วย เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (P < 1x10⁻⁴) ซึ่งถือเป็น protective effect การศึกษาที่คัดค้านได้แก่

การศึกษาโดย Maalej และคณะ [28] ในครอบครัวชาว Tunisian ชื่อครอบครัว Ark 4 จำนวนครอบครัวย่อย 154 คน เป็นผู้ป่วยโรค GD 26 คน ผู้ป่วยโรค HT 20 คน โดยศึกษา markers ได้แก่ D2S311, D2S143, *CTLA-4* (AT)_n microsatellite และ *CTLA-4* (A/G) dimorphism in exon 1 พบว่ายีน *CTLA-4* ไม่มีความสัมพันธ์กับการเกิดโรค AITD

การศึกษาโดย Sahin และคณะ [29] ในประชากรตุรกีจำนวน 295 คน ผู้ป่วยโรค HT 197 คน, กลุ่มควบคุม 98 คน) โดยศึกษาตำแหน่ง A49G ของยีน *CTLA-4* พบว่า GG และ G allele ที่ตำแหน่ง A49G ในผู้ป่วยโรค HT ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม

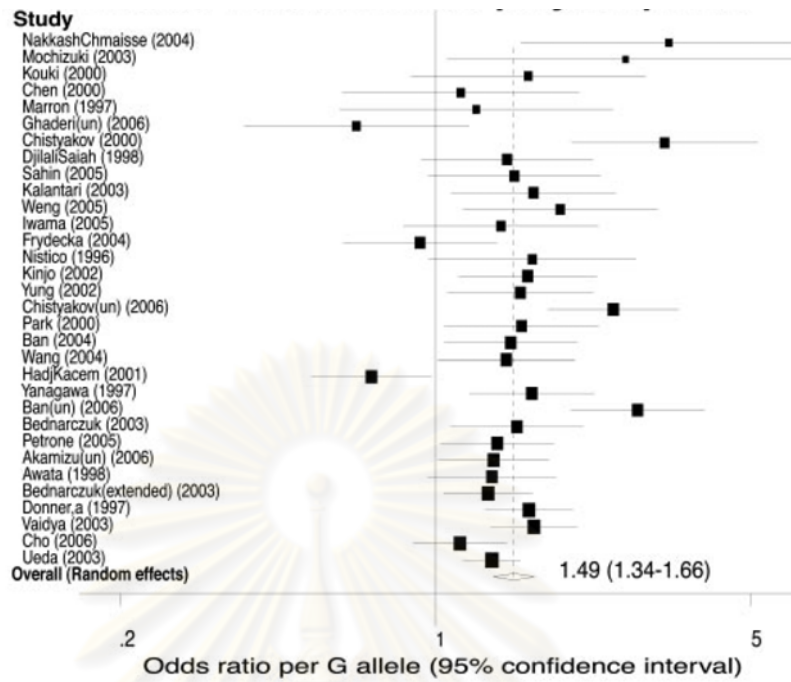
การศึกษาโดย Cho และคณะ [30] ในประชากรเกาหลี จำนวน 295 คน ผู้ป่วยโรค GD 278 คน กลุ่มควบคุม 472 คน โดยศึกษา SPNs ทั้ง 5 ตำแหน่ง A49G CT60, JO31, JO30 และ JO21-1 ยีน *CTLA-4* พบว่าไม่มีความสัมพันธ์ของ haplotype ชนิดต่างๆ กับการเกิด GD ดังแสดงในตาราง

ตารางที่ 6 แสดงความสัมพันธ์ ของ haplotype ชนิดต่างๆ กับการเกิด AITDในการศึกษาโดย Cho และคณะ

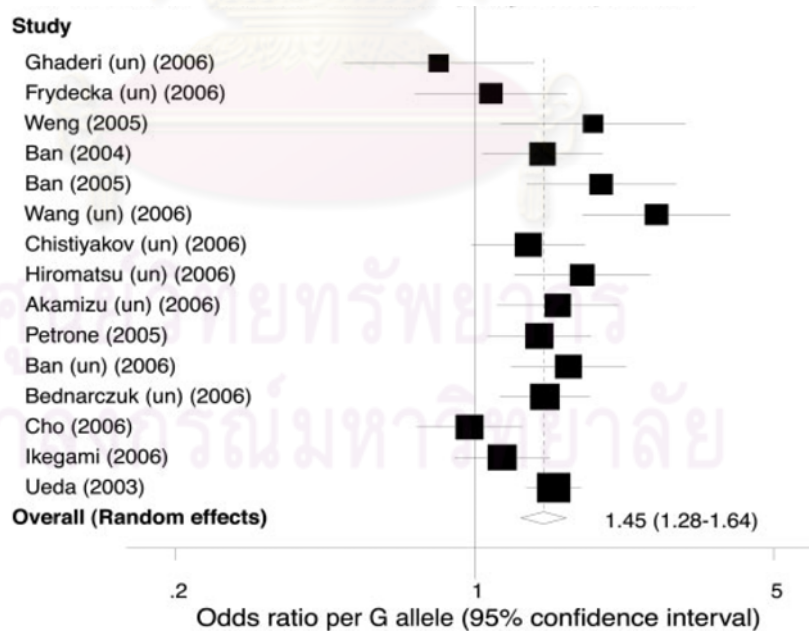
Marker/allele	Case (%)	Control (%)	p value	Odds ratio	95% CI
A49/G	75.0	72.7	0.328	1.5	1.2–1.9
CT60/G	83.8	84.0	0.895	1.0	0.7–1.3
JO31/G	81.9	78.6	0.116	1.2	0.9–1.6
JO30/G	79.3	77.8	0.487	1.1	0.8–1.4
JO27-1/T	80.9	78.7	0.294	1.1	0.9–1.5

การศึกษาทบทวนวรรณกรรม(meta-analysis)ทั้งในชาวเอเชียและผิวขาว [11] เพื่อหาความสัมพันธ์ของ SPNs ที่ตำแหน่ง A49G ของผู้ป่วยโรค GD และ HT จากการศึกษาบทความที่ตีพิมพ์ 32 บทความและการศึกษาที่ไม่ได้รับการตีพิมพ์ 12 บทความพบความสัมพันธ์ OR = 1.4 ($p = 6 \times 10^{-14}$) สำหรับโรค GD ในขณะที่โรค HT พบความสัมพันธ์ OR = 1.29 ($p = 0.001$) ส่วนการศึกษาที่ตำแหน่ง CT60 จากการศึกษาบทความที่ตีพิมพ์ 15 บทความและการศึกษาที่ไม่ได้รับการตีพิมพ์ 6 บทความ รวมจำนวนตัวอย่างที่เข้าร่วมการศึกษา 10,332 คน พบความสัมพันธ์ต่อการเกิดโรค GD มีค่า ($p = 2 \times 10^{-9}$) และในผู้ป่วย HT พบความสัมพันธ์การเกิดโรค OR = 1.3 ($p = 0.003$) ดังแสดงในรูป

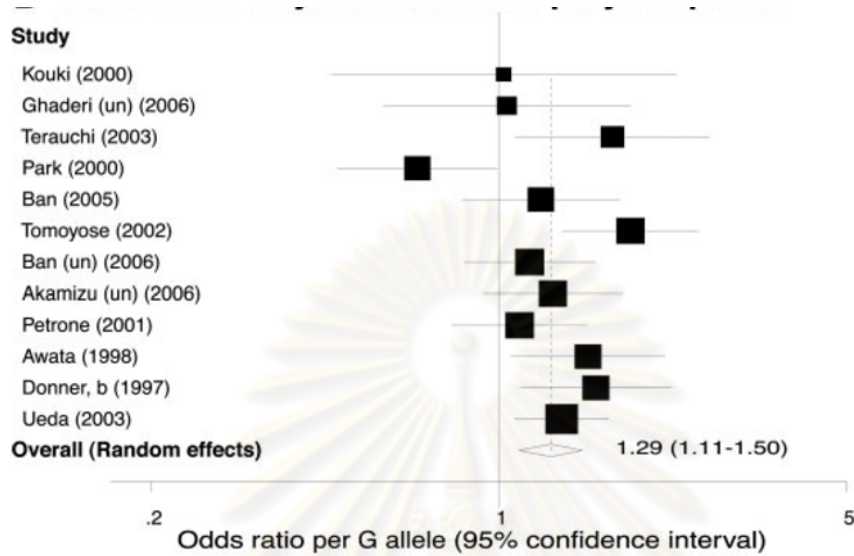
ศูนย์วิทยุทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



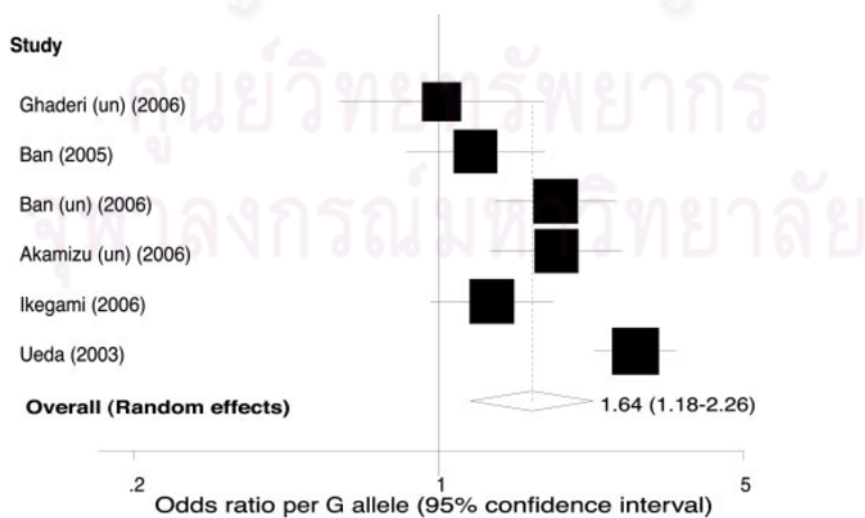
รูปที่ 4 meta-analysis แสดงความสัมพันธ์ของ SNPs ที่ตำแหน่ง A49G กับการเกิดโรค ไทรอยด์เป็นพิษชนิด GD [11]



รูปที่ 5 meta-analysis แสดงความสัมพันธ์ของ SNPs ที่ตำแหน่ง CT60 กับการเกิดโรค ไทรอยด์เป็นพิษชนิด GD [11]



รูปที่ 6 meta-analysis แสดงความสัมพันธ์ของ SNPs ที่ตำแหน่ง A49G กับการเกิดโรค ไทรอยด์อักเสบชนิด HT [11]



รูปที่ 7 meta-analysis แสดงความสัมพันธ์ของ SNPs ที่ตำแหน่ง CT60 กับการเกิดโรค ไทรอยด์อักเสบชนิด HT [11]

บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย

3.1.รูปแบบการวิจัย Research

Case-control study

3.2.ระเบียบวิธีวิจัย

ประชากรและตัวอย่าง แบ่งออกเป็น 3 ส่วน

1. กลุ่มผู้ป่วย (Case) แบ่งเป็น
 - a. ผู้ป่วยโรค GD
 - b. ผู้ป่วยโรค HT
2. กลุ่มควบคุม (Control) คือ คนที่ไม่เป็นโรค GD หรือโรค HT และไม่มีคนในครอบครัวเป็นโรคดังกล่าว

3.3.หลักเกณฑ์ในการคัดเลือกประชากรและตัวอย่าง

เกณฑ์คัดเข้า Inclusion criteria

1. กลุ่มผู้ป่วย ได้แก่ ผู้ป่วยโรค GD และผู้ป่วยโรค HT ซึ่งผู้ป่วยได้เซ็นชื่อยินยอมเข้าร่วมการศึกษา
2. กลุ่มควบคุม ได้แก่ คนที่ไม่เป็นโรค GD และโรค HT จากอาการ การตรวจร่างกาย ไม่มีประวัติเป็นโรคกลุ่ม autoimmune ที่มีรายงานสัมพันธ์ กับยีน CTLA-4 ได้แก่ DM type 1 โรคหนังแข็ง โรค RA และโรค SLE รวมทั้งไม่มีประวัติครอบครัวโรคดังกล่าวและตรวจไม่พบ anti-TG และ anti-TPO

