ความสัมพันธ์ของพอลีมอร์ฟิซึมในตำแหน่งบีเอสเอ็มวันของวิตามินดีรีเซปเตอร์ยีน
ในผู้ที่เป็นมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนักเทียบกับผู้ที่ไม่เป็นมะเร็งลำไส้ใหญ่และ
ทวารหนักจากการส่องกล้องลำไส้ใหญ่

นางสาวประพิมพรรณ อำพันทรัพย์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย
The abstract and full text of theses from the academic year 2011 in Chulalongkorn University Intellectual Repository (CUIR)
are the thesis authors' files submitted through the University Graduate School.

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาอายุรศาสตร์ ภาควิชาอายุรศาสตร์
คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2558
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ASSOCIATION OF BSMI POLYMORPHISM OF VITAMIN D RECEPTOR GENE BETWEEN PATIENTS WITH COLORECTAL CANCER AND WITHOUT COLORECTAL CANCER FROM COLONOSCOPY

Miss Prapimphan Aumpansub

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Medicine
Department of Medicine
Faculty of Medicine
Chulalongkorn University
Academic Year 2015
Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ความสัมพันธ์ของพอลีมอร์ฟิซึมในตำแหน่งบีเอสเอ็มวันของวิตามินดีรีเซปเตอร์ยีนในผู้ที่เป็นมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนักเทียบกับผู้ที่ไม่เป็นมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนักจากการส่องกล้องลำไส้ใหญ่
โดย	นางสาวประพิมพรรณ อำพันทรัพย์
สาขาวิชา	อายุรศาสตร์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	อาจารย์ แพทย์หญิง สติมัย อนิวรรณน์

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

.....คณบดีคณะแพทยศาสตร์
(ศาสตราจารย์ นายแพทย์ สุทธิพงศ์ วัชรสินธุ)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ พิสุทธิ์ กตเวทิน)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. นายแพทย์ปิยะวัฒน์ โกมลมิศร์)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม
(อาจารย์ แพทย์หญิง สติมัย อนิวรรณน์)

.....กรรมการ
(อาจารย์ นายแพทย์ สืบพงศ์ ธนสารวิมล)

.....กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ ทวีศักดิ์ แทนวันดี)

ประพิมพรรณ อำพันทรัพย์ : ความสัมพันธ์ของพอลีมอร์ฟิซึมในตำแหน่งบีเอสเอ็มวันของวิตามินดีรีเซปเตอร์ยีนในผู้ที่เป็นมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนักเทียบกับผู้ที่ไม่เป็นมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนักจากการส่องกล้องลำไส้ใหญ่ (ASSOCIATION OF BSMI POLYMORPHISM OF VITAMIN D RECEPTOR GENEBETWEEN PATIENTS WITH COLORECTAL CANCER AND WITHOUTCOLORECTAL CANCER FROM COLONOSCOPY) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: ผศ. ดร. นพ.ปิยะวัฒน์ โกมลมิศร์, อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม: อ. พญ. สติมัย อนิวรรณน์, 30 หน้า.

ที่มา: วิตามินดีมีหน้าที่ในการควบคุมการทำงานของเซลล์หลายๆชนิดผ่านการจับวิตามินดีรีเซปเตอร์ที่อยู่ภายในเซลล์เพื่อควบคุมการแบ่งตัว การเปลี่ยนแปลงและการตายของเซลล์โดยมีการศึกษาก่อนหน้านี้ถึงภาวะขาดวิตามินดีหรือการทำงานที่ผิดปกติของวิตามินดีรีเซปเตอร์มีความสัมพันธ์ต่อการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนัก โดยซิงเกิลนิวคลีโอไทด์โพลีมอร์ฟิซึมบนยีนวิตามินดีรีเซปเตอร์นั้นมีความแตกต่างกันในแต่ละเชื้อชาติ และมีผลต่อการทำงานของวิตามินดีรีเซปเตอร์

วัตถุประสงค์:เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของซิงเกิลนิวคลีโอไทด์โพลีมอร์ฟิซึมบีเอสเอ็มวันบนยีนวิตามินดีรีเซปเตอร์กับความเสี่ยงมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนัก

วิธีดำเนินการวิจัย: กลุ่มตัวอย่างคือคนไทยจำนวนทั้งหมด 364 คนที่ได้รับการส่องกล้องในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ระหว่างปีพ.ศ. 2557-2558 โดยเป็นผู้ป่วยมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนักจำนวน 182 คนเทียบกับผู้ที่ส่องกล้องลำไส้ใหญ่และทวารหนักผลเป็นปกติจำนวน 182 คน โดยมีการเก็บตัวอย่างเลือดเพื่อสกัดดีเอ็นเอมาตรวจซิงเกิลนิวคลีโอไทด์โพลีมอร์ฟิซึมบนยีนวิตามินดีรีเซปเตอร์ด้วยวิธีปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส (polymerase chain reaction) และเทคนิค restriction fragment length polymorphism

ผลการวิจัย:ลักษณะข้อมูลพื้นฐานของกลุ่มตัวอย่างทั้งสองกลุ่มไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญของปัจจัยอายุ ประวัติการเป็นมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนักของคนในครอบครัว และดัชนีมวลกาย แต่พบว่าในกลุ่มตัวอย่างมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนักเป็นเพศชายมากกว่าคิดเป็นร้อยละ 56.6 เมื่อเทียบกับกลุ่มปกติคิดเป็นร้อยละ 32.4 ($p<0.001$) และพบว่ามีประวัติการสูบบุหรี่คิดเป็นร้อยละ 36.7 ในกลุ่มมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนักและร้อยละ 12.5 ในกลุ่มปกติตามตารางที่ 1 ($p<0.001$) โดยพบว่ามีความสัมพันธ์ของบีเอสเอ็มวันโพลีมอร์ฟิซึม กับความเสี่ยงการเป็นมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนัก โดยคิดเป็นร้อยละ 84 ในกลุ่มมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนักและร้อยละ 44 ในกลุ่มปกติ ($p<0.001$) เมื่อใช้วิธีการวิเคราะห์พหุตัวแปรพบว่ามีสองปัจจัยที่สัมพันธ์กับความเสี่ยงของการเป็นมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนักได้แก่ จีโนไทป์ของโพลีมอร์ฟิซึมของบีเอสเอ็มวันชนิดจีจีโดยมี Odds ratio 6.6 (95% confidence interval 3.7-11.7) และประวัติการสูบบุหรี่มี Odds ratio 3.47 (95% confidence interval 1.6-7.3) โดยเพศชายมีแนวโน้มสัมพันธ์กับความเสี่ยงการเป็นมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนักแต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (OR=1.75, 95% confidence interval 0.9-3.2, $p = 0.07$)

สรุป: ในกลุ่มการศึกษานี้นอกจากประวัติการสูบบุหรี่ที่เป็นปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนักที่ทราบกันทั่วไปแล้ว ยังพบว่าโพลีมอร์ฟิซึมของบีเอสเอ็มวันบนยีนวิตามินดีรีเซปเตอร์มีความสัมพันธ์กับการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนักอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งอาจนำไปสู่การศึกษาถึงความสำคัญในการคัดกรองมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนักในประชากรทั่วไปในอนาคต

ภาควิชา อายุรศาสตร์	ลายมือชื่อนิสิต .....
สาขาวิชา อายุรศาสตร์	ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก .....
ปีการศึกษา 2558	ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาร่วม .....

5774047830 : MAJOR MEDICINE

KEYWORDS: COLORECTAL CANCER / SNP / VDR GENE / BSMI

PRAPIMPHAN AUMPANSUB: ASSOCIATION OF BSMI POLYMORPHISM OF VITAMIN D RECEPTOR GENEBETWEEN PATIENTS WITH COLORECTAL CANCER AND WITHOUTCOLORECTAL CANCER FROM COLONOSCOPY. ADVISOR: ASST. PROF. PIYAWAT KOMOLMIT, M.D., Ph.D., CO-ADVISOR: SATIMAI ANIWAN, M.D., 30 pp.

Background: Binding of vitamin D to its intracellular receptor regulates several genes involving in cellular proliferation, differentiation and apoptosis. Previous studies postulated the link between vitamin D deficiency or vitamin D receptor (VDR) dysfunction and carcinogenesis of colorectal cancer (CRC). Single nucleotide polymorphisms (SNPs) of VDR gene varies among different ethnic groups. We hypothesized that some SNPs of VDR gene might contribute to CRC carcinogenesis in Asian population.

Method: A case-control study was conducted on 364-Thai participants who had undergone colonoscopy in King Chulalongkorn Memorial Hospital during 2014-2015. Of these, 182 subjects had normal colon without polyps (controls) and 182 patients had CRC (cases). Genotyping for SNP of VDR, *BsmI*, was performed using the PCR-RFLP method.

Results: Baseline characteristics including age, history of CRC in first degree relative, body mass index (BMI) were not different between the two groups. However, patients with CRC had higher proportion of male gender (56.6% vs. 32.4%, p<0.001) and history of smoking (36.7% vs. 12.5%, p<0.001) when compared to control group (Table 1). The *BsmI* polymorphism was significant associated with risk of CRC as compared to the control group (84% vs. 44%, p<0.001). The Multivariate analysis revealed *BsmI* GG genotype (OR= 6.6, 95% CI 3.7-11.7) and history of smoking (OR=3.47, 95% CI 1.6-7.3) were risk factors linked to CRC. The male gender showed trend toward association, but not statistically significant (OR=1.75, 95% CI 0.9-3.2, p = 0.07).

Conclusion: In this population, apart from a well-known factor associated with CRC, smoking history, the *BsmI* polymorphism of VDR gene, interestingly, demonstrated even stronger statistically association. This finding might contribute further understanding of CRC carcinogenesis, and apparently, might be used as a marker for selecting a population who may or may not need early CRC screening.

Department:	Medicine	Student's Signature	.....
Field of Study:	Medicine	Advisor's Signature	.....
Academic Year:	2015	Co-Advisor's Signature	.....