เกณฑ์คัดออก Exclusion criteria

ได้แก่ ผู้ป่วยตั้งครรภ์

3.4.การคำนวณขนาดตัวอย่าง

ผู้ป่วยโรค GD ค่าความเสี่ยง (OR) จากการศึกษาของ Yanagawa [19] มีค่า OR เท่ากับ 2.64 นำมาคำนวณหาขนาดตัวอย่างตามสูตรดังนี้

$$\text{กำหนด } \alpha = 0.05$$

$$\beta = 0.10$$

$$Z_{\alpha/2} = Z_{0.05} = 1.960 \text{ (two tail)}$$

$$Z_{\beta} = Z_{0.20} = 1.28$$

$$n/\text{group} = (Z_{\alpha} \sqrt{2PQ} + Z_{\beta} \sqrt{(P_1Q_1 + P_0Q_0)})^2 / (P_1 - P_0)^2$$

P_0 = โอกาสที่กลุ่มควบคุมจะมีปัจจัยเสี่ยง มี G allele ที่ ตำแหน่ง A49G ของยีน CTLA-4) = 0.61

$$R = \text{odds ratio} = 2.64$$

$$P_1 = P_0R / (1+P_0(R-1)) = 0.80$$

$$P = (P_1+P_0) / 2 = 0.71$$

$$Q = 1-P = 0.29$$

หลังจากแทนค่าในสูตร จะได้ $n = 113$ คนในแต่ละกลุ่ม

ผู้ป่วยไทรอยด์อักเสบชนิด HT ใช้ค่า OR ของ Terauchi [20] เท่ากับ 4.95 นำมาคำนวณหาขนาดตัวอย่าง ตามสูตรดังนี้

กำหนด $\alpha = 0.05$

$$\beta = 0.10$$

$$Z_{\alpha/2} = Z_{0.025} = 1.960 \text{ (two tail)}$$

$$Z_{\beta} = Z_{0.20} = 1.28$$

$$n / \text{group} = (Z_{\alpha/2} \sqrt{2PQ} + Z_{\beta} \sqrt{(P_1Q_1+P_0Q_0)})^2 / (P_1-P_0)^2$$

P_0 = โอกาสที่กลุ่มควบคุมจะมีปัจจัยเสี่ยง มี G allele ที่ ตำแหน่ง A49G ของยีน CTLA-4) = 0.57

$$R = \text{odds ratio} = 4.95$$

$$P_1 = P_0R / (1+P_0(R-1)) = 0.86$$

$$P = (P_1+P_0) / 2 = 0.72$$

$$Q = 1-P = 0.28$$

หลังจากแทนค่าในสูตร จะได้ $n = 40$ คนในแต่ละกลุ่ม

ในการศึกษานี้ใช้กลุ่มควบคุมที่เป็นผู้หญิงทั้งหมดจากกลุ่มควบคุมของผู้ป่วยโรค GD จำนวน 96 คน เนื่องจากผู้ป่วยโรค HT เป็นหญิงทั้งหมด

3.5.เทคนิคในการสุ่มตัวอย่าง

กลุ่มผู้ป่วย สุ่มตัวอย่างโดย consecutive technique ซึ่งคัดเลือกผู้ป่วยโรค GD และผู้ป่วยโรค HT ทุกรายที่เข้าเกณฑ์คัดเข้าการศึกษาวิจัยนี้ ส่วนกลุ่มควบคุม สุ่มตัวอย่างแบบโดย consecutive technique เช่นกัน

3.6.การสังเกตและการวัด

เก็บข้อมูลของผู้ร่วมวิจัยโดยใช้แบบบันทึก (Record form) ซึ่งประกอบด้วย

1. ข้อมูลทั่วไป ได้แก่ ชื่อ อายุ เลขที่ผู้ป่วยนอก ที่อยู่ ประวัติการสูบบุหรี่หรือประวัติ DM type 1 โรคหนังแข็ง (scleroderma) โรคข้ออักเสบรูมาตอยด์ (rheumatoid arthritis, RA) โรคเอส แอล อี

(systemic lupus erythematosus, SLE) รวมทั้งประวัติครอบครัวโรคข้างต้น โรค GD และโรค HT ประวัติโรคประจำตัวอื่นๆ และยาที่ใช้ประจำ

2. ข้อมูลเฉพาะที่เกี่ยวข้องกับโรค GD และ โรค HT ได้แก่ การตรวจร่างกายพบขนาดของต่อมไทรอยด์ อาการแสดงที่ระบบอื่น เช่น ตา ผิวน้ำขี้พजर

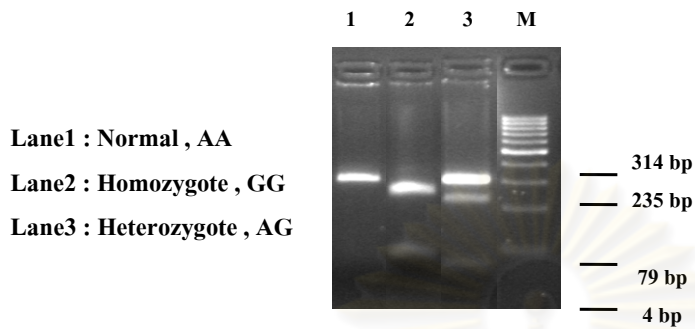
ข้อมูลเฉพาะที่เกี่ยวข้องกับผลทางห้องปฏิบัติการ ได้แก่ ระดับฮอร์โมนไทรอยด์ (ฮอร์โมนไทรโอทรอปิน ตรวจทางรังสี การตรวจ anti-TG antibody และ anti-TPO antibody) และการรักษา

3. ข้อมูลการตรวจทางพันธุกรรม ชนิดของ *CTLA-4* gene polymorphism ที่ตำแหน่ง A49G และ CT60

3.7.วิธีการศึกษา

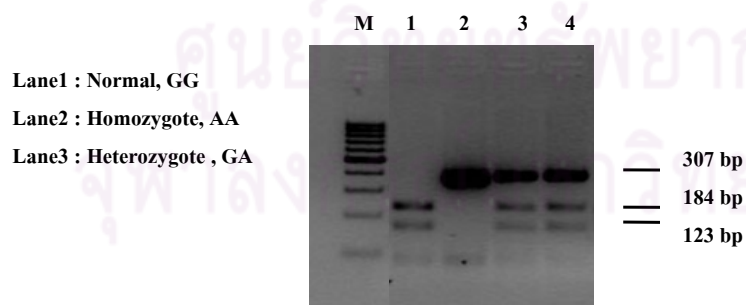
1. ขออนุญาตผู้อำนวยการโรงพยาบาลคั่นเวชระเบียนผู้ป่วย
2. คั่นเวชระเบียนผู้ป่วยที่เข้าเกณฑ์คัดเข้าการวิจัย
3. อธิบายให้ผู้เข้าร่วมวิจัยเข้าใจเกี่ยวกับการร่วมโครงการวิจัยและขั้นตอนการวิจัย
4. ชักประวัติ ทบทวนระบบต่างๆ และข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับเกณฑ์การคัดออกตรวจร่างกาย และรวบรวมข้อมูลต่างๆ ตามแบบบันทึกข้อมูล
5. ให้ผู้เข้ารับการศึกษาลงชื่อในใบยินยอมเข้าร่วมการวิจัย (Informed consent)
6. การเจาะเลือด ใช้หลอด EDTA 1 หลอด โดยนำมาปั่นแยกเม็ดเลือดขาว เก็บที่อุณหภูมิ -20°C เพื่อรอตรวจ *CTLA-4* gene ตำแหน่ง A49G และ CT60 กลุ่มควบคุมเก็บเลือดใส่ tube clot blood ด้วย นำมาปั่นแยก serum เก็บที่อุณหภูมิ -20°C เพื่อรอตรวจหา thyroid antibody ได้แก่ anti-TG antibody และ anti-TPO antibody
7. การตรวจตำแหน่ง A49G โดยแยก DNA จากเม็ดเลือดขาวโดยวิธีมาตรฐานแล้วทำการ PCR (Polymerase Chain Reaction) โดยใช้ primer 5'TCCTGAAGACCTGAACACCGCTCCC3' และ 5' GCTGCCGCCCAACTG 3' แล้วใช้เอนไซม์ตัดจำเพาะ TscI1 ซึ่งจะตัด G allele เป็นสองส่วนคือ ขนาด 235 คู่เบสและ 79 คู่เบส ในขณะที่ A allele จะไม่ถูกตัดได้ 314 คู่เบส แล้วตรวจสอบผลผลิตโดยวิธี Gel Electrophoresis ใน 2.5% agarose gel
8. การตรวจตำแหน่ง CT60 โดยใช้ primer 5'TGATTCATTAGTATCTGGTGG3' และ 5'GACAACCTGAATGTAATGCCTGTGATAG 3' แล้วใช้เอนไซม์ตัดจำเพาะ TaiI1 ซึ่งจะตัด G allele เป็นสองส่วนคือ ขนาด 184 คู่เบสและ 123 คู่เบส ในขณะที่ A allele ไม่ถูกตัดได้ 307 คู่เบส ตรวจสอบผลผลิตโดยวิธี Gel Electrophoresis ใน 2.5% agarose gel

PCR-RFLP : CTLA4 A49G



รูปที่ 8 CTLA4 A49G หลังทำ PCR-RFLP ใช้ 2.5%gel electrophoresis

PCR-RFLP : CTLA4 CT60



รูปที่ 9 CTLA4 CT60 หลังทำ PCR-RFLP ใช้ 2.5%gel electrophoresis

3.8. การรวบรวมข้อมูล

ข้อมูลทั้งหมดของผู้เข้ารับการศึกษาทุกรายจะถูกบันทึกลงแบบฟอร์มและจัดเก็บเข้าสู่ระบบคอมพิวเตอร์เพื่อจะนำไปสู่การวิเคราะห์ข้อมูลต่อไป

3.9. การวิเคราะห์ข้อมูล

1) การวิเคราะห์ข้อมูลเชิงคุณภาพ ได้แก่ เพศ ประวัติสูบบุหรี่ ประวัติโรคกลุ่ม autoimmune disease อาการทางตา (GO) ประวัติโรคกลุ่ม autoimmune disease ในครอบครัวการรักษา นำเสนอเป็นร้อยละของจำนวนทั้งหมดและเปรียบเทียบระหว่างผู้ป่วยโรค GD หรือผู้ป่วยโรค HT และกลุ่มควบคุมและเปรียบเทียบระหว่าง allele ในแต่ละโรคโดยใช้ Chi-Square test หรือ Fisher's exact test

2) การวิเคราะห์ข้อมูลเชิงปริมาณ ได้แก่ อายุ ระดับฮอร์โมนไทรอยด์ ฮอร์โมนไทโรโทรปิน ขนาดต่อมไทรอยด์ การกระจายแบบ normal distribution นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มผู้ป่วยโรค GD ผู้ป่วยโรค HT และกลุ่มควบคุม โดย unpaired t-test ส่วนข้อมูลที่ไม่มีการกระจายแบบ normal distribution นำเสนอเป็นค่ามัธยฐาน และค่าต่ำสุด ค่าสูงสุด และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มผู้ป่วยโรค GD ผู้ป่วยโรค HT และกลุ่มควบคุมโดย Mann-Whitney U test

3) การหาความสัมพันธ์ระหว่าง *CTLA-4* polymorphism ตำแหน่ง A49G และ CT60 กับ การเกิดโรค GD และโรค HT วิเคราะห์โดย Chi-Square test เที่ยบ G allele และ A allele และ เปรียบเทียบ genotype AA, AG และ GG

4) เปรียบเทียบ G allele และ A allele ของยีน *CTLA-4* ในแต่ละโรคที่ตำแหน่ง A49G และ CT60 กับข้อมูลเชิงคุณภาพด้วย Chi-Square test

ซึ่งการวิเคราะห์ข้อมูลทั้งหมด ทำโดยใช้โปรแกรม SPSS version 16

ศูนย์วิจัยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 4

ผลการวิจัย

ผลการวิเคราะห์

ผู้ป่วยโรค GD ทั้งสิ้น 113 คนเป็นผู้ชาย 18 คน เป็นผู้หญิง 95 คน อายุเฉลี่ย 35.8 ปี กลุ่มควบคุม 113 คน เป็นผู้ชาย 17 คน เป็นผู้หญิง 96 คน อายุเฉลี่ย 49.8 ปี ข้อมูลพื้นฐานมีความใกล้เคียงกันในเรื่องเพศ ($p = 0.77$) ประวัติการสูบบุหรี่ ($p = 0.40$) แต่มีความแตกต่างในเรื่องอายุ ($p = 0.001$) ผู้ป่วยโรค HT ทั้งสิ้น 41 คนเป็นผู้หญิงทั้งหมดอายุเฉลี่ย 40 ปี กลุ่มควบคุมเลือกเฉพาะคนเป็นผู้หญิงทั้งหมด 96 คน อายุเฉลี่ย 50.66 ปี ข้อมูลพื้นฐานมีความใกล้เคียงกันในเรื่องเพศ ประวัติการสูบบุหรี่ ($p = 0.125$) แต่มีความแตกต่างในเรื่องอายุ ($p = 0.0001$) เช่นเดียวกัน

ในผู้ป่วยโรค GD เมื่อศึกษายีน *CTLA-4* ที่ตำแหน่ง A49G พบความชุกของ G allele ร้อยละ 63.7 A allele ร้อยละ 36.3 เทียบกับกลุ่มควบคุมซึ่งความชุกของ G allele เท่ากับร้อยละ 45.1 A allele เท่ากับร้อยละ 54.9 พบว่า G allele ที่ตำแหน่ง A49G ของยีน *CTLA-4* มีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคไทรอยด์เป็นพิษชนิด GD ($p = 0.005$) โดยมีค่า OR = 2.135 (ความเชื่อมั่นที่ 95% = 1.253-3.639) สำหรับ *CTLA-4* polymorphism ที่ตำแหน่ง A49G ในผู้ป่วยโรค GD ความชุกของ genotype GG AG และ AA เท่ากับร้อยละ 38.1 51.3 และ 10.9 ตามลำดับ เทียบกับกลุ่มควบคุมความชุกของ genotype GG AG และ AA เท่ากับร้อยละ 14.2 61.9 และ 23.9 ตามลำดับ ซึ่ง genotype GG มีความสัมพันธ์กับการเกิดโรค GD อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.001$) โดยมีค่า OR = 3.724 (ความเชื่อมั่นที่ 95% = 1.942-7.141)

ในผู้ป่วยโรคไทรอยด์เป็นพิษชนิด GD เมื่อศึกษายีน *CTLA-4* ที่ตำแหน่ง CT60 พบความชุกของ A allele ร้อยละ 33.2 G allele ร้อยละ 66.8 เทียบกับกลุ่มควบคุมซึ่งความชุกของ A allele เท่ากับร้อยละ 36.8, G allele เท่ากับ ร้อยละ 63.2 พบว่า A allele ที่ตำแหน่ง A49G ของยีน *CTLA-4* ไม่มีความสัมพันธ์กับการเกิดโรค GD ($p = 0.43$) สำหรับ *CTLA-4* polymorphism ที่ตำแหน่ง CT60 ในผู้ป่วยโรค GD ความชุกของ genotype AA GA และ GG เท่ากับร้อยละ 15.9 34.5 และ 49.6ตามลำดับเทียบกับกลุ่มควบคุมความชุกของ genotype AA GA และ GG เท่ากับร้อยละ 18.6 36.3 และ 45.1 ตามลำดับ ซึ่ง genotype AA ไม่มีความสัมพันธ์กับการเกิดโรค GD ($p = 0.597$)

ในผู้ป่วยโรค HT เมื่อศึกษายีน *CTLA-4* ที่ตำแหน่ง A49G พบความชุกของ G allele ร้อยละ 53.7 A allele ร้อยละ 46.3 เทียบกับกลุ่มควบคุมซึ่งความชุกของ G allele เท่ากับร้อยละ 44.8 A allele ร้อยละ 55.2 พบว่า G allele ที่ตำแหน่ง A49G ของยีน *CTLA-4* ไม่มีความสัมพันธ์กับการเกิดโรค HT ($p = 0.178$) สำหรับ *CTLA-4* polymorphism ที่ตำแหน่ง A49G ในผู้ป่วยโรคไทรอยด์

อีกเสบนชนิด HT ความชุกของ genotype GG AG และ AA เท่ากับร้อยละ 24.4 58.5 และ 17.1 ตามลำดับ เทียบกับกลุ่มควบคุมความชุกของ genotype GG AG และ AA เท่ากับร้อยละ 14.6 60.4 และ 25 ตามลำดับ ซึ่ง genotype GG ไม่มีความสัมพันธ์กับการเกิดโรค HT ($p = 0.167$) ในผู้ป่วยโรค HT เมื่อศึกษา ยีน *CTLA-4* ที่ตำแหน่ง CT60 พบความชุกของ A allele ร้อยละ 37.8 และ G allele ร้อยละ 62.2 เทียบกับกลุ่มควบคุมซึ่งความชุกของ A allele เท่ากับร้อยละ 63 G allele เท่ากับ ร้อยละ 37 พบว่า A allele ที่ตำแหน่ง CT60 ของยีน *CTLA-4* ไม่มีความสัมพันธ์กับการเกิดโรค HT ($p = 0.01$) OR = 0.375 (95% CI = 0.209 - 0.608) สำหรับ *CTLA-4* polymorphism ที่ตำแหน่ง CT60 ในผู้ป่วยโรค HT ความชุกของ genotype AA GA และ GG เท่ากับร้อยละ 14.6 64.4 และ 39 ตามลำดับเทียบกับกลุ่มควบคุมความชุกของ genotype AA GA และ GG เท่ากับร้อยละ 18.8 36.4 และ 44.8 ตามลำดับ ซึ่ง genotype AA ไม่มีความสัมพันธ์กับการเกิดโรค HT ($p = 0.562$)



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ผู้ป่วยโรค GD ทั้งสิ้น 113 คนเป็นผู้ชาย 18 คน เป็นผู้หญิง 95 คน อายุเฉลี่ย 35.8 ปี กลุ่มควบคุม 113 คน เป็นผู้ชาย 17 คน เป็นผู้หญิง 96 คน อายุเฉลี่ย 49.8 ปี ข้อมูลพื้นฐานมีความใกล้เคียงกันในเรื่องเพศ ($p = 0.77$) ประวัติการสูบบุหรี่ ($p = 0.408$) แต่มีความแตกต่างในเรื่องอายุ ($p = 0.001$)

ตารางที่ 7 อาการทางคลินิกของผู้ป่วยโรคไทรอยด์เป็นพิษชนิด GD และกลุ่มควบคุม

	โรค GD	กลุ่มควบคุม	p
จำนวน(คน)	113	113	
อายุ(ปี) mean(SD)	35.8(13.6)	49.8(9.98)	0.001
median(min-max)	34(15-82)	50(36-76)	0.001
เพศหญิง/เพศชาย (%)	84.1/15.9	84.9/15.1	
สูบบุหรี่(%)			
- เลิกแล้ว(%)	6.19	5.3	0.775
- สูบอยู่(%)	3.54	1.77	0.408
ภูมิแพ้			
- ภาคน้ำและภาคน้ำออกเฉียงเหนือ	24.8	25.2	0.804
โรคประจำตัว(%)			
- DM type 1	1.769	0	0.001
- Rheumatoid arthritis	1.769	0	0.001
- Myasthenia gravis	0	0	
- SLE	0	0	
- scleroderma	0	0	

หมายเหตุ ข้อมูลเชิงปริมาณแสดงทั้งค่าเฉลี่ยและค่ามัธยฐาน ข้อมูลมีการกระจายแบบ normal distribution ใส่ค่า p -value ไว้หลังค่าเฉลี่ย

ผู้ป่วยโรคไทรอยด์อักเสบชนิด HT ทั้งสิ้น 41 คนเป็นผู้หญิงทั้งหมด อายุเฉลี่ย 40 ปี กลุ่มควบคุม
เลือกเฉพาะคนเป็นผู้หญิงทั้งหมด 96 คน อายุเฉลี่ย 50.66 ปี ข้อมูลพื้นฐานมีความใกล้เคียงกันใน
เรื่องเพศ ประวัติการสูบบุหรี่ ($p = 0.125$) แต่มีความแตกต่างในเรื่องอายุ ($p = 0.001$)

ตารางที่ 8 อาการทางคลินิกของผู้ป่วยโรค ไทรอยด์อักเสบชนิด HT และกลุ่มควบคุม

	ไทรอยด์อักเสบ ชนิด HT	กลุ่มควบคุม	p
จำนวน(คน)	41	96	
อายุ(ปี)mean(SD)	40(18.2)	50.66(9.98)	0.001
median(min-max)	34(15-88)	50.5(26-76)	0.001
เพศหญิง/เพศชาย (%)	100/0	100/0	
สูบบุหรี่(%)			
- เลิกแล้ว(%)	2.4	0	0.125
- สูบอยู่(%)	0	0	
ภูมิแพ้			
- ภาคน้ำและภาคน้ำออกเฉียงเหนือ	12.2	15.6	0.603
โรคประจำตัว (%)			
- DM type 1	0	0	
- Rheumatoid arthritis	2.4	0	0.125
- Myasthenia gravis	0	0	
- SLE	0	0	
- scleroderma	0	0	

หมายเหตุ ข้อมูลเชิงปริมาณแสดงทั้งค่าเฉลี่ยและค่ามัถยฐาน ข้อมูลมีการกระจายแบบ normal distribution ใส่ค่า p -value ไว้หลังค่าเฉลี่ย

ตารางที่ 9 แสดง allele ที่ตำแหน่ง A49G ของยีน CTLA-4 ของผู้ป่วยโรคไทรอยด์เป็นพิษชนิด GD เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

CTLA-4	GD	control	<i>p</i>
A allele	82(36.3%)	124(54.9%)	
G allele	144(63.7%)	102(45.1%)	
รวม	226	226	0.005

พบว่า G allele สัมพันธ์กับการเกิดโรคไทรอยด์เป็นพิษชนิด GD โดยมีค่า Odds ratio = 2.135 (95% CI = 1.253 - 3.639)

ตารางที่ 10 แสดง genotype ที่ตำแหน่ง A49G ของยีน CTLA-4 ของผู้ป่วยโรคไทรอยด์เป็นพิษชนิด GD เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

A49G	GD	control	<i>p</i>	Odds ratio	95% CI
AA	12(10.6%)	27(23.9%)	0.08	0.378	0.181-0.792
AG	58(51.3%)	70(61.9%)	0.107	0.648	0.382-1.100
GG	43(38.1%)	16(14.2%)	0.001	3.724	1.942-7.141
รวม	113	113	0.001		

พบว่า genotype GG สัมพันธ์กับการเกิดโรค GD โดยมีค่า Odds ratio = 3.724 (95% CI = 1.942 - 7.141)

ตารางที่ 11 การวิเคราะห์แบบต่างๆของ *CTLA-4* polymorphism ที่ตำแหน่ง A49G กับการเกิดโรคไทรอยด์เป็นพิษชนิด GD เทียบกับกลุ่มควบคุม