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดีด้วยความช่วยเหลือของ ผศ.นพ.ดร. ปิยะวัฒน์ โกมลมิศร์

ที่ให้ข้อแนะนำและปรึกษาในการทำวิจัย ขอขอบคุณ ศ.นพ. ยง ภู่วรวรรณ อาจารย์ประจำ ศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะทางด้านไวรัสวิทยาคลินิก ภาควิชากุมารเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และ อ.พญ. สติมัย อนิวรรณน์ อ.พญ. เกศรินทร์ ถานะภิรมย์ อาจารย์ประจำหน่วยทางเดินอาหาร ภาควิชาอายุรกรรม คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ขอขอบคุณ คุณ ศิรินพร สุขสวัสดิ์อำนวย คุณพนารัตน์ ไทยใหม่ คุณ วรัทยา ศักรินทร์ เจ้าหน้าที่หน่วยปฏิบัติการวิจัยโรคตับ ที่ช่วยเหลือดำเนินการวิจัยเป็นอย่างดี

ขอขอบพระคุณอาสาสมัครทุกท่านที่ให้ความร่วมมืออย่างดี

สุดท้าย ขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา พี่น้อง ที่เป็นกำลังใจที่สำคัญ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ

กิตติกรรมประกาศ ..... ฉ

สารบัญ ..... ช

สารบัญตาราง ..... ฌ

สารบัญภาพ ..... ญ

สารบัญแผนภูมิ ..... ฎ

บทที่ 1 บทนำ 12

1.1 ความสำคัญและที่มาของการวิจัย 12

1.2 คำถามของการวิจัย 13

1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย 13

1.4 สมมุติฐาน 13

1.5 กรอบแนวความคิดในการวิจัย 13

1.6 คำนิยามเชิงปฏิบัติการที่ใช้ในการวิจัย 14

1.7 รูปแบบการวิจัย 14

1.8 วิธีดำเนินการวิจัยโดยย่อ 14

1.10 ปัญหาทางจริยธรรม 14

1.11 ข้อจำกัดในการวิจัย 15

1.12 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย 16

1.13 อุปสรรคที่อาจเกิดขึ้นและมาตรการแก้ไข 16

บทที่ 2 ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง 17

บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย 23

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

หน้า

3.1 ระเบียบวิธีการวิจัยเกณฑ์ในการคัดเลือกผู้ป่วยเข้ามาศึกษา 23

3.2 ขั้นตอนในการดำเนินการวิจัย.....24

3.3 การรวบรวมข้อมูล.....25

3.4 การวิเคราะห์ข้อมูล 25

บทที่ 4 ผลการวิจัย 26

บทที่ 5 อภิปราย สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ 30

รายการอ้างอิง 2

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์ 4

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

สารบัญตาราง

ตารางที่ 1 แสดงข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วย.....27

ตารางที่ 2 แสดงความชุกและความแตกต่างของการเกิดโพลีมอร์ฟิซึมของยีน BsmI ที่ตำแหน่ง rs 1544410 ในกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนักกับกลุ่มที่ได้รับการส่องกล้องลำไส้ใหญ่และทวารหนักพบผลปกติในประชากรไทยที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์.....28

ตารางที่ 3 แสดงผลการวิเคราะห์โดยวิธี Multivariate analysis ของปัจจัยเพศชาย ประวัติการสูบบุหรี่ และ genotype G/G ระหว่างกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนักกับกลุ่มที่ได้รับการส่องกล้องลำไส้ใหญ่และทวารหนักพบผลปกติในประชากรไทยที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ...29

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

สารบัญภาพ

ภาพที่ 1 แสดง Vitamin D pathway.....19

ภาพที่ 2 แสดงการทำงานของวิตามินดีในการควบคุมเซลล์(ดัดแปลงมาจาก Feldman D, et al.).....20

ภาพที่ 3 แสดง วิตามินดีรีเซปเตอร์ยีน บนโครโมโซมตำแหน่งคู่ที่ 12 ประกอบด้วย ตำแหน่งของยีน*BsmI,Tru9I, ApaI, TaqI และ FokI*[13].....21

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

สารบัญแผนภูมิ

แผนภูมิที่ 1แสดงกรอบแนวคิดในการวิจัย 13

แผนภูมิที่ 2 แสดงความแตกต่างของการเกิด Single nucleotide polymorphism G/G, G/A หรือ A/A ที่ตำแหน่ง rs 1544440 ของยีน BsmI ในกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนักกับกลุ่มที่ได้รับการส่องกล้องลำไส้ใหญ่และทวารหนักพบผลปกติในประชากรไทยที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ 28

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของการวิจัย

วิตามินดี เป็นปัจจัยสำคัญของระบบสมดุลแคลเซียม ฟอสเฟต และกระดูก ในปัจจุบันได้มีการศึกษาถึงบทบาทของวิตามินดีมากขึ้นในการควบคุมการทำงานของเซลล์ในร่างกายรวมทั้งเซลล์ลำไส้ใหญ่และทวารหนัก โดยมีผลต่อการแบ่งตัวของเซลล์ (proliferation) การเปลี่ยนแปลงของเซลล์ (differentiation) การตายของเซลล์ (apoptosis) และยังมีผลต่อการทำงาน ของเซลล์ภูมิคุ้มกันของร่างกายอีกด้วย (immunomodulator)[1]

ในปัจจุบันอุบัติการณ์การเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนักเพิ่มสูงขึ้นทั่วโลกรวมทั้งประเทศไทยซึ่งพบว่าเป็นสาเหตุการตายอันดับที่ 3 โดยมีรายงานทางระบาดวิทยาถึงอุบัติการณ์การเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนัก ในพื้นที่ที่ได้รับแสงแดดเฉลี่ยน้อย จะสูงกว่าพื้นที่อื่น Garland CFและคณะ[2] เก็บรวบรวมข้อมูลพบว่าในประชากรที่ขาดวิตามินดีจะพบว่ามีการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนักมากขึ้น อีกทั้งจากการศึกษาของ Gorham ED และคณะ3พบว่าระดับวิตามินดีในเลือดที่สูงอาจจะป้องกันการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนักจึงนำไปสู่การศึกษาของความหลากหลายทางพันธุกรรมที่ควบคุมการทำงานของเอนไซม์และโปรตีนต่างๆในกระบวนการทำงานของวิตามินดีต่อควบคุมการทำงานของเซลล์(Vitamin D pathway)

ร่างกายจะได้รับวิตามินดี ผ่านทางผิวหนังและดูดซึมทางลำไส้ เมื่อเข้าสู่กระแสเลือดจะจับกับโปรตีนต่างๆ เช่น Vitamin D binding protein เพื่อไปยังตับเปลี่ยนเป็น 25(OH)D โดยต้องอาศัยการเปลี่ยนแปลงจากเอนไซม์ต่างๆที่ควบคุมผ่านไซโตโครม CYP2R1 แล้วไปยังไตเปลี่ยนเป็น active vitamin D คือ 1,25$(OH)_2$D ซึ่งต้องอาศัยเอนไซม์ 1αhydroxylase ที่ควบคุมโดย CYP27B1 พร้อมทั้งมีการรักษาสมดุลโดยการสลายวิตามินดี ผ่านการควบคุมเอนไซม์ของ CYP24A1 โดย active form vitamin D จะเข้าสู่เซลล์ โดยการผ่าน vitamin D receptor ที่ควบคุมโดย vitamin D receptor gene[4] ดังแสดงในรูปที่ 1

เมื่อมีความแตกต่างของการแสดงออกของยีน ที่เกิดจากพอลีมอร์ฟิซึม จึงส่งผลต่อการทำงานของวิตามินดี (bioactivity) ในการควบคุมการทำงานและแบ่งตัวของเซลล์ รวมถึงในเซลล์บริเวณลำไส้ใหญ่และทวารหนักที่ผิดปกติไปด้วย จึงนำไปสู่การศึกษาพอลีมอร์ฟิซึม บนกระบวนการทำงานของวิตามินดี กับความเสี่ยงของการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนัก

1.2 คำถามของการวิจัย

คำถามหลัก (Primary Question)

สัดส่วนของพอลีมอร์ฟิซึมในตำแหน่งบีเอสเอ็มวันของวิตามินดีรีเซปเตอร์ยีนในผู้ที่เป็นมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนัก เทียบกับ ผู้ที่ไม่เป็นมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนักจากการส่องกล้องลำไส้ใหญ่เป็นเท่าไหร่

1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

วัตถุประสงค์หลัก

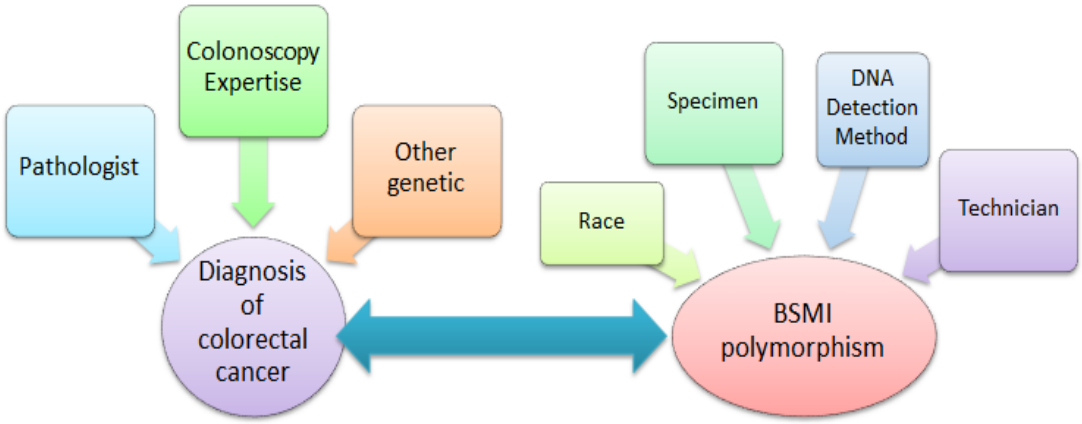
เพื่อศึกษาสัดส่วนของพอลีมอร์ฟิซึมในตำแหน่งบีเอสเอ็มวันของวิตามินดีรีเซปเตอร์ยีนในผู้ที่เป็นมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนัก เทียบกับ ผู้ที่ไม่เป็นมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนักจากการส่องกล้องลำไส้ใหญ่

1.4 สมมุติฐาน

การเกิดพอลีมอร์ฟิซึมของตำแหน่งยีนบีเอสเอ็มวันของวิตามินดีรีเซปเตอร์ในผู้ที่เป็นมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนัก พบเป็นสัดส่วนที่สูงมากกว่าผู้ที่ไม่เป็นมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนักจากการส่องกล้องลำไส้ใหญ่