A49G	<i>p</i>	Odd ratio	95% CI (lower-upper)
เปรียบเทียบ allele			
G allele vs. A allele	0.005	2.135	1.253-3.639
เปรียบเทียบ genotype			
GG vs. AA	0.001	6.047	2.484-14.723
GG vs. AG	0.001	3.244	1.658-6.346
AG vs. AA	0.107	1.864	0.868-4.002
Dominant model			
GG and AG vs. AA	0.001	2.642	1.263-5.529
Recessive model			
GG vs. AG and AA	0.001	3.724	1.942-7.141

ตารางที่ 12 แสดง allele ที่ตำแหน่ง CT60 ของยีน *CTLA-4* ของผู้ป่วยโรคไทรอยด์เป็นพิษชนิด GD เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

CT60	GD	control	<i>p</i>
A allele	75(33.2%)	83(36.7%)	
G allele	151(66.8%)	143(63.3%)	
รวม	226	226	0.43

พบว่า A allele ไม่สัมพันธ์กับการเกิดโรคไทรอยด์เป็นพิษชนิด GD มีค่า Odds ratio = 0.856 (95%CI = 0.581-1.260)

ตารางที่ 13 แสดง genotype ที่ตำแหน่ง CT60 ของยีน CTLA-4 ของผู้ป่วยโรคไทรอยด์เป็นพิษชนิด GD เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

CT60	GD	control	p	Odds ratio	95% CI
AA	18(15.9%)	21(18.6%)	0.597	0.830	0.416 - 1.658
GA	39(34.5%)	41(36.3%)	0.781	0.926	0.536 - 1.597
GG	56(49.6%)	51(45.1%)	0.505	1.194	0.708 - 2.014
รวม	113	113	0.773		

พบว่า genotype AA ไม่สัมพันธ์กับการเกิดโรคไทรอยด์เป็นพิษชนิด GD มีค่า Odds ratio = 1.194 (95%CI = 0.708 - 2.014)

ตารางที่ 14 การวิเคราะห์แบบต่างๆของ CTLA-4 polymorphism ที่ตำแหน่ง CT60 กับการเกิดโรคไทรอยด์เป็นพิษชนิด GD เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

CT60	p	Odd ratio	95% CI (lower-upper)
เปรียบเทียบ allele			
A allele vs.G allele	0.43	0.856	0.581 - 1.260
เปรียบเทียบ genotype			
AA vs. GG	0.509	0.781	3.74 - 1.624
AA vs.GA	0.790	0.901	0.418 - 1.941
GA vs. GG	0.627	0.866	0.485 - 1.547
Dominant model			
AA and GA vs. GG	0.505	0.837	0.496 - 1.412
Recessive model			
AA vs. GA and GG	0.597	0.83	0.416 - 1.658

ตารางที่ 15 แสดง allele ที่ตำแหน่ง A49G ของยีน CTLA-4 ของผู้ป่วยโรคไทรอยด์อักเสบชนิด HT เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

A49G	HT	control	<i>p</i>
A allele	38(46.3%)	106(55.2%)	
G allele	44(53.7%)	86(44.8%)	
รวม	82	192	0.178

พบว่า G allele ไม่สัมพันธ์กับการเกิดโรคไทรอยด์อักเสบชนิด HT มีค่า Odds ratio = 1.427 (95%CI = 0.849 - 2.398)

ตารางที่ 16 แสดง genotype ที่ตำแหน่ง A49G ของยีน CTLA-4 ของผู้ป่วยโรคไทรอยด์อักเสบชนิด HT เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

A49G	HT	control	<i>p</i>	Odds ratio	95% CI
AA	7(17.1%)	24(25%)	0.310	0.618	0.242 - 1.574
AG	24(58.5%)	58(60.4%)	0.837	0.925	0.44 - 1.946
GG	10(24.4%)	14(14.6%)	0.167	1.889	0.760 - 4.697
รวม	41	96	0.302		

พบว่า genotype GG ไม่สัมพันธ์กับการเกิดโรคไทรอยด์อักเสบชนิด HT มีค่า Odds ratio = 1.889 (95% CI = 0.76 - 4.697)

ตารางที่ 17 การวิเคราะห์แบบต่างๆของ *CTLA-4* polymorphism ที่ตำแหน่ง A49G กับการเกิดโรคไทรอยด์อักเสบชนิด HT เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

<i>CTLA-4</i> (A49G)	<i>p</i>	Odd ratio	95% CI (lower-upper)
เปรียบเทียบ allele			
G allele vs. A allele	0.178	1.427	0.849 - 2.398
เปรียบเทียบ genotype			
GG vs.AA	0.129	2.449	0.761 - 7.885
AG vs. AA	0.447	1.419	0.539 - 3.731
GA vs. GG	0.252	1.726	0.674 - 4.422
Dominant model			
GG and AG vs. AA	0.310	1.619	0.635 - 4.126
Recessive model			
GG vs. AG and AA	0.167	1.889	0.76 - 4.697

ตารางที่18 แสดง allele ที่ตำแหน่ง CT60 ของยีน *CTLA-4* ของผู้ป่วยโรคไทรอยด์อักเสบชนิด HT เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

<i>CT60</i>	HT	control	<i>p</i>
A allele	31(37.8%)	121(63%)	
G allele	51(62.2%)	71(37%)	
รวม	82	192	0.01

พบว่า A allele ช่วยป้องกันกับการเกิดโรคไทรอยด์อักเสบชนิด HT มีค่า Odds ratio = 0.375 (95% CI = 0.209 - 0.608)

ตารางที่ 19 แสดง genotype ที่ตำแหน่ง CT60 ของยีน CTLA-4 ของผู้ป่วยโรคไทรอยด์อักเสบชนิด HT เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

CT60	HT	control	<i>p</i>	Odds ratio	95% CI
AA	6(14.6%)	18(18.8%)	0.562	0.734	0.272 - 0.608
AG	19(46.4%)	35(36.4%)	0.278	1.505	0.717 - 3.159
GG	16(39%)	43(44.8%)	0.532	0.789	0.374 - 1.662
รวม	41	96	0.546		

พบว่า genotype AA ไม่สัมพันธ์กับการเกิดโรคไทรอยด์อักเสบชนิด HT มีค่า Odds ratio = 0.734 (95% CI = 0.272 - 0.608)

ตารางที่ 20 การวิเคราะห์แบบต่างๆของ CTLA-4 polymorphism ที่ตำแหน่ง CT60 กับการเกิดโรคไทรอยด์อักเสบชนิด HT เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

CT60	<i>p</i>	Odd ratio	95% CI (lower-upper)
เปรียบเทียบ allele			
A allele vs. G allele	0.01	0.357	0.209 - 0.608
เปรียบเทียบ genotype			
AA vs. GG	0.843	0.896	0.302 - 2.658
GA vs. GG	0.374	0.791	0.209 - 1.807
AA vs. GA	0.354	1.459	0.655 - 3.250
Dominant model			
AA and GA vs. GG	0.532	1.268	0.602 - 2.671
Recessive model			
AA vs. GA and GG	0.562	0.743	0.272 - 2.032

ตารางที่ 21 แสดง allele ที่ตำแหน่ง A49G ของยีน CTLA-4 ของผู้ป่วยโรคไทรอยด์เป็นพิษชนิด GD และโรคไทรอยด์อักเสบชนิด HT เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

A49G	case	control	p
A allele	120(39%)	124(54.9%)	
G allele	188(61%)	102(45.1%)	
รวม	308	226	0.0001

พบว่า G allele สัมพันธ์กับการเกิดโรคไทรอยด์เป็นพิษชนิด GD และโรคไทรอยด์อักเสบชนิด HT โดยมีค่า Odds ratio = 1.905 (95% CI = 1.345 - 2.697)

ตารางที่ 22 แสดง genotype ที่ตำแหน่ง A49G ของยีน CTLA-4 ของผู้ป่วยโรคไทรอยด์เป็นพิษชนิด GD และโรคไทรอยด์อักเสบชนิด HT เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

A49G	case	control	p	Odds ratio	95% CI
AA	19(12.3%)	27(23.9%)	0.013	0.448	0.235 - 0.855
AG	82(53.2%)	70(61.9%)	0.156	0.700	0.427 - 1.147
GG	53(34.4%)	16(14.2%)	0.0001	3.181	1.703 - 5.941
รวม	154	113	0.0001		

พบว่า GG สัมพันธ์กับการเกิดโรค GD และโรคไทรอยด์อักเสบชนิด HT โดยมีค่า Odds ratio = 3.181 (95% CI = 1.703 - 5.941)

ตารางที่ 23 การวิเคราะห์แบบต่างๆของ *CTLA-4* polymorphism ที่ตำแหน่ง A49G กับการเกิดโรคไทรอยด์เป็นพิษชนิด GD และ โรคไทรอยด์อักเสบชนิด HT เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

A49G	<i>p</i>	Odd ratio	95% CI (lower-upper)
เปรียบเทียบ allele			
A allele vs. G allele	0.0001	1.905	1.345 - 2.697
เปรียบเทียบ genotype			
GG vs.AA	0.0001	4.707	2.093 - 10.588
GG vs. AG	0.001	2.828	1.486 - 5.382
AG vs. AA	0.133	1.665	0.854 - 3.247
Dominant model			
GG vs AA and AG	0.001	3.181	1.703 - 5.941
Recessive model			
AG and GG vs. AA	0.518	0.809	0.425 - 1.539

ตารางที่ 24 แสดง allele ที่ตำแหน่ง CT60 ของยีน *CTLA-4* ของผู้ป่วยโรคไทรอยด์เป็นพิษชนิด GD และ โรคไทรอยด์อักเสบชนิด HT เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

CT60	case	control	<i>p</i>
A allele	106(34.4%)	124(54.9%)	
G allele	202(65.6%)	102(45.1%)	
รวม	308	226	0.581

พบว่า A allele ไม่สัมพันธ์กับการเกิดโรคไทรอยด์เป็นพิษชนิด GD และโรคไทรอยด์อักเสบชนิดHT โดยมีค่า Odds ratio = 0.904 (95% CI = 0.632 - 1.294)

ตารางที่ 25 แสดง genotype ที่ตำแหน่ง CT60 ของยีน CTLA-4 ของผู้ป่วยโรคไทรอยด์เป็นพิษ ชนิด GD และ โรคไทรอยด์อักเสบชนิด HT เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

CT60	case	control	p	Odds ratio	95% CI
AA	24	21(18.6%)	0.518	0.809	0.425-1.539
AG	58	41(36.3%)	0.818	1.061	0.641-1.755
GG	72	51(45.1%)	0.793	1.067	0.656-1.738
รวม	154	113	0.811		

พบว่า genotype AA ไม่สัมพันธ์กับการเกิดโรคไทรอยด์เป็นพิษชนิด GD และโรคไทรอยด์อักเสบชนิด HT โดยมีค่า Odds ratio = 0.809 (95% CI = 0.425 - 1.539)

ตารางที่ 26 การวิเคราะห์แบบต่างๆของ CTLA-4 polymorphism ที่ตำแหน่ง CT60 กับการเกิดโรคไทรอยด์อักเสบชนิด HT และโรคไทรอยด์เป็นพิษชนิด GD เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

CT60	p	Odd ratio	95% CI (lower-upper)
เปรียบเทียบ allele			
A allele vs. G allele	0.581	0.904	0.632 - 1.294
เปรียบเทียบ genotype			
AA vs. GG	0.546	0.810	0.407 - 1.609
GA vs. GG	0.994	1.002	0.586 - 1.715
AA vs. GA	0.555	0.808	0.398-1.642
Dominant model			
AA and GA vs. GG	0.793	0.937	0.575 - 1.525
Recessive model			
AA vs. GA and GG	0.518	0.809	0.425 - 1.539

ตารางที่ 27 แสดงประวัติครอบครัวของผู้ป่วยโรคไทรอยด์เป็นพิษชนิด GD แยกตาม allele ที่ตำแหน่ง A49G ของยีน CTLA-4

	G allele	A allele	p
ประวัติครอบครัว (%)			
- GD	41.66	34.1	0.256
- HT	0	0	
- DM type1	2.08	1.22	0.636
- Rheumatoid arthritis	2.78	0	0.128
- Scleroderma	0	2.43	0.06
- Myastinia Gravis	0	0	
- SLE	0	2.43	0.06
รวมมีโรค Autoimmune disease ในครอบครัว (%)	41.66	31.7	0.138
โรค autoimmune ≥ 2 คนในครอบครัว	13.3	15.8	0.688
AITD* in first degree relative (%)			
- GD (%)	29.2	26.8	0.708
- HT (%)	0	0	
AITD ≥ 2 คน in first degree relative (%)	9.03	3.66	0.13
- GD (%)	9.03	3.66	0.13
- HT (%)	0	0	

โรค autoimmune ในครอบครัวไม่ต่างกันระหว่าง G allele และ A allele

ตารางที่ 28 แสดงประวัติครอบครัวของผู้ป่วยโรคไทรอยด์เป็นพิษชนิด GD แยกตาม allele ที่ตำแหน่ง CT60 ของยีน CTLA-4

	G allele	A allele	p
ประวัติครอบครัว (%)			
- GD	43.71	29.33	0.037
- HT	0	0	
- DM type1	0.66	4	0.73
- Rheumatoid arthritis	1.99	1.33	0.726
- Scleroderma	1.32	0	0.317
- Myastinia Gravis	0	0	
- SLE	0	2.66	0.044
รวมมีโรค Autoimmune disease ในครอบครัว (%)	42.30	29.33	0.057
โรค autoimmune ≥ 2 คนในครอบครัว	13.91	6.66	0.108
AITD* in first degree relative (%)			
- GD(%)	31.12	22.66	0.184
- HT (%)	0	0	
AITD ≥ 2 คน in first degree relative (%)	8.61	4	0.617
- GD (%)	8.61	4	0.617
- HT (%)	0	0	

โรค autoimmune ในครอบครัวที่ต่างกัน ได้แก่ โรคไทรอยด์เป็นพิษชนิด GD พบในกลุ่ม G allele มากกว่า และ โรค SLE พบในกลุ่ม A allele มากกว่า

ตารางที่ 29 แสดงประวัติครอบครัวของผู้ป่วย ไทรอยด์อักเสบชนิด HT แยกตาม allele ที่ตำแหน่ง A49G ของยีน CTLA-4

	G allele	A allele	p
ประวัติครอบครัว (%)			
- GD	31.81	36.84	0.632
- HT	6.81	13.16	0.335
- DM type1	0	0	
- Rheumatoid arthritis	0	5.26	0.123
- Scleroderma	0	0	
- Myastinia Gravis	0	0	
- SLE	0	0	
รวมมีโรค Autoimmune disease ในครอบครัว (%)	38.64	44.74	0.749
โรค autoimmune \geq 2 คนในครอบครัว	11.36	23.6	0.139
AITD* in first degree relative (%)			
- GD (%)	2.27	7.89	0.239
- HT (%)	4.54	10.52	0.300
AITD \geq 2 คน in first degree relative (%)	0	5.26	0.123
- GD (%)	0	5.26	0.123
- HT (%)	0	0	

โรค autoimmune ในครอบครัวไม่ต่างกัน

ตารางที่ 30 แสดงประวัติครอบครัวของผู้ป่วย ไทรอยด์อักเสบชนิด HT แยกตาม Allele ที่ตำแหน่ง CT60 ของยีน CTLA-4

	G allele	A allele	p
ประวัติครอบครัว (%)*			
- GD	27.45	32.26	0.064
- HT	7.84	12.90	0.454
- DM type1	0	0	
- Rheumatoid arthritis	0	6.45	0.66
- Scleroderma	0	0	
- Myastinia Gravis	0	0	
- SLE	0	0	
รวมมีโรค Autoimmune disease ในครอบครัว (%)	33.33	54.84	0.55
โรค autoimmune ≥ 2 คนในครอบครัว	7.84	32.26	0.004
AITD* in first degree relative (%)			
- GD (%)	1.96	16.13	0.003
- HT (%)	5.88	9.68	0.917
AITD ≥ 2 คน in first degree relative (%)	0	6.45	0.66
- GD (%)	0	6.45	0.66
- HT (%)	0	0	

โรค autoimmune ในครอบครัวที่ต่างกัน ได้แก่ โรคไทรอยด์เป็นพิษชนิด GD ใน first degree relative และ โรค autoimmune ≥ 2 คนในครอบครัว พบในกลุ่ม A allele มากกว่า

ตารางที่ 31 ขนาดต่อมไทรอยด์ และระดับฮอร์โมนของผู้ป่วยโรคไทรอยด์เป็นพิษชนิด GD และโรคไทรอยด์อักเสบชนิด HT

	ไทรอยด์เป็นพิษชนิด GD	ไทรอยด์อักเสบชนิด HT
gland size (n(%))		
กลุ่ม 1	19(16.8)	18(43.9)
กลุ่ม 2	68(60.2)	21(51.2)
กลุ่ม 3	26(23)	2(4.9)
FT3(mean(SD)) *	19.90(8.96)	2.15(0.75)
median(min-max) pmol/L	1.87(5.89->32.55)	2.45(0.97-2.88)
FT4(mean(SD))*	4.99(2.24)	0.81(0.40)
median(min-max) pmol/L	4.63(1.93-7.8)	0.86(0.09-1.55)
TSH(mean(SD))uU/ml*	0.02(0.02)	33.42(34.02)
median(min-max)	0.01(0.001-0.2)	14.53(4.75-100)
T3(mean(SD))ng/dl*	488.66(178)	5.31(1.85)
median(min-max)	465(166-829)	5.31(4-6.62)
T4(mean(SD))ug/dl*	20.12(8.51)	-
median(min-max)	20.3(9-42.5)	-

หมายเหตุ ข้อมูลเชิงปริมาณแสดงทั้งค่าเฉลี่ยและค่ามัถยฐาน ข้อมูลมีการกระจายแบบ normal distribution ใส่ค่า p-value ไว้หลังค่าเฉลี่ย

* เฉพาะคนที่มีผลเลือดก่อนการรักษา

ตารางที่ 32 แสดงวิธีการรักษาของผู้ป่วยโรคไทรอยด์เป็นพิษชนิด GD แยกตาม allele ที่ตำแหน่ง A49G ของยีน CTLA-4

การรักษา (%)	G allele	A allele
Medication	21.5	20.73
I131	49.30	54.88
surgery	2.77	0
I131+ medication	25.69	20.73
I131+ medication+ surgery	0.69	3.66

ตารางที่ 33 แสดงวิธีการรักษาของผู้ป่วยโรคไทรอยด์เป็นพิษชนิด GD แยกตาม allele ของ CTLA-4 polymorphism ที่ตำแหน่ง CT60

การรักษา (%)	G allele	A allele
Medication	21.85	20
I131	49.67	54.67
surgery	1.97	1.33
I131+ medication	25.17	21.33
I131+ medication+ surgery	13.24	2.66

ตารางที่ 34 แสดง allele ที่ตำแหน่ง A49G ของยีน CTLA-4 ของผู้ป่วยโรคไทรอยด์อักเสบชนิด HT เปรียบเทียบระหว่าง hypothyroidism และ subclinical hypothyroidism

A49G	hypothyroidism	Subclinical hypothyroidism	<i>p</i>
A allele	16(47.1%)	22(45.8%)	
G allele	18(52.9%)	26(54.2%)	
รวม	34	48	0.913

พบว่า G allele ไม่แตกต่างกัน ระหว่างกลุ่ม hypothyroidism และ subclinical hypothyroidism
Odds ratio = 0.952 (95% CI = 0.395 - 2.297)

ตารางที่ 35 แสดง genotype ที่ตำแหน่ง A49G ของยีน CTLA-4 ของผู้ป่วยโรคไทรอยด์อักเสบชนิด HT เปรียบเทียบระหว่าง hypothyroidism และ subclinical hypothyroidism

A49G	hypothyroidism	Subclinical hypothyroidism	<i>p</i>	Odds ratio	95% CI
AA	2(11.8%)	5(20.8%)	0.282	0.507	0.145 - 1.776
AG	12(70.6%)	12(50%)	0.62	2.400	0.947 - 6.081
GG	3(17.6%)	7(29.2%)	0.231	0.520	0.77 - 1.531
รวม	17	24			

พบว่า genotype GG ไม่แตกต่างกัน ระหว่างกลุ่ม hypothyroidism และ subclinical hypothyroidism
Odds ratio = 0.520 (95% CI = 0.77 - 1.531)

ตารางที่ 36 แสดง allele ที่ตำแหน่ง CT60 ของยีน CTLA-4 ของผู้ป่วยโรคไทรอยด์อักเสบชนิด HT เปรียบเทียบระหว่าง hypothyroidism และ subclinical hypothyroidism

CT60	hypothyroidism	Subclinical hypothyroidism	p
A allele	15(44.1%)	16(33.3%)	
G allele	19(55.9%)	32(66.7%)	
รวม	34	48	0.370

พบว่า A allele ไม่แตกต่างกัน ระหว่างกลุ่ม hypothyroidism และ subclinical hypothyroidism
Odds ratio = 0.668 (95% CI = 0.276 - 1.616)

ตารางที่ 37 แสดง genotype ที่ตำแหน่ง CT60 ของยีน CTLA-4 ของผู้ป่วยโรคไทรอยด์อักเสบชนิด HT เปรียบเทียบระหว่าง hypothyroidism และ subclinical hypothyroidism

CT60	hypothyroidism	Subclinical hypothyroidism	p	Odds ratio	95% CI
AA	3(17.6%)	3(12.5%)	0.133	0.492	0.194 - 1.249
AG	9(53.0%)	10(41.7%)	0.313	1.575	0.650 - 3.815
GG	5(29.4%)	11(45.8%)	0.516	1.500	0.439 - 5.124
รวม	17	24			

พบว่า genotype AA ไม่แตกต่างกัน ระหว่างกลุ่ม hypothyroidism และ subclinical hypothyroidism
Odds ratio = 0.492 (95% CI = 0.194 - 1.249)

ตารางที่ 38 แสดง genotype ที่ตำแหน่ง A49G และ CT60 ของยีน CTLA-4 ของผู้ป่วยโรคไทรอยด์เป็นพิษชนิด GD เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

A49G/CT60	GD	GD(%)	control	Control (%)	p	Odds ratio	95% CI
AA/AA	9	8.0	18	15.9	0.065	0.457	0.196 - 1.066
AA/GA	2	1.8	9	8.0	0.03	0.208	0.044 - 0.986
AA/GG	1	0.9	0	0	0.316	2.009	1.762 - 2.291
AG/AA	8	7.1	2	1.8	0.052	4.229	0.878 - 20.372
AG/GA	33	29.2	31	27.4	0.882	1.045	0.584 - 1.869
AG/GG	17	15.0	37	32.7	0.002	0.364	0.190 - 0.696
G/GAA	1	0.9	1	0.9	1.000	1.000	0.062 - 16.186
GG/GA	4	3.5	1	0.9	0.175	4.110	0.452 - 37.359
GG/GG	38	33.6	14	12.4	0.001	3.583	1.811 - 7.088
	113	100.0	113	100			

พบว่า GG/GG สัมพันธ์กับการเกิดโรค GD โดยมีค่า Odds ratio = 3.583

(95% CI = 1.811 - 7.088)

ตารางที่ 39 แสดง genotype ที่ตำแหน่ง A49G และ CT60 ของยีน CTLA-4 ของผู้ป่วยโรคไทรอยด์อักเสบชนิด HT เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

A49G/CT60	HT	HT(%)	control	Control (%)	p	Odds ratio	95% CI
AA/AA	4	9.8	16	16.7	0.294	0.541	0.169 - 1.729
AA/GA	3	7.3	8	8.3	0.841	0.868	0.218 - 3.453
AG/AA	2	4.9	1	1.0	0.160	4.872	0.429 - 55.295
AG/GA	14	34.1	26	27.1	0.405	1.396	0.636 - 3.067
AG/GG	8	19.5	31	32.3	0.129	0.508	0.210 - 1.229
GG/AA	0	0	1	1.0	0.512	1.432	1.282 - 1.599
GG/GA	2	4.9	1	1.0	0.160	4.872	0.429 - 55.295
GG/GG	8	19.5	12	12.5	0.287	1.697	0.636 - 4.526
	41	100.0	96	100.0			