1.5 กรอบแนวความคิดในการวิจัย

แผนภูมิที่ 1แสดงกรอบแนวคิดในการวิจัย



1.6 คำนิยามเชิงปฏิบัติการที่ใช้ในการวิจัย

- Single nucleotide polymorphism (SNP) คือ ความแปรผันทางพันธุกรรมในมนุษย์ประเภทหนึ่ง โดยเป็นความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์เบสเพียง 1 ตำแหน่ง
- *BsmI* gene polymorphism คือ การตรวจพบการแปรผันทางพันธุกรรมของนิวคลีโอไทด์เบส 1 ตำแหน่งของ *BsmI* จาก Guanine เป็น Alanine (A60890G) ที่อยู่บนยีนวิตามินดีรีเซปเตอร์ในโครโมโซมคู่ที่ 12 โดยใช้วิธีการตรวจ Restriction fragment length polymorphism
- ผู้ที่ไม่เป็นมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนักจากการส่องกล้องลำไส้ใหญ่ คือ ผู้ที่ตรวจไม่พบความผิดปกติประเภทก้อนหรือติ่งเนื้อของผนังลำไส้ใหญ่จากการตรวจส่องกล้องลำไส้ใหญ่ตั้งแต่ส่วนต้นซีกัม (caecum) ถึง ทวารหนัก (anus) จำนวน 1 ครั้ง ตามวิธีมาตรฐาน
- ผู้ที่ได้รับการวินิจฉัยเป็นมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนัก คือ ผู้ป่วยได้รับการส่งตรวจชิ้นเนื้อทางพยาธิวิทยาวินิจฉัยเป็นมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนัก โดยชิ้นเนื้ออาจได้มาจากการผ่าตัดลำไส้หรือการส่องกล้องตัดชิ้นเนื้อก็ตาม

1.7 รูปแบบการวิจัย

Descriptive study

1.8 วิธีดำเนินการวิจัยโดยย่อ

เก็บข้อมูลพื้นฐานต่างๆของผู้ป่วย บันทึกข้อมูลลงในแบบบันทึกข้อมูล (Case record form) และลงข้อมูลไว้ในคอมพิวเตอร์ บันทึกข้อมูลทั้งในส่วนข้อมูลพื้นฐาน เช่น อายุ เพศ น้ำหนัก ส่วนสูง โรคประจำตัว ประวัติการดื่มเหล้า ประวัติการสูบบุหรี่ ประวัติโรคมะเร็งในครอบครัว

1.9 การวิเคราะห์ข้อมูล

การวิเคราะห์ข้อมูลในส่วนของข้อมูลเชิงคุณภาพ (Qualitative or categorical data) เป็นจำนวน (Frequency), ร้อยละ (Percentage) และข้อมูลเชิงปริมาณ (Quantitative data) นำเสนอเป็น ค่าเฉลี่ย (mean) ค่ามัธยฐาน (median) และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard deviation: SD)

1.10 ปัญหาทางจริยธรรม

ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัยเพื่อให้เป็นไปตามหลักจริยธรรมพื้นฐาน 3 ข้อของ The Belmont Report อันประกอบด้วย หลักการเคารพในบุคคล หลักผลประโยชน์ และหลักยุติธรรม) ดังนี้คือ

หลักการเคารพในบุคคล (Respect for person)

1. อาสาสมัครทุกคนจะได้รับการอธิบายรายละเอียดของโครงการ วัตถุประสงค์ วิธีการดำเนินการวิจัย และข้อมูลที่ครบถ้วน จนเข้าใจเป็นอย่างดี สามารถตัดสินใจให้ความยินยอมเข้าร่วมการวิจัย อย่างอิสระ ภายในสถานที่ที่มีความเป็นส่วนตัว

2. อาสาสมัครสามารถซักถามรายละเอียดโครงการวิจัยทั้งหมด ก่อนตัดสินใจ

3. ผู้ที่สมัครใจเข้าร่วมโครงการวิจัย จะได้รับการลงนามในใบรับทราบและยินยอมเข้าร่วมโครงการเป็นลายลักษณ์อักษร (inform consent) ทุกคน

4. อาสาสมัครมีสิทธิ์ที่จะบอกเลิกการเข้าร่วมโครงการวิจัยเมื่อใดก็ได้โดยไม่มีเงื่อนไข และจะไม่มีผลต่อการดูแลรักษาต่อไปของอาสาสมัคร

หลักผลประโยชน์ (Beneficence and non-maleficence)

1. การศึกษานี้จะมีการเก็บตัวอย่างเลือดปริมาณ 5 มิลลิลิตรหรือเท่ากับ 1 ช้อนชา ซึ่งจะต้องมีการขอความยินยอมจากผู้ป่วยและลงลายมือชื่อยินยอมล่วงหน้าทุกครั้ง โดยให้ข้อมูลการวิจัย ขั้นตอนการเจาะเลือด ปริมาณเลือดที่เก็บเพื่อนำเลือดไปตรวจในการส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการ โดยจะทำไปพร้อมกับการเปิดเส้นเลือดดำ เพื่อบริหารยานอนหลับให้แก่ผู้ป่วยก่อนทำการส่องกล้องลำไส้ใหญ่ทุกราย

2. ในแบบบันทึกข้อมูลจะไม่มีข้อมูลที่ชี้ตัวตนของผู้เข้าร่วมโครงการได้ และเอกสารเหล่านี้จะเก็บไว้ในตู้ใส่กุญแจ

3. ข้อมูลต่างๆ ที่ได้รับและบ่งบอกถึงตัวผู้เข้าร่วมโครงการวิจัย ถือเป็นความลับห้ามเปิดเผย จะเปิดเผยได้เฉพาะกรณีได้รับความยินยอมจากผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยเท่านั้น จะไม่มีการเก็บข้อมูลใดๆ ของผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยเพิ่มเติมหลังจากที่ผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยยกเลิกการเข้าร่วมโครงการ ผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยมีสิทธิ์ที่จะตรวจสอบหรือแก้ไขข้อมูลส่วนตัวและสามารถยกเลิกการให้สิทธิ์ในการใช้ข้อมูลส่วนตัวของผู้ป่วยได้

4. ในกรณีที่มีปัญหาจากผลของการดำเนินการตามโครงการวิจัย อาสาสมัครสามารถติดต่อแพทย์ผู้ทำการวิจัยได้โดยตรง

5. องค์ความรู้ที่ได้จากงานวิจัยนี้จะให้ข้อมูลที่อาจจะเป็นประโยชน์ต่อทราบความเสี่ยงทาง

1.11 ข้อจำกัดในการวิจัย

จำนวนผู้ป่วยที่ได้รับการส่องกล้องใหม่ที่มีผลวินิจฉัยเป็นมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนักอาจไม่เพียงพอ จึงต้องขอความยินยอมจากผู้ป่วยที่ได้รับการตรวจและรักษาโรคมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนักที่ผู้ป่วยนอกร่วมด้วย

จากฐานข้อมูลของ SNPs ของยีนแต่ละตำแหน่งในโรคต่างๆ มีความแตกต่างกันในแต่ละเชื้อชาติ และข้อมูลยังมีจำกัด จึงอาจต้องมีจำนวนผู้ป่วยมากเพียงพอที่จะแสดงให้เห็นความสัมพันธ์กับตัวโรคได้

1.12 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย

การศึกษาความแตกต่างของพอลิมอฟิซึมของยีนบีเอสเอ็มวัน ในวิตามินดีรีเซปเตอร์ ทำให้ทราบความสัมพันธ์กับความเสี่ยงการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนักและอาจจะนำไปสู่การใช้เพื่อทำนายและส่งเสริมการคัดกรองกลุ่มเสี่ยงในอนาคต

1.13 อุปสรรคที่อาจเกิดขึ้นและมาตรการแก้ไข

ปัญหาเรื่องการเก็บดูแลเลือดและการเจาะเลือด โดยให้มีเจ้าหน้าที่พยาบาลผู้เชี่ยวชาญ และมีเจ้าหน้าที่ทางห้องปฏิบัติการพร้อมดูแลโดยตรง

-อาการเจ็บบริเวณที่เจาะเลือด

-อาการเลือดออกบริเวณที่เจาะเลือด

หากพบอันตรายที่เกิดขึ้นจากการวิจัยผู้เข้าร่วมงานวิจัยจะได้รับการรักษาอย่างเหมาะสมทันที ผู้ทำวิจัย/ผู้สนับสนุนการวิจัยยินดีจะรับผิดชอบค่าใช้จ่ายในการรักษาพยาบาลของท่าน และการลงนามในเอกสารให้ความยินยอม ไม่ได้หมายความว่าท่านได้สละสิทธิ์ทางกฎหมายตามปกติที่ผู้เข้าร่วมงานวิจัยพึงมี

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 2
ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