Genotype ที่ตำแหน่ง A49G และ CT60 ของยีน CTLA-4 ไม่สัมพันธ์กับการเกิดโรคไทรอยด์อักเสบชนิด HT

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

สรุปผลการวิจัย

ยีน *CTLA-4* polymorphism ที่ตำแหน่ง A49G มีความสัมพันธ์กับการเกิดโรค GD โดยมีค่าความเสี่ยง (Odds Ratio = 2.135) โดยไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างยีนดังกล่าวที่ตำแหน่ง CT 60 กับการเกิดโรคไทรอยด์เป็นพิษชนิด GD และไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างยีน *CTLA-4* polymorphism ที่ตำแหน่ง CT 60 และ A49G กับการเกิดโรค ไทรอยด์อักเสบชนิด HT

อภิปรายผลการวิจัย

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์ที่จะหาความสัมพันธ์ระหว่างยีน *CTLA-4* polymorphism ที่ตำแหน่ง A49G และตำแหน่ง CT60 กับการเกิดโรค autoimmune thyroid disease (AITD) ในประชากรไทย ได้แก่ โรคไทรอยด์เป็นพิษชนิด GD และไทรอยด์อักเสบชนิด HT ซึ่งเป็นโรค AITD ที่พบบ่อย self antigen

ได้เคยมีการศึกษาหลายการศึกษาเพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างยีน *CTLA-4* polymorphism ที่ตำแหน่ง A49G และตำแหน่ง CT60 กับการเกิดโรค autoimmune thyroid disease ทั้งในคนผิวขาวและชาวเอเชีย ซึ่งผลการศึกษามีทั้งที่สนับสนุนและคัดค้าน ในการศึกษาที่พบว่ายีน *CTLA-4* polymorphism ที่ตำแหน่ง A49G มีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคไทรอยด์เป็นพิษ GD แต่ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างยีนดังกล่าวที่ตำแหน่ง CT60 กับการเกิดโรคไทรอยด์เป็นพิษชนิด GD และไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างยีน *CTLA-4* polymorphism ที่ตำแหน่ง CT60 และ A49G กับการเกิดโรคไทรอยด์อักเสบชนิด HT ซึ่งเชื่อชาติน่าจะมีผลต่อความแตกต่างของผลการศึกษา เมื่อพิจารณาเฉพาะชาวเอเชียในกรณีศึกษาความสัมพันธ์ของยีน *CTLA-4* polymorphism ที่ตำแหน่ง A49G กับการเกิดโรคไทรอยด์เป็นพิษ ผลการศึกษานี้เหมือนกับการศึกษาส่วนใหญ่ที่ผ่านมา ดังแสดงในตาราง

ตารางที่ 40 การศึกษาความสัมพันธ์ของยีน CTLA-4 ที่ตำแหน่ง A49G กับการเกิดโรค GD ในชาวเอเชีย

A49G	Bernarczuk [18]	Yanagawa [19]	Park[26]	Cho[29]	งานวิจัยนี้
ชนิดงานวิจัย	case-control	case-control	case-control	case-control	case-control
เชื้อชาติ	Japanese	Japanese	Korean	Korean	Thai
จำนวน(คน)	319/112	153/200	97/199	278/472	113/113
อายุ(ปี)	40(13-78)	-	36.4(12.1)	38.8(12.9)	35.8(13.6)
เกณฑ์การวินิจฉัยcase	Clinical, Thyroid function test (TFT) thyroid receptor antibody +ve and goiter	Clinical, TFT thyroid receptor antibody +ve and goiter	Clinical, TFT	Clinical, TFT anti TPO/TG goiter iodine uptake	Clinical, TFT
เกณฑ์การวินิจฉัย control	ไม่มีประวัติ autoimmune ในครอบครัว	-	ไม่มีประวัติ autoimmune และไม่มีประวัติ autoimmune ในครอบครัว	ไม่มีประวัติ autoimmune ในครอบครัว	anti TPO/TG -ve ไม่มีประวัติ autoimmune และไม่มีประวัติ autoimmune ในครอบครัว
OR/p	1.7/0.03	2.64/< 0.01	1.6/0.034	1.5/0.328	2.315/0.005
ผล	สนับสนุน	สนับสนุน	สนับสนุน	คัดค้าน	สนับสนุน

สำหรับยีน *CTLA-4* ที่ตำแหน่ง *CT60* กับการเกิดโรคไทรอยด์เป็นพิษ GD ผลการศึกษานี้แตกต่างจากการศึกษาที่ผ่านมาและ meta-analysis[11] เมื่อพิจารณาเฉพาะชาวเอเชียผลดังแสดงในตาราง

ตารางที่ 41 การศึกษาความสัมพันธ์ของยีน *CTLA-4* ที่ตำแหน่ง *CT60* กับการเกิดโรค GD ในชาวเอเชีย

<i>CT60</i>	Ban[22]	Weng[23]	Cho[29]	งานวิจัยนี้
ชนิดงานวิจัย	case-control	case-control	case-control	case-control
เชื้อชาติ	Japanese	Taiwanese	Korean	Thai
จำนวน(คน)	131/179	117/101	278/472	113/113
อายุ(ปี)	-	34(11.8)	40.6(9.9)	35.8(13.6)
เกณฑ์การวินิจฉัย case	Clinical, TFT	Clinical, TFT anti TPO/TG	Clinical, TFT/ anti TPO/TG Iodine uptake	Clinical, TFT
เกณฑ์การวินิจฉัย control	ไม่มีประวัติ autoimmune และ ไม่มีประวัติ autoimmune ในครอบครัว	same geographic	ไม่มีประวัติ autoimmune และ ไม่มีประวัติ autoimmune ในครอบครัว	anti TPO/TG -ve ไม่มีประวัติ autoimmune และไม่มีประวัติ autoimmune ในครอบครัว
OR/p	2.0/0.0004	2.34/0.004	1.5/0.328	0.856/0.43
ผล	สนับสนุน	สนับสนุน	คัดค้าน	คัดค้าน

สำหรับยีน *CTLA-4* ที่ตำแหน่ง A49G กับการเกิดโรคไทรอยด์อักเสบ Hashimoto ผลการศึกษาที่แตกต่างจากการศึกษาที่ผ่านมาและ meta-analysis [11] เมื่อพิจารณาเฉพาะชาวเอเชียผลดังแสดงในตาราง

ตารางที่ 42 การศึกษาความสัมพันธ์ของยีน *CTLA-4* ที่ตำแหน่ง A49G กับการเกิดโรค HT ในชาวเอเชีย

A49G	Terauchi[20]	Tomoyose[24]	Park[26]	งานวิจัยนี้
ชนิดงานวิจัย	case-control	case-control	case-control	case-control
เชื้อชาติ	Japanese	Japanese	Korean	Thai
จำนวน(คน)	70/105	143/199	110/199	41/96
เพศหญิง(%)	100	88	99.1	100
อายุ(ปี)	-	-	37.4.(12)	40(18.2)
เกณฑ์การวินิจฉัย	Anti-TPO/ TG euthyroid or hypothyroid and goiter, anti TPO/ TG	Anti-TPO/TG, hypothyroid and/or goiter	Anti-TPO/ TG Euthyroid or hypothyroid and goiter,TBII anti TPO/ TG	Anti-TPO/TG hypothyroid/ subclinical hypothyroid Goiter
เกณฑ์การวินิจฉัย	ไม่มีประวัติ autoimmune และไม่มีประวัติ autoimmune ในครอบครัว TFT ปกติ	-	ไม่มีประวัติ autoimmune และ ไม่มีประวัติ autoimmune ในครอบครัว TFT ปกติ	anti TPO/TG -ve ไม่มีประวัติ Autoimmune และไม่มีประวัติ autoimmune ในครอบครัว
OR/p	4.95/0.01	1.81/0.0001	0.9/0.3886	1.427/0.178
ผล	สนับสนุน	สนับสนุน	คัดค้าน	คัดค้าน

ดังนั้นเมื่อพิจารณาเฉพาะชาวเอเชีย พบว่านอกจากเชื้อชาติแล้วอาจมีปัจจัยอื่นๆ ที่เกี่ยวข้อง ได้แก่ ปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมที่ไม่สามารถควบคุมได้ เช่น ความเครียด การติดเชื้อ [4] หรือปัจจัยทางพันธุกรรมที่ยังศึกษาไม่พบ ได้แก่ *CD40* *PTPN22* และ *Tg*

สำหรับยีน *CTLA-4* ที่ตำแหน่ง *CT60* กับการเกิดโรคไทรอยด์อักเสบ Hashimoto ผลการศึกษานี้แตกต่างจากการศึกษาที่ผ่านมาและ meta-analysis [11] เมื่อพิจารณาเฉพาะชาวเอเชีย การศึกษายังมีไม่มาก ผลดังแสดงในตาราง

ตารางที่ 43 การศึกษาความสัมพันธ์ของยีน *CTLA-4* ที่ตำแหน่ง *CT60* กับการเกิดโรค HT ในชาวเอเชีย

A49G	Ikegami[24]	งานวิจัยนี้
ชนิดงานวิจัย	case-control	case-control
เชื้อชาติ	Japanese	Thai
จำนวน(คน)	132/723	41/96
เพศหญิง(%)	-	100
อายุ(ปี)	-	40(18.2)
เกณฑ์การวินิจฉัย	Anti-TPO/TG, case/control	Anti-TPO/TG hypothyroid Goiter,
เกณฑ์การวินิจฉัย control	-	anti TPO/TG –ve ไม่มีประวัติ Autoimmune และไม่มีประวัติ autoimmune ในครอบครัว
OR/p	1.37/>0.05	0.375/0.01
ผล	คัดค้าน	คัดค้าน

ข้อพิจารณาเสนอแนะ

ควรศึกษา CTLA-4 polymorphism ในครอบครัวร่วมด้วย



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายการอ้างอิง

- [1] Hollowell JG, Staehling NW, Flanders WD, Hannon WH, Gunter EW, Spencer CA, et al. Serum TSH, T4, and thyroid antibodies in the United States population (1988 to 1994): National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III). *J Clin Endocrinol Metab* 1995;87:489 – 99
- [2] Brix TH, Kyvik KO, Christensen K, Hegedus L . Evidence for a major role of heredity in GD: a population-based study of two Danish twin cohorts. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86:930– 4
- [3] Brix TH, Kyvik KO, Hegedus L A population-based study of chronic autoimmune Hypothyroidism in Danish twins. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85: 536–9
- [4] Cooper D. Hyperthyroidism. *Lancet* 2003;362:59-68.
- [5] Vaidya B, Kendall-Taylor P, Pearce S. Genetics of endocrine disease The genetics of autoimmune thyroid disease. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87: 5385–97
- [6] Tomer Y, Davies T. Searching for the autoimmunity of thyroid disease susceptibility genes: from gene mapping for gene function. *End Rev* 2003;24:694-717.
- [7] Ueda H, Howson J, Esposito L, Heward J, Snook H, Chamberlain G. Association of The T-cell regulatory gene CTLA4 with susceptibility to autoimmune disease. *Nature* 2003;423:506-11.
- [8.] Oaks MK, Hallett KM. Cutting edge: a soluble form of CTLA-4 in patients with autoimmune thyroid disease. *J Immunol* 2000;164:5015-8.
- [9] Saverino D, Brizzolara R, Simone R, Chiappori A, Floriani FM, Pesce G. Soluble CTLA-4 in autoimmune thyroid diseases: Relationship with clinical status and possible role in the immune response dysregulation. *Clin immunol* 2007;123:190-8.
- [10] Chistiakov D, Turakulov R. CTLA-4 and its role in autoimmune thyroid disease. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;31:21-36.
- [11] Kavvoura F, Akamizu T, Awata T, Ban Y, Chistiakov D, Frydecka I, et al. Cytotoxic T-lymphocyte associated antigen 4 gene polymorphisms and autoimmune thyroid disease: A meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92:3162-70
- [12] Marron MP, Raffel LJ, Garchon HJ, Jacob CO, Serrano-Rios M, MartinezLarrad MT,

- et al. Insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM) is associated with CTLA4 polymorphisms in multiple ethnic groups. **Hum Mol Genet** 1997; 6:1275–82
- [13] Donner H, Rau H, Walfish PG, Braun J, Siegmund T, Finke R, Herwig J, Usadel KH, Badenhoop K CTLA4 alanine-17 confers genetic susceptibility to Graves' disease and to type 1 diabetes mellitus. **J Clin Endocrinol Metab** 1997; 82:143–6.
- [14] Chistyakov DA, Savost'anov KV, Turakulov RI, Petunina NA, Trukhina LV, Kudinova AV, et al. Complex association analysis of Graves disease using a set of polymorphic markers. **Mol Genet Metab** 2007; 0:214–8
- [15] Hadj Kacem H, Bellassoued M, Bougacha-Elleuch N, Abid M, Ayadi H CTLA-4 gene polymorphisms in Tunisian patients with Graves' disease. **Clin Immunol** 2001; 101:361–5
- [16] Heward JM, Allahabadia A, Armitage M, Hattersley A, Dodson PM, Macleod K, et al. The development of Graves' disease and the CTLA-4 gene on chromosome 2q33. **J Clin Endocrinol Metab** 1999 Jul; 84(7):2398-401.
- [17] Kouki T, Gardine CA, Yanagawa T, Degroot LJ. Relation of three polymorphisms of the CTLA-4 gene in patients with Graves' disease. **J Endocrinol Invest** 2002; 25:208–13
- [18] Bednarczuk T, Hiromatsu Y, Fukutani T, Jazdzewski K, Miskiewicz P, Osikowska M, et al. Association of cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen-4 (CTLA-4) gene polymorphism and non-genetic factors with Graves' ophthalmopathy in European and Japanese populations. **Eur J Endocrinol** 2003 148:13– 8
- [19] Yanagawa T, Hidaka Y, Guimaraes V, Soliman M, DeGroot L CTLA-4 gene polymorphism associated with Graves' disease in a Caucasian population. **J Clin Endocrinol Metab** 1995; 80:41–5
- [20] Terauchi M, Yanagawa T, Ishikawa N, Ito K, Fukazawa T, Maruyama H, Saruta T Interactions of HLA-DRB4 and CTLA-4 genes influence thyroid function in ไทรอยด์อักเสบชนิด Hashimoto in Japanese population. **J Endocrinol Invest**

2003;26:1208–12

- [21] Ikegami H, Awata T, Kawasaki E, Kobayashi T, Maruyama T, Nakanishi K, et al. The association of CTLA4 polymorphism with type 1 diabetes is concentrated in patients complicated with autoimmune thyroid disease: a multicenter collaborative study in Japan. **J Clin Endocrinol Metab**2006 Mar;91(3):1087-92.
- [22] Ban Y, Tozaki T, Taniyama M, Tomita M, Ban Y Association of a CTLA-43_untranslated region (CT60) single nucleotide polymorphism with autoimmune thyroid disease in the Japanese population. **Autoimmunity** 2005;38:151–15320.
- [23] Weng YC, Wu MJ, Lin WS. CT60 single nucleotide polymorphism of the CTLA-4 gene is associated with susceptibility to Graves' disease in the Taiwanese population. **Ann Clin Lab Sci**2005 Summer;35(3):259-64.
- [24] Tomoyose T, Komiya I, Takara M, Yabiku K, Kinjo Y 2002 Cytotoxic Tlymphocyte antigen-4 gene polymorphisms and human T-cell lymphotropic virus-1 infection: their associations with ไทรอยด์อักเสบชนิดHashimoto in Japanese patients. **Thyroid** 2002; 12:673–7
- [25] Donner H, Braun J, Seidl C, Rau H, Finke R, Vents M, et al. Codon 17 polymorphism of the cytotoxic T lymphocyte antigen 4 gene in Hashimoto's thyroiditis and Addison's disease. **J Clin Endocrinol Metab**1997 Dec;82(12):4130-2.
- [26] Park YJ, Chung HK, Park DJ, Kim WB, Kim SW, Koh JJ, et al. Polymorphism in the promoter and exon 1 of the cytotoxic T lymphocyte antigen-4 gene associated with autoimmune thyroid disease in Koreans. **Thyroid**2000 Jun;10(6):453-9.
- [27] Petrone A, Giorgi G, Galgani A, Alemanno I, Corsello SM, Signore A, et al CT60 single nucleotide of the cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen-4 gene region is associated with Graves' disease in an Italian population. **Thyroid** 2005;15:232–238
- [28] Maalej A, Bougacha N, Rebai A, Bellassouad M, Ayadi-Makni F, Abid M, et al. Lack of linkage and association between autoimmune thyroid diseases and the

CTLA-4 gene in a large Tunisian family. *Hum Immunol*2001
Nov;62(11):1245-50.

[29] Sahin M, Gursoy A, Erdogan MF. Cytotoxic T lymphocyte-associated molecule-4 polymorphism in Turkish patients with Hashimoto thyroiditis. *Int J Immunogenet*2009 Apr;36(2):103-6.

[30] Cho HJ, Chung JH, Kim IS, Kim HJ, Cho SH, Ki CS, et al. Lack of a genetic association between the CTLA-4 gene and Graves' disease in Koreans. *Thyroid*2006 Mar;16(3):237-41.

[31] ปิยะฉัตร หะวานนท์ การพิจารณาขนาดตัวอย่าง ในภิรมย์ กมลรัตน์กุล มนต์ชัย ซาลา ประวรรตน์ ทวีสิน ต้นประยูร บรรณานิการ หลักการทำวิจัยให้สำเร็จ กรุงเทพมหานคร บริษัท เท็กซ์ แอนด์ เจอร์นัล พับลิเคชั่น จำกัด 2545:125-30



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาคผนวก

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ก

การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการกลายพันธุ์ของยีนซีทีแอลเอไพร์(ที่ตำแหน่งเอ49จี) กับการเกิดโรคคออโตอิมมูนของต่อมไทรอยด์		
<input type="checkbox"/> CASE..... <input type="checkbox"/> CONTROL.....		
HN		
name		
age		
sex	(F,M)	
province		
Cigarette smoking	1. no 2. quit smoking (Pack-year) 3.current smoking(Pack-year)	
Autoimmune disease	1. DM type 1 2. RA 3. SLE 4. dSCC 5. MG	
Family history of autoimmune	1. DM type 1 2. RA 3. SLE 4.dSCC 5. MG	
Goiter size	gram	
Graves'ophthalmopathy	Y,N	
Pretibial myxedema	Y,N	
Initial FT4	ng/dl	
Initial FT3	pg/dl	
Initial TSH	uU/ml	
antithyroglobulin antibody		
antithyroidperoxidase		

(Thyroid uptake)ถ้ำมี		
(TSHR-Ab)ถ้ำมี	u/l	
A49G	AA AG GG	
CT60	AA AG GG	



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ข

ข้อมูลสำหรับผู้ป่วยหรือผู้เข้าร่วมโครงการวิจัย

ชื่อโครงการวิจัย การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการกลายพันธุ์ของยีนซีทีแอลเอโฟร์(ที่ตำแหน่ง เอ 49 จี) กับการเกิดโรคคออโตอิมมูนของต่อมไทรอยด์

แพทย์ผู้ทำวิจัย

ชื่อ แพทย์หญิงนางศุภานิตย์ พุฒิโกคิน

(แพทย์ผู้ร่วมในโครงการวิจัย)

ชื่อ ผู้ช่วยศาสตราจารย์นายแพทย์ ธิติ สันนบุญ

ที่อยู่ หน่วยต่อมไร้ท่อและเมตาบอลิซึม ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โทรศัพท์ 02-2564296

โทรศัพท์เคลื่อนที่ 5475516-081

เรียน ผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยทุกท่าน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่แสดงข้อมูลเพื่อใช้ประกอบการตัดสินใจของท่านในการเข้าร่วมการศึกษาวิจัย อย่างไรก็ตามก่อนที่ท่านตกลงเข้าร่วมการศึกษาดังกล่าว ขอให้ท่านอ่านเอกสารฉบับนี้อย่างละเอียดเพื่อให้ท่านได้ทราบถึงเหตุผลและรายละเอียดของการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ หากท่านมีข้อสงสัยใด ๆ เพิ่มเติม กรุณาซักถามจากทีมงานของแพทย์ผู้ทำวิจัย หรือแพทย์ผู้ร่วมในโครงการวิจัย ซึ่งจะเป็นผู้สามารถให้ความกระจ่างแก่ท่านได้ท่านสามารถขอคำแนะนำในการเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้จากครอบครัว เพื่อน หรือแพทย์ประจำตัวของท่านได้

วัตถุประสงค์ของการศึกษา

Autoimmune thyroid disease เป็นโรคที่พบบ่อย โรคไทรอยด์เป็นพิษชนิด Graves' disease และโรคไทรอยด์อักเสบชนิด Hashimoto ถือว่าเป็น 2 โรคที่พบบ่อยที่สุดในกลุ่ม autoimmune thyroid disease สาเหตุของโรคในกลุ่มนี้ มีทั้งจากปัจจัยทางพันธุกรรมและสิ่งแวดล้อม โครงการนี้จะศึกษาเกี่ยวกับปัจจัยทางพันธุกรรม ได้แก่ การศึกษาการกลายพันธุ์ของยีนซีทีแอลเอโฟร์เพื่อหาความสัมพันธ์กับการเกิดโรคดังกล่าวในประเทศไทยซึ่งการศึกษานี้จะช่วยทำนายการเกิดโรคในครอบครัวและมีประโยชน์สำหรับการคัดกรองผู้ป่วยและการรักษาในอนาคต จำนวนผู้เข้าร่วมโครงการวิจัย คือ 266 คน

วิธีการที่เกี่ยวข้องกับการวิจัย

หากท่านมีคุณสมบัติที่เหมาะสมและยินยอมที่จะเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้ ท่านจะได้รับเชิญให้มาพบแพทย์เพื่อชี้แจงการวิจัย ได้รับการซักประวัติ ตรวจร่างกาย ได้รับการเจาะเลือดจากหลอดเลือดดำ 3 ซีซี (6 ซีซีสำหรับกลุ่มควบคุม) หนึ่งครั้ง การเจาะเลือดจะใช้วิธีปลอดเชื้อ โดยผู้เจาะเลือดจะทำความสะอาดบริเวณเส้นเลือดดำที่ข้อพับแขน ก่อนเจาะเลือดด้วยเข็มฉีดยาปลอดเชื้อ การเจาะเลือดจะกระทำโดยแพทย์ พยาบาล หรือ เจ้าหน้าที่เทคนิคการแพทย์ เมื่อสิ้นสุดโครงการตัวอย่างเลือดของท่านจะถูกนำไปกำจัดโดยวิธีปลอดภัย โดยไม่เก็บไว้เพื่อตรวจเพิ่มเติมอีก

ท่านจะไม่เสียค่าใช้จ่าย สำหรับการตรวจวิเคราะห์สารพันธุกรรม หรือการตรวจระดับแอนติบอดีไทรอยด์

ประโยชน์ที่ได้รับจากการทำวิจัย

ช่วยทำนายนายการเกิดโรคในครอบครัวและมีประโยชน์สำหรับการคัดกรองผู้ป่วยและการรักษาในอนาคต