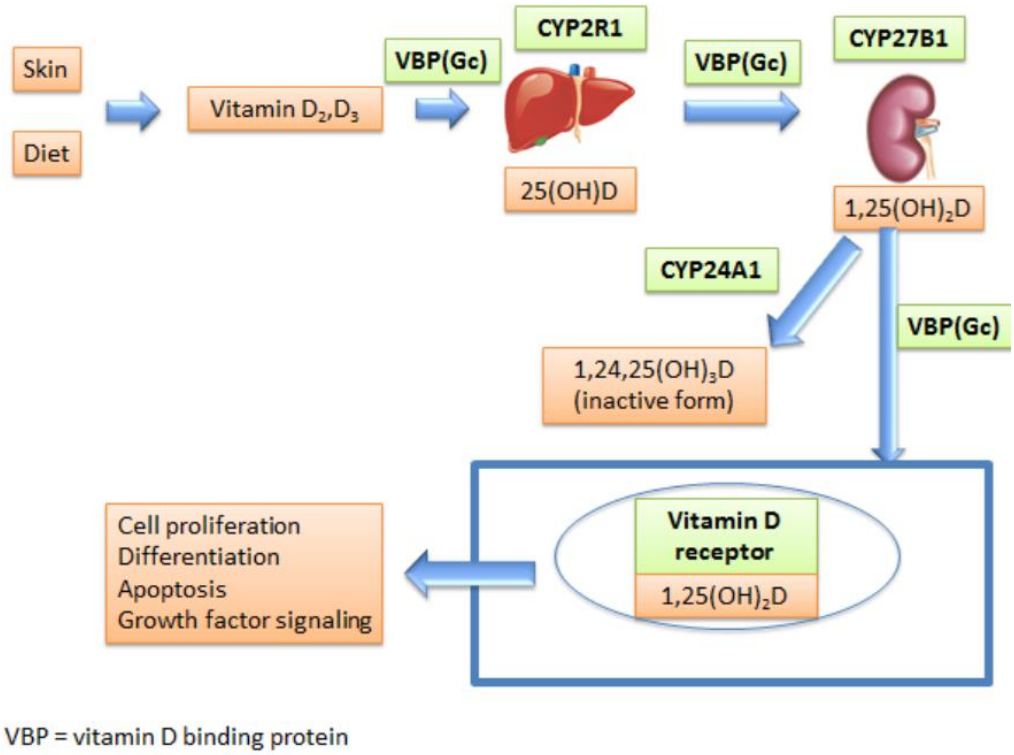
ในปัจจุบันพบว่ามะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนัก (Colorectal cancer) เป็นมะเร็งที่พบมากที่สุดของระบบทางเดินอาหาร โดยในปี ค.ศ. 2008 ผู้ป่วยมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนักรายใหม่ทั่วโลกมีมากกว่า 1.2 ล้านคน และมีอัตราการตายประมาณ 6 แสนราย ส่วนในแถบเอเชียพบมีอุบัติการณ์ที่เพิ่มสูงขึ้นได้แก่ จีน ญี่ปุ่น เกาหลี เป็นมะเร็งอันดับ 3 ทั้งในเพศชาย และเพศหญิง และมีแนวโน้มที่จะพบเพิ่มสูงขึ้นตามอายุ โดยในประเทศไทยพบเป็นสาเหตุของมะเร็งเป็นอันดับ 3 ในเพศชายและอันดับที่ 5 ในเพศหญิง ในปีค.ศ. 2005 อัตราการเกิดมะเร็งลำไส้ประมาณ 12.9 คนต่อประชากร 1 แสนคนในเพศชาย และ 9.2 คนต่อประชากร 1 แสนคนในเพศหญิง

ปัจจัยเสี่ยงที่ส่งผลต่อการเกิดโรคมะเร็งลำไส้ใหญ่นั้นมีหลากหลายปัจจัย ทั้งที่ปรับเปลี่ยนไม่ได้(Non-modifiable) และปรับเปลี่ยนได้ (Modifiable) โดยปัจจัยที่ไม่สามารถปรับเปลี่ยนได้ คือ ประวัติทางพันธุกรรม และการเป็นมะเร็งลำไส้ใหญ่ของคนญาติชั้นที่หนึ่ง (First degree relative) ของบิดา มารดาและพี่น้องสายตรง ประวัติการเจ็บป่วยของโรคในกลุ่มอาการอักเสบเรื้อรังของลำไส้ (Inflammatory Bowel Disease) และปัจจัยทางที่สามารถปรับเปลี่ยนได้ หรือปัจจัยทางสภาวะแวดล้อม ได้แก่ การเคลื่อนไหวออกแรง (Physical activity) การออกกำลังกาย ภาวะอ้วน การดื่มแอลกอฮอล์ การสูบบุหรี่ และอาหารซึ่งมีทั้ง เนื้อแดง วิตามินต่างๆรวมถึงภาวะขาดวิตามินดี ในปัจจุบันจึงได้มีการตรวจคัดกรองมะเร็งลำไส้ใหญ่ในกลุ่มผู้ที่มีปัจจัยเสี่ยง เพื่อตรวจหาติ่งเนื้อในลำไส้ใหญ่ก่อนการเป็นมะเร็งและวินิจฉัยเพื่อให้การรักษาโรคมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนักตั้งแต่ระยะเริ่มแรก ซึ่งพบว่าสามารถลดอุบัติการณ์การเกิดโรคและอัตราการตายที่เกิดจากมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนักได้

วิตามินดี เป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนัก จากการที่มีรายงานทางระบาดวิทยาพบว่าผู้ที่เป็นมะเร็งลำไส้มีภาวะขาดวิตามินดี สูงเกือบร้อยละ 90 ซึ่งพบสูงมากกว่าประชากรทั่วไป[5] และจากข้อมูลการศึกษาพบว่าผู้ที่รับประทานวิตามินดี ไม่ว่าจากอาหารหรืออาหารเสริมในปริมาณที่สูงจะมีอุบัติการณ์การเกิดมะเร็งลำไส้น้อยกว่าผู้ที่รับประทานวิตามินดีน้อย[6] หน้าที่หลักของวิตามินดี ที่มีผลต่อร่างกายนอกจากจะเป็นตัวควบคุมภาวะสมดุลแคลเซียม ฟอสเฟตและกระดูก แล้วในปัจจุบันพบว่าวิตามินดี มีบทบาทที่เป็นฮอร์โมนในร่างกายโดยมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงต่างๆในระดับเซลล์ ฮอร์โมนนี้ควบคุมการทำงานของตัวเซลล์ที่สามารถสร้างactive formของวิตามินดีเอง และหลั่งเพื่อควบคุมเซลล์รอบข้าง (autocrine/paracrine) การทำงานในลักษณะนี้เกิดขึ้นกับเซลล์หลายชนิดในร่างกายรวมถึงเซลล์บริเวณลำไส้ใหญ่และทวารหนักด้วย การควบคุมเซลล์ผ่าน

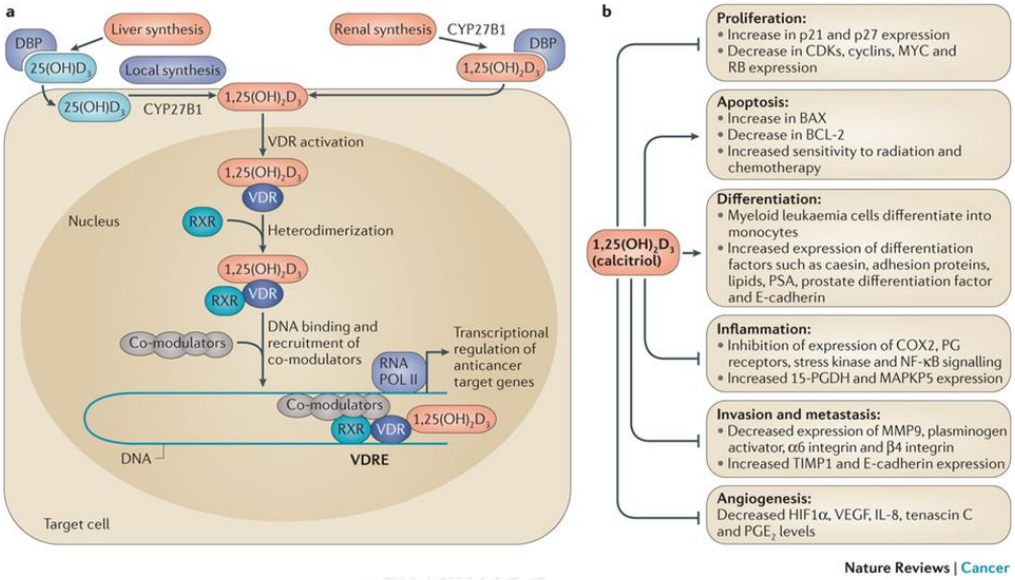
วิตามินดีนั้น มีผลควบคุมทั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์ (proliferation) การเปลี่ยนแปลงของเซลล์ (differentiation) การตายของเซลล์ (apoptosis) การเจริญเติบโตของเซลล์ (growth factor signaling) การสร้างหลอดเลือดใหม่(angiogenesis) และมีผลต่อการทำงานของเซลล์ภูมิคุ้มกันของร่างกาย (immunomodulator)[4]

วิตามินดีควบคุมการทำงานของเซลล์ต่างๆในร่างกาย โดยร่างกายจะได้รับวิตามินดีจาก 2 แหล่ง คือ แสงแดดยูวีผ่านทางผิวหนัง และ การดูดซึมจากอาหารผ่านทางลำไส้ หลังจากนั้นจะต้องมีการเปลี่ยนแปลงผ่านกระบวนการเมแทบอลิซึมของร่างกายโดยอาศัยเอนไซม์ต่างๆหลายขั้นตอน เพื่อให้ได้วิตามินดีที่สามารถออกฤทธิ์ต่อเซลล์ได้ (Active form) โดยวิตามินดีที่ร่างกายได้รับทางแสงแดดยูวีจะเปลี่ยน 7-dehydrocholesterol เป็น vitamin D3 และเมื่อมีการดูดซึมผ่านทางลำไส้ทำให้ได้ vitamin D_2 จะถูกนำพาไปยังเซลล์ต่างๆรวมทั้งที่ตับโดยการจับกับโปรตีนต่างๆ (Vitamin D-binding protein) เมื่อวิตามินดีไปที่ตับจะต้องอาศัยการทำงานของเอนไซม์ vitamin D-25-hydroxylase ซึ่งเอนไซม์นี้จะถูกควบคุมโดยกลุ่มของโปรตีนที่เรียกว่า cytochrome ชนิด CYP2R1 เป็นหลัก เพื่อเปลี่ยนเป็น 25-hydroxyvitamin D (25(OH)D) เข้าสู่กระแสเลือดไปยังไต ผ่านการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างโดยเอนไซม์ 1α-hydroxylase ที่ถูกควบคุมโดย CYP27B17 ทำให้ได้ 1,25$(OH)_2$D ซึ่งเป็นตัวออกฤทธิ์ของวิตามินดี (active form) ควบคุมการทำงานที่เซลล์ต่างๆตามที่กล่าวข้างต้น ในการที่วิตามินดี จะไปออกฤทธิ์ควบคุมเซลล์นั้น จะต้องอาศัยการจับกับโปรตีนในกระแสเลือด ได้แก่ แอลบูมิน alpha1-globulin และ vitamin D binding protein เป็นตัวนำพา ซึ่งการทำงานของ vitamin D binding protein จะถูกควบคุมโดย Gc gene (group-specific component) เมื่อไปเซลล์นั้นๆ วิตามินดี จะถูกนำเข้าสู่เซลล์โดยจับกับ vitamin D receptor ซึ่งอยู่ในกลุ่มของ steroid superfamily of nuclear receptors ทำงานอยู่ภายในเซลล์นำพาวิตามินดีไปจับกับ retinoid-X-receptor(RXR) แล้วเข้าสู่ภายในนิวเคลียสไปจับกับดีเอ็นเอส่วนที่เป็น vitamin D response elements เกิดเป็นส่วนประกอบของ DNA-bound 1,25(OH)2D-VDR-RXR ซึ่งทำหน้าที่ควบคุมการแสดงออกของพันธุกรรมตำแหน่งนั้นๆโดยสร้างโปรตีนที่ทำหน้าที่ในการควบคุมการทำงานของเซลล์ ทั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์ (proliferation) การเปลี่ยนแปลงของเซลล์ (differentiation) การตายของเซลล์ (apoptosis) การเจริญเติบโตของเซลล์ (growth factor signaling) การสร้างหลอดเลือดใหม่ (angiogenesis) และมีผลต่อการทำงานของเซลล์ภูมิคุ้มกันของร่างกาย (immunomodulator)[4] และร่างกายยังมี กระบวนการรักษาสมดุลของวิตามินดี โดยทำหน้าที่ในการสลาย active vitamin D[8] ผ่านการควบคุมการทำงานของ CYP24A1 ที่มีผลต่อเอนไซม์ 24-hydroxylase (24(OH)ase) ดังแสดงในภาพที่ 1



ภาพที่ 1 แสดง Vitamin D pathway

เมื่อร่างกายเกิดความผิดปกติในกระบวนการเมแทบอลิซึมของวิตามินดี ในตำแหน่งใดก็ตาม จะส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของวิตามินดี ไปเป็น active form หรือการออกฤทธิ์ควบคุมเซลล์ของวิตามินดีที่ผิดปกติไป โดยปกติวิตามินดี (Calciferol)มีกลไกการเพิ่มจำนวนเซลล์(Proliferation)โดยการเพิ่มการแสดงออกของยีน P21 และ P27 และลดแสดงออกของยีนที่ใช้ควบคุม ได้แก่ cyclin MYC เป็นต้น การตายของเซลล์ แบบ apoptosis โดยผ่านการควบคุมการแสดงออกของยีน BAXและ BCl-2 การเปลี่ยนแปลงของเซลล์ (Differentiation) โดยการเพิ่มการแสดงออกของปัจจัยควบคุมที่เรียกว่า Differentiation factors ได้แก่ Caesin, Adhesion protein และ E-Cadherin รวมไปถึงการควบคุมการสร้างเส้นเลือดใหม่ (Angiogenesis) ด้วย โดยการทำงานที่ผิดปกติไปของเซลล์ในอวัยวะต่างๆ ที่ผ่านการควบคุมปัจจัยต่างๆจากวิตามินดี จะก่อให้เกิดเป็นมะเร็งได้ เช่น มะเร็งเต้านม มะเร็งต่อมลูกหมาก และ มะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนัก ดังแสดงในภาพที่ 2



ภาพที่ 2 แสดงการทำงานของวิตามินดีในการควบคุมเซลล์(ดัดแปลงมาจาก Feldman D, et al.)

จากการทบทวนวรรณกรรม พบว่าระดับวิตามินดี แปรผกผันกับ ความเสี่ยงการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนัก1 โดยมีหลายๆการศึกษาก่อนหน้านี้ พบว่าการขาดวิตามินดีเป็นปัจจัยที่ส่งผลถึงการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่ และทวารหนักมากขึ้น[2, 9, 10] อีกทั้งพบว่าระดับวิตามินดีในเลือดที่สูงอาจจะป้องกันการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนักได้3 โดยระดับวิตามินดี ที่สูงกว่า 30 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร จะพบมีอัตราการตายโดยรวมที่ลดลง[11] และระดับของ 25-hydroxyvitamin D (25(OH)D) ในเลือดสูงที่สูงขึ้นทุก 10 นาโนโมลต่อลิตร ความเสี่ยงของมะเร็งลำไส้จะลดลงร้อยละ6[10]

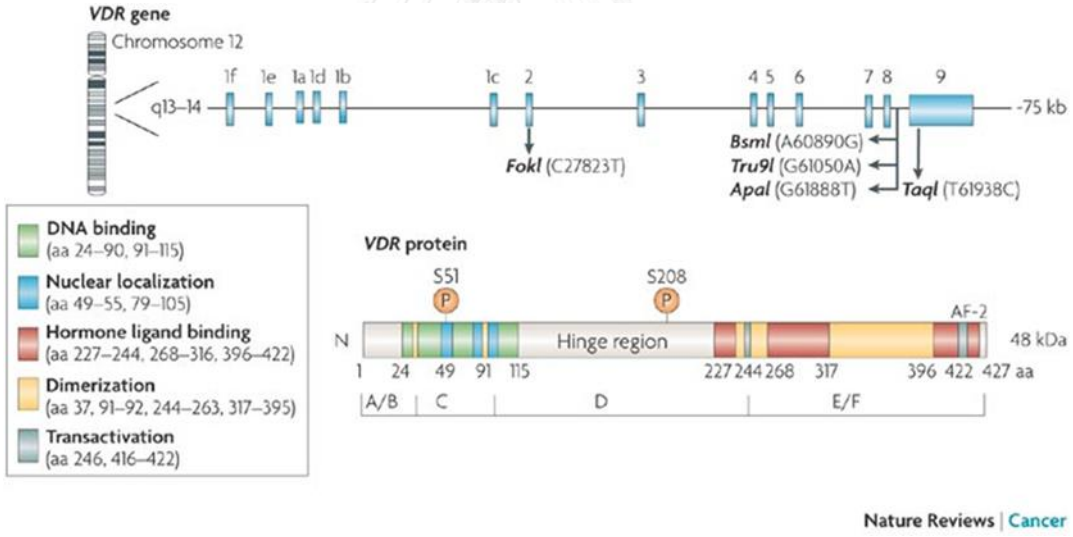
จาก Cochrane review รวบรวมข้อมูลการศึกษาวิตามินดี กับอัตราการตายพบว่าวิตามินดีมีผลลดอัตราการตายจากมะเร็งอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ RR=0.88, (95% CI 0.78 to 0.98)[12] โดยการศึกษาทางโมเลกุล พบว่าในภาวะปกติกระบวนการทำงานของวิตามินดีจะออกฤทธิ์ผ่าน vitamin D receptor (VDR) ส่งผลให้ยับยั้งการเกิดมะเร็ง โดยควบคุมการเพิ่มจำนวนของเซลล์ การเปลี่ยนแปลงรูปแบบเซลล์ การตายของเซลล์แบบ apoptosis การเกิดการอักเสบ และการเพิ่มการสร้างเส้นเลือด ผ่าน calcitriol-mediated anticancer action เช่น cyclins, cycloxygenase 2, IL-8 เป็นต้น[13] อีกทั้งยังมีการศึกษา พบว่า การขาดวิตามินดี และการแสดงออกที่ลดลงของพันธุกรรมในตำแหน่ง CYP27B1[14, 15] และ vitamin D receptor[16] มีผลเพิ่มความเสี่ยงในการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่จากการที่มีการสร้าง mRNA และการตอบสนอง ของภูมิต้านทาน (immunoreactivity)ลดลง

จากข้อมูลของ Genome-wide association studies (GWAS) ศึกษาตำแหน่งของพอลีมอร์ฟิซึม (single nucleotide polymorphisms) ของยีนตำแหน่งต่างๆ ที่เกี่ยวข้องในกระบวนการเมแทบอลิซึมของวิตามินดี ได้แก่ CYP2R1, CYP27B1, CYP24A1, vitamin D binding protein,

vitamin D receptor โดยแสดงให้เห็นตำแหน่งที่ส่งผลทำให้ร่างกายมีระดับวิตามินดีต่ำ17 ซึ่งตัวหลักที่มีผลต่อการทำงานของวิตามินดี ในเซลล์ต่างๆ (Bioactivity) นั้นขึ้นกับ vitamin D receptor gene เช่น Bsml, Cdx-2, Foxl, Apal, Taql จึงนำไปสู่การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม ในกระบวนการเมแทบอลิซึมของวิตามินดี กับความเสี่ยงของการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนัก

Vitamin D receptor อยู่ในกลุ่มของ steroid superfamily of nuclear receptors เป็นตัวหลัก ในการควบคุมการออกฤทธิ์ของ 1, 25-dihydroxyvitamin D โดยถูกสร้างจากยีนบนโครโมโซมคู่ที่ 12 วิตามินดีรีเซปเตอร์ยีนขนาดประมาณ 100 kb ประกอบไปด้วย 6 promoter regions หรือ 6 untranslated exons คือ ตำแหน่ง 1a-1f และ protein-encoding exons จำนวน 8 exons คือ Exon 2-9

มีการค้นพบโพลีมอฟิซึมของวิตามินดีรีเซปเตอร์ยีนในคนมากถึง 470 ตำแหน่งแต่เนื่องจากส่วนใหญ่จะมีพบในปริมาณที่น้อยในประชากร (Low allele frequency) จึงมีการศึกษาในตำแหน่งที่พบได้บ่อย ซึ่งการศึกษาของตำแหน่งหลักต่างๆบนยีนนี้ ได้แก่ *Fok*I, *Bsm*I, *Apa*I, *Taq*I และ Cdx2 เป็นต้น ดังแสดงในภาพที่ 3



ภาพที่ 3 แสดง วิตามินดีรีเซปเตอร์ยีน บนโครโมโซมตำแหน่งคู่ที่ 12 ประกอบด้วย ตำแหน่งของยีน *BsmI,TruI9I, ApaI, TaqI และ FokI*[13]

บีเอสเอ็มวันพอลีมอฟิซึม (*BsmI*) หรือ rs1544410 อยู่ในตำแหน่งใกล้ 3’ region ซึ่งจะเป็นตำแหน่งที่ประกอบด้วย Guanine(G)(b) แต่จะถูกแทนที่ด้วย Alanine(A) โดยยีนจะไปมีผลต่อ poly(A) microsatellite repeat ของ 3’untranslated region (3’UTR) ซึ่งเป็นตำแหน่งที่ควบคุมการแสดงออกของยีนภายหลังการtranscriptionของ mRNA

จากการศึกษาของ Rasool และคณะ[18] ได้ศึกษา Vitamin D receptor ตำแหน่ง *BsmI* และ *ApaI* กับ ความเสี่ยงของการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนัก ในกลุ่มประชากร Kashmir จำนวน 368 ราย พบว่า homozygous “b” มีความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนัก 2.7 เท่า เมื่อเทียบกับ homozygous “B” ของ *BsmI* gene อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (95% CI 1.49-4.86) และ genotype “aa” ของ *ApaI* มีแนวโน้มเพิ่มความเสี่ยงเป็น 2 เท่า เมื่อเทียบกับ “AA” (95% CI 0.86 - 4.7)

Mahmoudi และคณะ[23] ศึกษาในผู้ป่วยมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนัก 452 รายและคนปกติ 452 ราย จากการวิเคราะห์ข้อมูลพบความสัมพันธ์ของพอลิมอร์ฟิซึมในตำแหน่ง *BsmI* กับมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนัก โดยประชากรส่วนใหญ่ของทั้งสองกลุ่มเป็น genotype G/A และมีแนวโน้มสัมพันธ์โดย OR= 1.15, 95% CI 0.79-1.66

ส่วนการศึกษาของตำแหน่ง *FokI* polymorphism ของ Slattery และคณะพบว่า “ff” genotype เพิ่มความเสี่ยงการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่ในคนอ้วน (OR= 2.62, 95%CI 1.15-5.99)[19] ซึ่งเป็นไปใน แนวทางเดียวกับการศึกษา ของ Wong และคณะ[20] ทำในประเทศสิงคโปร์ พบว่าเพิ่มความเสี่ยง ในการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่ 2.5 เท่า

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 ระเบียบวิธีการวิจัยเกณฑ์ในการคัดเลือกผู้ป่วยเข้ามาศึกษา

- ผู้ที่ไม่เป็นมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนักจากการส่องกล้องลำไส้ใหญ่
- ผู้ป่วยที่วินิจฉัยเป็นมะเร็งลำไส้ใหญ่หรือทวารหนัก จากผลชิ้นเนื้อทางพยาธิวิทยา

เกณฑ์ในการคัดเลือกผู้ป่วยออกจากการศึกษา (Exclusion criteria)

-ผู้ป่วยที่มีประวัติมะเร็งลำไส้ใหญ่ชนิดถ่ายทอดทางพันธุกรรม (Familial Adenomatous Polyposis)

-ผู้ป่วยที่มีประวัติเป็นโรคลำไส้อักเสบเรื้อรัง (Inflammatory Bowel Disease)

วิธีการสุ่มตัวอย่าง

เก็บรวบรวมผู้ป่วยที่ได้ รับการวินิจฉัยเป็นมะเร็งลำไส้ใหญ่หรือทวารหนักโดยมีผลทางพยาธิวิทยายืนยัน เพื่อให้ได้จำนวนผู้ป่วยเพียงพอกับขนาดประชากรที่ต้องการ

การคำนวณขนาดประชากร

Mahmoudi และคณะ[23] ศึกษาในผู้ป่วยมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนัก 452 รายและคนปกติ 452 ราย จากการวิเคราะห์ข้อมูลพบความสัมพันธ์ของพอลิมอร์ฟิซึมในตำแหน่ง *BsmI* กับมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนัก โดยประชากรส่วนใหญ่ของทั้งสองกลุ่มเป็น genotype G/A และมีแนวโน้มสัมพันธ์โดย OR= 1.15, 95% CI 0.79-1.66

$$\text{จำนวนตัวอย่างในแต่ละกลุ่ม} = \frac{[Z_{\alpha/2}\sqrt{2P(1-P)} + Z_{\beta}\sqrt{p1(1-p1)+p2(1-p2)}]^2}{(p1-p2)^2}$$

P_1คือ เปอร์เซ็นต์ของการเกิด SNP ของยีน *BsmI* ที่ตำแหน่ง rs 1544410 (G/A genotype) ในผู้ป่วยที่เป็นมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนัก = 0.524

P_2 เปอร์เซ็นต์ของการเกิด SNP ของยีน *BsmI* ที่ตำแหน่ง rs 1544410 (G/A genotype) ในคนปกติ = 0.496

โดย $\alpha = 0.05 \rightarrow Z_{\alpha/2} = 1.96$, $\beta = 0.1 \rightarrow Z\beta = 0.9$

N/ group = 182

3.2 ขั้นตอนในการดำเนินการวิจัย

1. ขอใบรับรองจริยธรรม จากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัย คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2. ขออนุญาตทำวิจัยในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทย จากผู้อำนวยการโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

3. ขอความร่วมมือจากผู้สนใจเข้าร่วมวิจัยจากห้องส่องกล้องทางเดินอาหาร หน่วยทางเดินอาหารและตับและผู้ป่วยนอกคลินิกอายุรกรรมมะเร็ง แผนกอายุรกรรม โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

4. กำหนดจำนวนตัวอย่างไว้ก่อน (Quota sampling) โดยใช้ระยะเวลาการรวบรวมอาสาสมัครประมาณ 12 เดือน การคัดเลือกอาสาสมัครเพื่อเข้าร่วมโครงการวิจัยตามเกณฑ์การคัดเลือกอาสาสมัครเข้าร่วมโครงการ และเกณฑ์การแยกอาสาสมัครออกจากโครงการ ดำเนินการจนกว่าจะได้อาสาสมัครครบตามจำนวนที่กำหนดไว้

5. อาสาสมัครทุกท่านจะได้รับข้อมูลคำอธิบายรายละเอียดของงานวิจัย ได้แก่ที่มาของการวิจัย วัตถุประสงค์ ขั้นตอนการดำเนินการวิจัย ความเสี่ยงและประโยชน์ที่ได้รับ เปิดโอกาสให้ซักถามตอบข้อสงสัยจนอาสาสมัครเข้าใจ และให้เวลาตัดสินใจโดยอิสระ ก่อนลงนามให้ความยินยอมเข้าร่วมในการวิจัยซักประวัติตรวจร่างกายตามแบบบันทึกข้อมูล โดยการเก็บรวบรวมข้อมูลต่างๆ จะเป็นความลับและนำเผยแพร่เฉพาะในส่วนที่เป็นผลสรุปของการวิจัย

6. ขอความยินยอมการเข้าร่วมทาการวิจัยจากผู้เข้าร่วมการวิจัย โดยให้มีการเซ็นยินยอมเป็นลายลักษณ์อักษรในหนังสือแสดงความยินยอมการเข้าร่วมในโครงการวิจัย (Consent form เอกสารแนบท้าย)

7. ข้อมูลทางระบาดวิทยา ได้แก่ อายุ เพศ เชื้อชาติ โรคประจำตัว ประวัติโรคมะเร็งในครอบครัว ประวัติสูบบุหรี่ ดื่มสุรา น้ำหนัก ส่วนสูง

8. ขอเจาะเลือดผู้ป่วย 1 ครั้ง และแยกเลือดจำนวน 5 มิลลิลิตรหรือเท่ากับ 1 ช้อนชา ใส่ใน EDTA tube จากผู้ที่มาส่องกล้องทางเดินอาหารลำไส้ใหญ่ แล้วผลปกติ และ ผู้ที่วินิจฉัยเป็นมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนัก

9. นักปฏิบัติการเก็บเลือดทุกวันเพื่อตรวจในห้องปฏิบัติการภายใน 24 ชั่วโมง

ขั้นตอนทางห้องปฏิบัติการ

1. Genomic DNA จะถูกสกัดจากเลือดโดยนำ mononuclear cells ที่ปั่นแยกปริมาณ 100 ไมโครลิตร ใช้สาร proteinase K หลังจากนั้นสกัด DNA โดย phenol/chloroform extraction ตามวิธีมาตรฐาน และถูกนำมาละลายในน้ำปราศจากเชื้อ (sterile water) ปริมาณ 50 มิลลิลิตร และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20°C

2. PCR จากส่วนของ SNPs จากนั้นแยก DNA จาก Acrylamide gel

3. Genotyping หรือ Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) เพื่อตรวจ Haplotype ของแต่ละตำแหน่ง โดยการใช้ restriction endonucleases จาก New England Biolabs, Hitchin, UK.

4. ส่วนของ DNA ที่ต้องการจะอยู่บน 2% agarose gel electrophoresis ซึ่งอ่านผลผ่านแสงยูวี หลังจากการย้อมด้วยสาร ethidium bromide

3.3 การรวบรวมข้อมูล

- สถานที่เก็บข้อมูล: โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์
- ผู้เก็บข้อมูล:แพทย์หญิง ประพิมพรรณ อำพันทรัพย์
- ผู้บันทึกข้อมูล:แพทย์หญิง ประพิมพรรณ อำพันทรัพย์

3.4 การวิเคราะห์ข้อมูล

เก็บข้อมูลพื้นฐานต่างๆของผู้ป่วย บันทึกข้อมูลลงในแบบบันทึกข้อมูล (Case record form) และลงข้อมูลไว้ในคอมพิวเตอร์ บันทึกข้อมูลทั้งในส่วนข้อมูลพื้นฐาน เช่น อายุ เพศ น้ำหนัก ส่วนสูง โรคประจำตัว ประวัติการดื่มเหล้า ประวัติการสูบบุหรี่ ประวัติโรคมะเร็งในครอบครัว

การวิเคราะห์ข้อมูลในส่วนของข้อมูลเชิงคุณภาพ (Qualitative or categorical data) เป็นจำนวน (Frequency), ร้อยละ (Percentage) และข้อมูลเชิงปริมาณ (Quantitative data) นำเสนอเป็น ค่าเฉลี่ย (mean) ค่ามัธยฐาน (median) และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard deviation: SD)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 4
ผลการวิจัย

การศึกษานี้ได้ศึกษาสัดส่วนของการเกิด single nucleotide polymorphism ที่ตำแหน่งของยีน *BsmI* (rs1544410) ซึ่งอยู่บนยีน vitamin D receptor บนโครโมโซมคู่ที่ 12 ในประชากรไทยระหว่างสองกลุ่มศึกษาคือกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนักกับกลุ่มที่ได้รับการส่องกล้องลำไส้ใหญ่และทวารหนักพบผลปกติในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ช่วงเวลาตั้งแต่วันที่ 1 พฤษภาคม พ.ศ. 2558 ถึง 30กันยายน พ.ศ. 2558 มีจำนวนผู้เข้าร่วมวิจัยทั้งสิ้น 364 ราย โดยเป็นผู้ที่ได้รับการวินิจฉัยเป็นมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนักจากผลชิ้นเนื้อทางพยาธิวิทยาทั้งหมด 182 ราย และผู้ที่ได้รับการส่องกล้องลำไส้ใหญ่และทวารหนักผลปกติจำนวน 182 ราย ในจำนวนผู้ป่วยที่เป็นมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนัก 182 รายนั้น มีจำนวน 92 รายได้รับการวินิจฉัยใหม่จากการส่องกล้องลำไส้ใหญ่และทวารหนักโดยตรวจพบก้อนมะเร็งและได้รับการตรวจทางพยาธิวิทยาในช่วงที่ทำการศึกษาและมีจำนวน 90 รายจาก 182 รายเป็นผู้ป่วยที่ได้รับตรวจติดตามและรักษาที่คลินิกมะเร็งวิทยาโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

เมื่อรวบรวมประชากรไทยทั้งสองกลุ่มการศึกษากลุ่มละจำนวน 182 ราย พบว่าอายุเฉลี่ยของผู้เข้าร่วมวิจัยจากทั้งสองกลุ่มการศึกษาใกล้เคียงกันคือ 62 ปี โดยไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 1) ในกลุ่มการศึกษาผู้ป่วยมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนักจะเป็นเพศชายมากกว่าอีกกลุ่มการศึกษา โดยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.001) คิดเป็นจำนวน 103 รายจาก 182 รายคิดเป็นร้อยละ 57 และเพศหญิงจำนวน 79 รายจาก 182 ราย คิดเป็นร้อยละ 43 แตกต่างจากกลุ่มการศึกษาที่ส่องกล้องลำไส้ใหญ่และทวารหนักพบปกติซึ่งเป็นเพศชายจำนวน 59 รายจาก 182 รายคิดเป็นร้อยละ 32 และเพศหญิงจำนวน 123 รายจาก 182 รายคิดเป็นร้อยละ 68 เมื่อเทียบในเรื่องประวัติการเคยสูบบุหรี่หรือสูบบุหรี่ในปัจจุบันพบว่าในกลุ่มที่เป็นมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนักพบสูงกว่าคือ จำนวน 55 รายจาก 182 รายคิดเป็นร้อยละ 37 เมื่อเทียบกับกลุ่มลำไส้ปกติมีประวัติดังกล่าวจำนวน 20 รายจาก 182 ราย คิดเป็นร้อยละ 13 โดยมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (*P*<0.001) เมื่อคำนวณค่า Odd ratios จะเท่ากับ 3.47 และ 95% Confidence interval = 1.6-7.3 ส่วนประวัติการเป็นมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนักในครอบครัวของญาติลำดับที่ 1 พบว่าไม่แตกต่างกันจากทั้งกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งลำไส้ และผู้ที่ผลการส่องกล้องปกติโดยพบร้อยละ 85 และ 84 ตามลำดับ

ตารางที่ 1 แสดงข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วย

Baseline characteristics	**Colorectal Cancer (N=182)**	**Normal (N=182)**	**P-value**
Sex Male, n (%)	103(57%)	59(32%)	<0.001
Age (years) Mean ± SD	62 ± 11	62 ± 9	0.17
Body mass index (kg/m^2) Mean ± SD	23 ± 6	24 ± 4	0.24
History of smoking, n (%)	55 (37%)	20 (13%)	<0.001
Colorectal cancer in first degree relative, n (%)	128(85%)	134(84%)	0.7

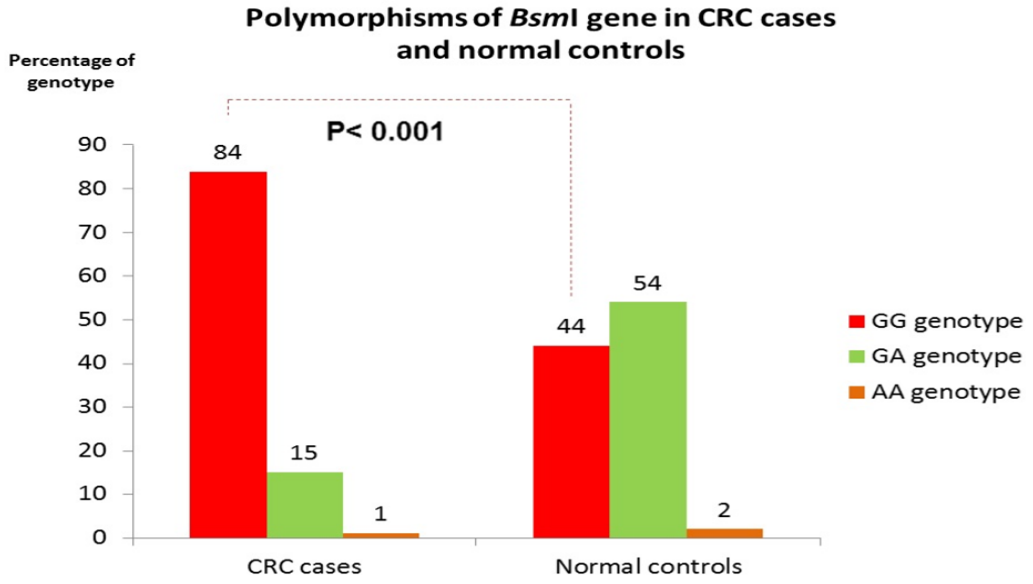
วัตถุประสงค์หลักของการวิจัยนี้เพื่อจะหาว่ามีความแตกต่างของการเกิด single nucleotide polymorphism ที่ตำแหน่งของยีน BsmI ตำแหน่ง rs 1544440 ในกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนักกับกลุ่มที่ได้รับการส่องกล้องลำไส้ใหญ่และทวารหนักพบผลปกติในประชากรไทยที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์หรือไม่ จากผลการวิเคราะห์ในกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนักมีความชุกของ Genotype G/G มีมากที่สุด จำนวน 153 รายจาก 182 รายคิดเป็นร้อยละ 84.1 รองลงมาคือ G/A พบในผู้ป่วย 28 รายคิดเป็นร้อยละ 15.4 สุดท้ายคือ A/A พบในผู้ป่วยเพียงแค่ 1 รายคิดเป็นร้อยละ 0.5 และกลุ่มการศึกษาที่ได้รับการส่องกล้องลำไส้ใหญ่และทวารหนักพบผลการส่องกล้องปกตินั้น มีมีความชุกของ Genotype G/A มีมากที่สุด จำนวน 98 รายจาก 182 รายคิดเป็นร้อยละ 53.8 รองลงมาคือ G/G พบในผู้ป่วย 80 รายคิดเป็นร้อยละ 44 สุดท้ายคือ A/A พบในผู้ป่วยเพียงแค่ 4 รายคิดเป็นร้อยละ 2.2 ดังในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 แสดงความชุกและความแตกต่างของการเกิดโพลีมอร์ฟิซึมของยีน BsmI ที่ตำแหน่ง rs 1544410 ในกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนักกับกลุ่มที่ได้รับการส่องกล้องลำไส้ใหญ่และทวารหนักพบผลปกติในประชากรไทยที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

Baseline characteristics	Colorectal Cancer (N=182)	Normal (N=182)
G/G, n (%)	153 (84.1%)	80 (44.0%)
G/A, n (%)	28 (15.4%)	98 (53.8%)
A/A, n (%)	1 (0.5%)	4 (2.2%)

เมื่อคำนวณสัดส่วนของแต่ละชนิดของ single nucleotide polymorphism ของยีน *BsmI* บน vitamin D receptor พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.001) ของชนิด genotype G/G ระหว่างกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนักที่มีสัดส่วนเท่ากับ 0.84 และกลุ่มที่ส่องกล้องลำไส้ใหญ่และทวารหนักผลปกติที่มีสัดส่วนเท่ากับ 0.44 เมื่อเทียบกับ genotype ชนิด non G/G คือ G/A และ A/A ดังแสดงในแผนภูมิที่ 2

แผนภูมิที่ 2 แสดงความแตกต่างของการเกิด Single nucleotide polymorphism G/G, G/A หรือ A/A ที่ตำแหน่ง rs 1544440 ของยีน BsmI ในกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนักกับกลุ่มที่ได้รับการส่องกล้องลำไส้ใหญ่และทวารหนักพบผลปกติในประชากรไทยที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์



จากการวิเคราะห์ปัจจัยทั้งหมด ได้แก่ อายุ เพศ ดัชนีมวลกาย ประวัติการสูบบุหรี่ ประวัติการเป็นมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนักของญาติลำดับที่ 1 และ ชนิดของ single nucleotide polymorphism ของยีน *BsmI* โดยวิธี Univariate analysis พบว่า มีปัจจัยเพศชาย ประวัติการสูบบุหรี่ และ genotype G/G ที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างกลุ่มการศึกษาผู้ป่วยมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนัก และกลุ่มที่ส่องกล้องลำไส้ใหญ่และทวารหนักผลปกติ

เมื่อมาคำนวณ Multivariate analysis พบว่ามีเพียงแค่ประวัติการสูบบุหรี่และ genotype G/G เป็นปัจจัยที่สำคัญที่พบสัดส่วนแตกต่างและมากกว่าในกลุ่มที่เป็นมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนักเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ส่องกล้องลำไส้ใหญ่และทวารหนักผลปกติ โดยปัจจัยการเคยสูบบุหรี่หรือสูบบุหรี่ในปัจจุบันมีค่า Odd ratios = 3.47, 95% confidence interval = 1.64 – 7.35 และ P-value = 0.001 และ single nucleotide polymorphism ของยีน *BsmI* ชนิด genotype G/G มีค่า Odd ratios = 6.6, 95% confidence interval = 3.72 -11.69 และ p-value < 0.001 ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 แสดงผลการวิเคราะห์โดยวิธี Multivariate analysis ของปัจจัยเพศชาย ประวัติการสูบบุหรี่ และ genotype G/G ระหว่างกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนักกับกลุ่มที่ได้รับการส่องกล้องลำไส้ใหญ่และทวารหนักพบผลปกติในประชากรไทยที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

Characteristics	OR (95% CI)	P-value
VDR-BsmI, GG genotype	6.6 (3.72-11.69)	<0.001
Male gender	1.75 (0.95-3.23)	0.074
History of smoking	3.47 (1.64-7.35)	0.001

บทที่ 5
อภิปราย สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

จากความรู้ ณ ปัจจุบันวิตามินดีมีหน้าที่ในการรักษาสมดุลแคลเซียมและยังมีผลต่อภูมิต้านทานที่มีผลต่อการควบคุมเซลล์มะเร็ง และการเติบโตของเซลล์ตั้งแต่การแบ่งตัวของเซลล์ (proliferation) การเปลี่ยนแปลงของเซลล์ (differentiation) และการตายของเซลล์ (apoptosis) วิตามินดีทำงานผ่านตัวรับที่อยู่ภายในเซลล์ชนิดต่างๆที่เรียกว่า vitamin d receptor โดยสร้างจากโครโมโซมคู่ที่ 12 ซึ่งยีนที่มีผลต่อการทำงานของ vitamin d receptor มีการศึกษาอยู่หลายตำแหน่ง เช่น *Bsm*I การเกิดความหลากหลายทางพันธุกรรมของแต่ละเชื้อชาติบนยีนนั้นๆ (single nucleotide polymorphism) จะมีผลต่อการควบคุมการทำงานของยีนนี้แตกต่างกัน โดยมีการศึกษาก่อนหน้านี้พบความสัมพันธ์ของ single nucleotide polymorphism ของยีน *BsmI* กับมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนักในเชื้อชาติทาง Caucasian

การศึกษานี้เป็นการศึกษาแรกของไทยที่มีวัตถุประสงค์ที่จะศึกษาผลของการเกิดโพลีมอร์ฟิซึมของยีน *Bsm*I ที่อยู่บน vitamin D receptor gene ของโครโมโซมคู่ที่ 12 และจากผลการศึกษาวิจัยในโครงการนี้พบว่าการเกิดโพลีมอร์ฟิซึมที่ตำแหน่ง rs 1544410 ชนิด genotype G/G ในกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนักมีสัดส่วนแตกต่างจากกลุ่มการศึกษาที่ส่องกล้องลำไส้ใหญ่และทวารหนักผลปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.001$) โดยเมื่อพิจารณาปัจจัยเสี่ยงอื่นๆของการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนักพบว่ามีเพศชาย ประวัติการสูบบุหรี่เป็นปัจจัยเสี่ยงที่ทำให้เกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนักในกลุ่มการศึกษานี้ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญระหว่างกลุ่มการศึกษาทั้งสองด้วย เมื่อพิจารณาทั้งสามปัจจัยร่วมกันแล้วจะพบว่ามีปัจจัยประวัติการสูบบุหรี่และ genotype ชนิด G/G ที่เป็นยังคงเป็นปัจจัยสำคัญต่อการเป็นมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนัก โดยมี odd ratio ของปัจจัย genotype G/G ของยีน *BsmI* เท่ากับ 6.6, 95% confidence interval = 3.72 -11.69 และ p-value < 0.001 คือเมื่อผู้ป่วยเป็นเพศชายที่มีประวัติการสูบบุหรี่จะมีความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนักเมื่อมี *BsmI* genotype ชนิด G/G เป็น 6.6 เท่าของคนปกติ ซึ่งเป็นไปในทางเดียวกับการศึกษาก่อนหน้าทีพบความสัมพันธ์ของ G/G genotype กับมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนักเช่นกัน

การศึกษานี้ยังแสดงให้เห็นถึงสัดส่วนของ single nucleotide polymorphism ของยีน *BsmI* ในกลุ่มการประชากรการศึกษาที่ไม่เป็นมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนักของคนไทยที่พบสัดส่วนของ genotype G/A ที่พบมากที่สุด รองลงมาคือ G/G และพบน้อยมากที่สุดเป็นชนิด A/A เพียงร้อย

ละ 1 ซึ่งสอดคล้องไปกับข้อมูลประชากรทั่วไปของชาวเอเชียในประเทศญี่ปุ่นและเกาหลี และแตกต่างจากประชากรประเทศแถบตะวันตกที่พบ G/G น้อยที่สุด[21,22]

เนื่องจากปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนัก มีทั้งเรื่องพันธุกรรมและสิ่งแวดล้อมเช่นการรับประทานอาหารเนื้อแดง หรือปัจจัยที่ช่วยลดการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนักเช่นการรับประทานอาหารเสริม การได้รับยาแอสไพรินอย่างต่อเนื่อง ส่งผลให้มีข้อจำกัดและยากในการเก็บปัจจัยที่มีความเสี่ยงและส่งผลต่อการเกิดโรคที่เป็นคำตอบของการศึกษา

สรุปผลการศึกษาจากงานวิจัยนี้พบว่าในกลุ่มการศึกษาที่สนใจนั้น นอกจากปัจจัยความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนักที่ทราบกันดีในปัจจุบัน พบว่าพอลิมอร์ฟิซึมของยีน *BsmI* บน vitamin D receptor gene มีความสัมพันธ์กับมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนัก ซึ่งอาจส่งผลให้เข้าใจปัจจัยการก่อโรคที่มากขึ้น และอาจส่งผลต่อการคัดกรองมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนักในผู้ที่มีหรือไม่มีพอลิมอร์ฟิซึมของยีน *BsmI* ชนิด G/G ในอนาคต

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

เอกสารอ้างอิง (References)

1. Krishnan AV, Feldman D. Mechanisms of the anti-cancer and anti-inflammatory actions of vitamin D. Annu Rev Pharmacol Toxicol 2011;51:311-36.
2. Garland CF, Garland FC. Do sunlight and vitamin D reduce the likelihood of colon cancer? Int J Epidemiol 2006;35:217-20.
3. Gorham ED, Garland CF, Garland FC, et al. Optimal vitamin D status for colorectal cancer prevention: a quantitative meta analysis. Am J Prev Med 2007;32:210-6.
4. McCullough ML, Bostick RM, Mayo TL. Vitamin D gene pathway polymorphisms and risk of colorectal, breast, and prostate cancer. Annu Rev Nutr 2009;29:111-32.
5. McCullough ML, Robertson AS, Rodriguez C, et al. Calcium, vitamin D, dairy products, and risk of colorectal cancer in the Cancer Prevention Study II Nutrition Cohort (United States). Cancer Causes Control 2003;14:1-12.
6. Ma Y, Zhang P, Wang F, et al. Association between vitamin D and risk of colorectal cancer: a systematic review of prospective studies. J Clin Oncol 2011;29:3775-82.
7. Jones G, Prosser DE, Kaufmann M. Cytochrome P450-mediated metabolism of vitamin D. J Lipid Res 2014;55:13-31.
8. Christakos S, Ajibade DV, Dhawan P, et al. Vitamin D: metabolism. Endocrinol Metab Clin North Am 2010;39:243-53, table of contents.
9. Yin L, Ordonez-Mena JM, Chen T, et al. Circulating 25-hydroxyvitamin D serum concentration and total cancer incidence and mortality: a systematic review and meta-analysis. Prev Med 2013;57:753-64.
10. Chung M, Lee J, Terasawa T, et al. Vitamin D with or without calcium supplementation for prevention of cancer and fractures: an updated meta-analysis for the U.S. Preventive Services Task Force. Ann Intern Med 2011;155:827-38.
11. Fedirko V, Riboli E, Tjonneland A, et al. Prediagnostic 25-hydroxyvitamin D, VDR and CASR polymorphisms, and survival in patients with colorectal cancer in western European ppulations. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2012;21:582-93.
12. Bjelakovic G, Gluud LL, Nikolova D, et al. Vitamin D supplementation for prevention of mortality in adults. Cochrane Database Syst Rev 2014;1:CD007470.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

13. Deeb KK, Trump DL, Johnson CS. Vitamin D signalling pathways in cancer: potential for anticancer therapeutics. Nat Rev Cancer 2007;7:684-700.

14. Bises G, Kallay E, Weiland T, et al. 25-hydroxyvitamin D3-1alpha-hydroxylase expression in normal and malignant human colon.J Histochem Cytochem 2004;52:985-9.

15. Cross HS, Bises G, Lechner D, et al. The Vitamin D endocrine system of the gut--its possible role in colorectal cancer prevention. J Steroid Biochem Mol Biol 2005;97:121-8.

16. Matusiak D, Murillo G, Carroll RE, et al. Expression of vitamin D receptor and 25-hydroxyvitamin D3-1{alpha}-hydroxylase in normal and malignant human colon. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2005;14:2370-6.

17. Wang TJ, Zhang F, Richards JB, et al. Common genetic determinants of vitamin D insufficiency: a genome-wide association study. Lancet 2010;376:180-8.

18. Rasool S, Kadla SA, Rasool V, et al. Role of the VDR Bsm I and Apa I polymorphisms in the risk of colorectal cancer in Kashmir. Oncol Res Treat 2014;37:345-9.

19. Slatter ML, Yakumo K, Hoffman M, et al. Variants of the VDR gene and risk of colon cancer (United States). Cancer Causes Control 2001;12:359-64.

20. Wong HL, Seow A, Arakawa K, et al. Vitamin D receptor start codon polymorphism and colorectal cancer risk: effect modification by dietary calcium and fat in Singapore Chinese. Carcinogenesis 2003;24:1091-5.

21. Mahmoudi T, Karimi K, Mohebbi SR, et al. Start codon FokI and intron 8 BsmI variants in the vitamin D receptor gene and susceptibility to colorectal cancer. Mol Biol Rep 2011;38:4765-4770.

22. Bai YH, Lu H, Hong D, Lin CC, et al. Vitamin D receptor gene polymorphisms and colorectal cancer risk: a systematic meta-analysis. World J Gastroenterol. 2012 Apr 14;18(14):1672-9.

23. Mahmoudi T, Karimi K, Mohebbi SR, Fatemi SR, Zali MR. Start codon FokI and intron 8 BsmI variants in the vitamin D receptor gene and susceptibility to colorectal cancer. Mol Biol Rep. 2011;38:4765-70

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

รายการอ้างอิง

ภาคผนวก

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

Personal Information

Name: Miss Prapimphan Aumpansub

Birth Date: Jul 5th, 1984

Birthplace: Bangkok, Thailand

Race: Thai

Nationality: Thai

Marital status: Single

Home address: 30/61 Soi Aree2, Pahonyathin road, Samsennai, Payathai, Bangkok Thailand 10400

Business address: Division of Gastroenterology, Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Rama IV Rd., Pathumwan, Bangkok, Thailand 10330

Telephone number: Mobile: 66-89-127-9651

E-mail address: p.aumpansub@gmail.com, iambkung@hotmail.com

Current Position

2nd year GI fellow, Division of Gastroenterology, Department of Medicine, Chulalongkorn University and King Chulalongkorn Memorial Hospital, Bangkok, Thailand

Education and training

Medical School:

- Faculty of Medicine (Second Class Honors)

Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand

2002-2008

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University