ความเสี่ยงที่ได้รับจากการเจาะเลือด

ท่านมีโอกาที่จะเกิดอาการเจ็บ เลือดออก ช้ำจากการเจาะเลือด อาการบวมบริเวณที่เจาะเลือดหรือหน้ามืดและโอกาที่จะเกิดการติดเชื้อบริเวณที่เจาะเลือดพบได้น้อยมาก

การเข้าร่วมและการสิ้นสุดการเข้าร่วมโครงการวิจัย

การเข้าร่วมในโครงการวิจัยครั้งนี้เป็นไปโดยความสมัครใจ หากท่านไม่สมัครใจจะเข้าร่วมการศึกษาแล้ว ท่านสามารถถอนตัวได้ตลอดเวลา การขอลงนามออกจากโครงการวิจัยจะไม่มีผลต่อการดูแลรักษาโรคของท่านแต่อย่างใด

การปกป้องรักษาข้อมูลของอาสาสมัคร

ข้อมูลนี้อาจนำไปสู่การเปิดเผยตัวของท่าน จะได้รับการปกปิดและจะไม่เปิดเผยแก่สาธารณชน ในกรณีที่ผลการวิจัยได้รับการตีพิมพ์ ชื่อและที่อยู่ของท่านจะต้องได้รับการปกปิดอยู่เสมอ โดยจะใช้เฉพาะรหัสประจำโครงการวิจัยของท่าน จากการลงนามยินยอมของท่านแพทย์ผู้ทำวิจัย และผู้สนับสนุนการวิจัยมีสิทธิ์สามารถเข้าไปตรวจสอบบันทึกข้อมูลทางการแพทย์ของท่านได้ตลอดเวลาแม้จะสิ้นสุดโครงการวิจัยแล้วก็ตาม หากท่านต้องการยกเลิกการให้สิทธิ์ ดังกล่าว ท่านสามารถเขียนบันทึกขอยกเลิกการให้คำยินยอม โดยส่งไปที่ หน่วยต่อมไร้ท่อและเมตาบอลิซึม ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โทรศัพท์ 02-2564296

หากท่านขอยกเลิกการให้คำยินยอมหลังจากที่ท่านได้เข้าร่วมโครงการวิจัยแล้ว ข้อมูลส่วนตัวของท่านจะไม่ถูกบันทึกเพิ่มเติม อย่างไรก็ตามข้อมูลอื่น ๆ ของท่านอาจถูกนำมาใช้เพื่อประเมินผลการวิจัย และท่านจะไม่สามารถกลับมาเข้าร่วมในโครงการนี้ได้อีก ทั้งนี้เนื่องจากข้อมูลของท่านที่จำเป็นสำหรับใช้เพื่อการวิจัยไม่ได้ถูกบันทึกจากการลงนามยินยอมของท่านแพทย์ผู้ทำวิจัยสามารถบอกรายละเอียดของท่านที่เกี่ยวกับการเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้ให้แก่แพทย์ผู้รักษาท่านได้

สิทธิของผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย ในฐานะที่ท่านเป็นผู้ร่วมในโครงการวิจัยท่านจะมีสิทธิดังต่อไปนี้

1. ท่านจะได้รับทราบถึงลักษณะและวัตถุประสงค์ของการวิจัยในครั้งนี้
2. ท่านจะได้รับการอธิบายเกี่ยวกับระเบียบวิธีการของการวิจัยทางการแพทย์ครั้งนี้
3. ท่านจะได้รับการอธิบายถึงความเสี่ยงและความไม่สบายที่จะได้รับจากการวิจัย
4. ท่านจะได้รับทราบแนวทางในการรักษา ในกรณีที่พบโรคแทรกซ้อนภายหลังการเข้าร่วมในโครงการวิจัย
5. ท่านจะมีโอกาสได้ซักถามเกี่ยวกับงานวิจัยหรือขั้นตอนที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัย
6. ท่านจะได้รับทราบว่าการยินยอมเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้
ท่านสามารถถอนตัวจาก โครงการเมื่อไรก็ได้โดยผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัยสามารถขอถอนตัวจากโครงการโดย ไม่ได้รับผลเสียใด ๆ ทั้งสิ้น
7. ท่านจะได้รับความเคารพและความเป็นส่วนตัวที่มีทั้งลายเซ็นและวันที่
8. ท่านจะได้โอกาสในการตัดสินใจว่าจะเข้าร่วมในโครงการวิจัยหรือไม่ก็ได้ โดยปราศจากการใช้อิทธิพลบังคับข่มขู่ หรือการหลอกลวง

ขอขอบคุณในการร่วมมือของท่านมา ณ ที่นี้

.....
หากท่านมีข้อสงสัยเกี่ยวกับปัญหาทางด้านจริยธรรมการวิจัยขอให้ติดต่อสำนักงานคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัย ตึกอำนวยการ ชั้น 3 หมายเลขโทรศัพท์ 2564455-02 ต่อ14,15

ภาคผนวก ค

**ใบยินยอมเข้ารับการเจาะเลือดเพื่อการวิจัย
การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการกลายพันธุ์ของยีนซีทีแอลเอโฟร์(ที่ตำแหน่งเอ49จี) กับ
การเกิดโรคคอไตอิมมูนของต่อมไทรอยด์**

1. คำชี้แจงเกี่ยวกับงานวิจัยและวัตถุประสงค์ของการวิจัย

Autoimmune thyroid disease ได้แก่ โรคไทรอยด์เป็นพิษชนิด Graves' disease และโรคไทรอยด์อักเสบชนิด Hashimoto เป็นโรค autoimmune ที่พบบ่อย โดยมีสาเหตุของโรคมีทั้งจากปัจจัยทางพันธุกรรมและสิ่งแวดล้อม โครงการนี้จะทำการศึกษาเกี่ยวกับปัจจัยทางพันธุกรรมดังกล่าว โดยศึกษาที่ระดับยีนเพื่อหาความสัมพันธ์ของยีนกับการเกิดโรค

2. คำชี้แจงเกี่ยวกับขั้นตอน วิธีการ ผลข้างเคียง และการปฏิบัติตัวในขณะที่เข้าร่วมการวิจัย

1. อาสาสมัครจะได้รับการอธิบายถึงวัตถุประสงค์ของการวิจัยโดยท่านจะได้รับเอกสารชุดนี้และได้ลงนามในใบยินยอมก่อน
2. อาสาสมัครจะได้รับการซักประวัติ ตรวจร่างกาย ได้รับการเจาะเลือดจากหลอดเลือดดำเพียงหนึ่งครั้ง การเจาะเลือดจะใช้วิธีปลอดเชื้อ โดยผู้เจาะเลือดจะทำความสะอาดบริเวณเส้นเลือดดำที่ข้อพับแขน ก่อนเจาะเลือดด้วยเข็มฉีดยาปลอดเชื้อ การเจาะเลือดจะกระทำโดยแพทย์ พยาบาล หรือ เจ้าหน้าที่เทคนิคการแพทย์ อาสาสมัครอาจรู้สึกเจ็บเล็กน้อยและอาจพบรอยเขียวช้ำบริเวณที่ถูกเจาะเลือด ซึ่งมักจะหายไปได้เองใน 2-3 วัน หลังเจาะเลือด อาสาสมัครสามารถประกอบกิจวัตรประจำวันได้ตามปกติ
3. อาสาสมัครที่เข้าร่วมในโครงการนี้จะไม่เสียค่าใช้จ่าย สำหรับการตรวจวิเคราะห์สารพันธุกรรม หรือการตรวจอื่นๆที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัย

3. ประโยชน์ที่ผู้เข้าร่วมการวิจัยจะได้รับ

อาสาสมัครจะได้ทราบว่ามียีนที่เกี่ยวข้องกับการเกิดโรคหรือไม่ ซึ่งจะช่วยทำนายการเกิดโรคในครอบครัวได้

4. คำชี้แจงเกี่ยวกับสิทธิของอาสาสมัคร

การเจาะเลือดเพื่อนำไปใช้ในการวิจัยครั้งนี้ จะนำเลือดที่ได้ไปทำการทดสอบในห้องปฏิบัติการวิจัยของคณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ภายใต้การดูแลอย่างใกล้ชิดของอาจารย์ นายแพทย์ ธิติ สนับสนุนุญ และแพทย์หญิงศุภนิศันย์ พุฒิโกคิน อาสาสมัครจะไม่เสียค่าใช้จ่ายในส่วนของการเจาะเลือดและการทดลองในห้องปฏิบัติการแต่อย่างใด นอกจากนี้ อาสาสมัครมีสิทธิที่จะปฏิเสธการเจาะเลือดเพื่อนำไปใช้ในการวิจัยดังกล่าว โดยไม่มีผลกระทบใดๆต่ออาสาสมัคร

การเข้าร่วมในการศึกษาวิจัยครั้งนี้เป็นไปโดยสมัครใจ อาสาสมัครอาจจะปฏิเสธที่จะเข้าร่วมหรือถอนตัวออกจากการศึกษาวิจัยนี้ได้ทุกเมื่อ อนึ่ง ผลของการศึกษาวิจัยครั้งนี้จะใช้สำหรับวัตถุประสงค์

ประสงค์ทางวิชาการเท่านั้น โดยที่ข้อมูลส่วนตัวของอาสาสมัครจะถูกเก็บเป็นความลับ ไม่มีการเปิดเผยชื่อ และไม่มีการเผยแพร่สู่สาธารณชน

หากท่านมีปัญหาหรือข้อสงสัยประการใด กรุณาติดต่อ อาจารย์ นายแพทย์ ธิติ สันันบุญ และแพทย์หญิงศุภนิത്യ พุฒิโกศล ที่หน่วยต่อมไร้ท่อและเมตาบอลิซึม ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โทรศัพท์ 02-256-4296 และ 086-5654203

5. คำยินยอมของอาสาสมัครในการเข้าร่วมโครงการวิจัย

ข้าพเจ้าได้อ่านและทำความเข้าใจทั้งหมดที่เกี่ยวกับโครงการวิจัยในใบยินยอมครบถ้วนดีแล้ว ข้าพเจ้าเข้าใจถึงลักษณะ วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย พร้อมทั้งได้รับการอธิบายเกี่ยวกับขั้นตอนและประโยชน์ที่จะได้จากการวิจัย ข้าพเจ้าเข้าใจว่าการเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้เป็นไปด้วยความสมัครใจ ซึ่งข้าพเจ้าได้มีเวลาที่จะพิจารณาตัดสินใจในการเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้ ข้าพเจ้ายินดีที่จะเข้าร่วมตามโครงการวิจัยนี้ จึงลงลายมือชื่อไว้เป็นหลักฐาน

ลงชื่อ (อาสาสมัคร)
(.....)

..... (แพทย์ผู้ทำการวิจัย)
(.....)

..... (พยาน)
(.....)

วันที่ / /

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

ชื่อ	นางศุภนิത്യ พุฒิโกคิน	
วันเดือนปีเกิด	8 ธันวาคม พ.ศ. 2516	
ประวัติการศึกษาและการทำงาน		
นักศึกษาคณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล		2535-2541
แพทย์เพิ่มพูนทักษะโรงพยาบาลดำเนินสะดวก		2541-2542
แพทย์ประจำศูนย์บริการสาธารณสุข 43 มีนบุรี		2542-2544
แพทย์ประจำบ้านอายุรศาสตร์ที่ โรงพยาบาลภูมิพลอดุลยเดช		2544-2547
แพทย์ประจำศูนย์บริการสาธารณสุข 51 วัดไผ่ตัน		2547-2551
ปริญญาและประกาศนียบัตร		
แพทยศาสตรบัณฑิตคณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล		2541
วุฒิบัตรแพทย์ผู้เชี่ยวชาญสาขาอายุรศาสตร์		2547
สมาชิกสมาคมวิชาชีพ		
สมาชิกราชวิทยาลัยอายุรแพทย์แห่งประเทศไทย		
สมาชิกสมาคมต่อมไร้ท่อแห่งประเทศไทย		

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย