นิพนธ์ต้นฉบับ • Original Article

ความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายของยีน *VDR (Tru91)* กับความเสี่ยงของการเกิดมะเร็งปากมดลูกในสตรีทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย

ฉัตชญา ดลประสิทธิ์[1], วรรณภา อิชิดะ[1*], ศีตกานต์ นัดพบสุข[1], ดนัย ทิวาเวช[2], ดาริวรรณ เศรษฐีธรรม[3]
[1]ภาควิชาสรีรวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาขอนแก่น
[2]งานชีววิทยามะเร็ง กลุ่มงานวิจัย กองสถาบันมะเร็งแห่งชาติ กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข
[3]ภาควิชาภาควิชาวิทยาศาสตร์อนามัยสิ่งแวดล้อม คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาขอนแก่น

Association between *VDR (Tru91)* Polymorphism and Cervical Cancer Risk among Women in Northeast Thailand

Chatchaya Dolprasit[1], Wannapa Settheetham-Ishida[1*], Sitakan Natphopsuk[1], Danai Tiwawech[2], Dariwan Settheetham[3]
[1]Department of Physiology, Faculty of Medicine, Khon Kaen University, Khon Kaen, Thailand
[2]National Cancer Institute, Department of Medical Services, Ministry of Public Health, Thailand
[3]Department of Environmental Health, Faculty of Public Health, Khon Kaen University

หลักการและวัตถุประสงค์ : *Tru91* เป็นยีนตัวรับวิตามินดี *(VDR)* ชนิดหนึ่ง ที่มีบทบาทสำคัญต่อการยับยั้งการพัฒนาของเซลล์มะเร็ง *VDR (Tru91)* มีจีโนไทป์ที่แตกต่างกัน 3 แบบ คือ GG GA และ AA ความหลายหลากของลักษณะทางพันธุกรรมของ *VDR (Tru91)* อาจมีความสัมพันธ์กับความเสี่ยงต่อการเกิดโรคมะเร็ง อีกทั้งยังไม่มีรายงานการศึกษาในประเทศไทยมาก่อน ดังนั้นการวิจัยครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์ที่จะศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายของยีน *VDR (Tru91)* กับความเสี่ยงต่อการเกิดโรคมะเร็งปากมดลูกในสตรีที่อาศัยอยู่ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของไทย

วิธีการศึกษา: การศึกษานี้เป็น case-control study ประกอบด้วยอาสาสมัครกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งปากมดลูกและกลุ่มควบคุมที่เป็นอาสาสมัครที่มีสุขภาพดีจำนวนกลุ่มละ 175 ราย ทำการเก็บเลือดจากอาสาสมัครเพื่อสกัด DNA จากนั้นนำไปวิเคราะห์หา *VDR (Tru91)* genotype ด้วยเทคนิค real-time polymerase chain reaction และวิเคราะห์หาความเสี่ยงของ *VDR (Tru91)* genotype กับการเกิดมะเร็งปากมดลูกในสตรีไทยโดยใช้ logistic regression

ผลการศึกษา: ความชุกของ *VDR (Tru91)* genotype แบบ GG GA และ AA ในกลุ่มควบคุมเท่ากับ 96 9 และ 70 ราย ตามลำดับ ในกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งปากมดลูกเท่ากับ 104 11 และ 60 ราย ตามลำดับ จากการศึกษาพบว่า ความหลากหลายของยีน *VDR (Tru91)* ไม่มีความสัมพันธ์กับความเสี่ยงของการเป็นมะเร็งปากมดลูกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05) อย่างไรก็ตาม ในกลุ่มสตรีที่ไม่รับประทาน

Background and Objectives: Tru91 is a vitamin D receptor gene *(VDR)*, plays a crucial role in cancer development. There are three genotypes of *VDR (Tru91)* including GG, GA and AA genotype. This genetic polymorphism of *VDR (Tru91)* might be associated with the cancer risk, however, it has never been performed in Thailand. Therefore, the purpose of this study was to investigate the association between *VDR (Tru91)* polymorphism and cervical cancer risk in the Northeastern Thailand.

Methods: An aged matched case-control study conducted 175 invasive cervical cancer patients and 175 healthy controls. Blood samples were collected for DNA extraction and *VDR (Tru91)* genotype was analyzed by using real-time polymerase chain reaction method. Then, the association between *VDR (Tru91)* polymorphism and the risk of cervical cancer was determined among Northeastern Thai women by using logistic regression.

Results: Prevalence of GG, GA and AA was 96, 9 and 70 in the controls, respectively; 104, 11 and 60 in the cervical cancer patients, respectively. The association between *VDR (Tru91)* polymorphism and the risk of cervical cancer was not observed (p>0.05) in Northeastern Thai women. However, in non-users of oral contraceptive pills, the AA genotype was associated

ยาคุมกำเนิด ลักษณะ genotype ของ *VDR (Tru91)* แบบ AA สามารถลดความเสี่ยงในการเป็นโรคมะเร็งปากมดลูกได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่า OR เท่ากับ 0.54 (95%CI = 0.28-1.03, p=0.043) และค่า adjusted OR เท่ากับ 0.52 (95%CI = 0.28-0.96, p=0.036) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่มี genotype แบบ GG ในขณะที่ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายของยีน *VDR (Tru91)* กับความเสี่ยงต่อการเกิดโรคมะเร็งปากมดลูกในสตรีที่รับประทานยาคุมกำเนิด หรือในกลุ่มสตรีที่คู่นอนมีประวัติการสูบบุหรี่อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05)

สรุป: ความหลากหลายทางพันธุกรรมของ *VDR (Tru91)* อาจจะไม่มีส่วนสัมพันธ์กับความเสี่ยงในการเป็นโรคมะเร็งปากมดลูกในสตรีทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือของไทย

คำสำคัญ: *Tru91*, ยีนวิตามินดีรีเซพเตอร์, ความหลากหลายทางพันธุกรรม, มะเร็งปากมดลูก

with reduction of cervical cancer risk with OR, 0.54 (95%CI = 0.28-1.03, p=0.043) and adjusted OR, 0.52 (95%CI=0.28-0.96, p=0.036), compared with GG genotype, whereas the association between *VDR (Tru91)* polymorphism and the risk of cervical cancer was not observed in oral contraceptive pill users or partner smoking status (p>0.05).

Conclusions: Our data suggest that *VDR (Tru91)* polymorphism may not contribute to increase risk for cervical cancer development in the Northeastern Thai women.

Keywords: *Tru91, VDR*, genetic polymorphism, cervical cancer

ศรีนครินทร์เวชสาร 2556; 28(4): 414-420 • Srinagarind Med J 2013; 28(4): 414-420

บทนำ

มะเร็งเป็นโรคเรื้อรังที่เป็นปัญหาสำคัญทางด้านสาธารณสุขในประเทศต่างๆ รวมทั้งในประเทศไทย โดยพบว่ามะเร็งปากมดลูกเป็นสาเหตุของการเสียชีวิตในสตรีไทยเป็นจำนวนมาก สาเหตุที่สำคัญของโรคมะเร็งปากมดลูกคือ การติดเชื้อไวรัสเอชพีวี [1] อย่างไรก็ตามการติดเชื้อเอชพีวีไม่ได้เป็นสาเหตุของการเกิดโรคมะเร็งปากมดลูกทุกราย ทำให้สันนิษฐานได้ว่าอาจจะมีปัจจัยอื่นโดยเฉพาะปัจจัยด้านพันธุกรรมและพฤติกรรมเสี่ยงที่ร่วมส่งเสริมให้มีการพัฒนาของเซลล์ปากมดลูกปกติไปเป็นเซลล์มะเร็ง ในปัจจุบันมีวัคซีนที่สามารถป้องกันการเกิดโรคมะเร็งปากมดลูกได้ แต่วัคซีนดังกล่าวสามารถป้องกันการติดเชื้อเอชพีวีได้เพียงร้อยละ 70 [2] ดังนั้นการวินิจฉัยและการรักษาโรคได้ตั้งแต่ระยะเริ่มแรกก่อนที่โรคมะเร็งกระจายไปยังส่วนต่างๆของร่างกาย รวมทั้งการสืบค้นหาสาเหตุและการป้องกันการเกิดโรค จะทำให้สามารถลดอุบัติการณ์และอัตราการตายจากโรคมะเร็งปากมดลูกลงได้

ปัจจุบันมีการศึกษาเกี่ยวกับความหลากหลายทางพันธุกรรม (genetic polymorphism) เพื่อสืบหายีนที่เป็นปัจจัยเสี่ยงในการเกิดโรคมะเร็ง ยีนตัวรับวิตามินดี (vitamin D receptor, *VDR*) เป็นยีนชนิดหนึ่งทำหน้าที่คัดลอกตัวรับที่จะจับกับวิตามินดีที่มีความสำคัญต่อการออกฤทธิ์ของวิตามินดี VDR เป็น nuclear membrane receptor เมื่อจับกับวิตามินดีแล้วกลายเป็น calcitriol–VDR complex ซึ่งมีผลกระตุ้นกระบวนการถอดรหัสพันธุกรรมของยีนเป้าหมาย เช่น calbindin, osteocalcin, และ 24–hydroxylase[3] เป็นต้น นอกจากนี้ยังพบว่า วิตามินดีสามารถป้องกันการพัฒนาของเซลล์มะเร็งด้วย โดยผ่านกลไกการควบคุมวัฏจักรของเซลล์ การกระตุ้นการเกิด apoptosis การยับยั้งการแบ่งเซลล์ [4, 5] และการสร้างหลอดเลือด[6]

ยีนตัวรับวิตามินดี (*VDR*) อยู่ใน chromosome 12 (12q13.11) มีขนาด 63495 bps ประกอบด้วย 11 exons[7] จากการศึกษาทางระบาดวิทยาได้มีการรวบรวมความหลากหลายของยีน *VDR* ที่สำคัญไว้ 6 ยีน คือ ยีน *Fok1* อยู่ที่ตำแหน่ง Exon 2 ทางด้านปลาย 5' ขณะที่ *Bsml* (intron 8), Tru91 (intron 8), *Taq1* (exon 9), *Apa1* (intron 8) และ *poly A* microsatellite อยู่บริเวณทางด้าน 3'UTR ของยีน *VDR* ตำแหน่งของยีนที่แตกต่างกันนั้นจะส่งผลให้การทำหน้าที่มีความแตกต่างกัน[8] ดังนั้นตำแหน่งที่จำเพาะของยีนจึงเป็นตัวกำหนดรูปแบบหน้าที่การทำงานต่างๆ ที่เกิดขึ้น มีการศึกษาที่หลากหลายที่พบความสัมพันธ์ของยีน *VDR* กับความเสี่ยงในการเป็นมะเร็งชนิดต่างๆ โดยมีรายงานทางด้านระบาดวิทยาครั้งแรกของยีน *VDR* กับโรคมะเร็งเกิดในปี ค.ศ. 1997 พบว่าความหลากหลายของยีน *VDR (poly A)* มีความสัมพันธ์กับความเสี่ยงต่อการเกิดโรคมะเร็งต่อมลูกหมากเพิ่มขึ้น 4

เท่า[9] ความหลากหลายของยีน *FokI, BsmI* และ *Tru91* มีความสัมพันธ์กับความเสี่ยงในการเกิดโรคมะเร็งลำไส้ใหญ่[10, 11] และให้ผลสอดคล้องกับโรคมะเร็งชนิดอื่นๆ เช่น มะเร็งต่อมลูกหมาก[12] มะเร็งเต้านม[13] และมะเร็งผิวหนัง[14] อย่างไรก็ตามมีการศึกษาที่ขัดแย้ง ซึ่งไม่พบความสัมพันธ์ของ *VDR (Cdx2)* genotype กับการเป็นมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนัก[15] การศึกษาความสัมพันธ์ความหลากหลายของ *VDR (Tru91)* กับความเสี่ยงต่อการเกิดโรคมะเร็งยังมีน้อย[16] อีกทั้งยังไม่มีรายงานเกี่ยวกับ *VDR (Tru91)* genotype กับความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งปากมดลูกในประเทศไทย ดังนั้นจึงเป็นที่น่าสนใจในการศึกษาความสัมพันธ์ของยีน *VDR (Tru91)* กับความเสี่ยงในการเป็นมะเร็งปากมดลูก

ยีน *VDR (Tru91)* มีความหลากหลายทางพันธุกรรมได้ 3 แบบ (genotype) คือ GG (homozygous, wild type), GA (heterozygous) และ AA (homozygous mutant) ที่จะมีผลต่อการคัดลอกกรดอะมิโนแตกต่างกัน และอาจส่งผลต่อการออกฤทธิ์ของ *VDR* ที่แตกต่างกันด้วย จึงอาจเป็นไปได้ว่าหน้าที่จำเพาะของ *VDR (Tru91)* อาจมีความสัมพันธ์กับความเสี่ยงในการเป็นมะเร็งปากมดลูกได้ การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของ *VDR (Tru91)* กับความเสี่ยงต่อการเกิดโรคมะเร็งปากมดลูก จึงอาจจะเป็นตัวบ่งชี้ทางพันธุกรรม (genetic maker) ที่เป็นประโยชน์ในการติดตามค้นหาและป้องกันกลุ่มสตรีไทยผู้มีความเสี่ยงสูงต่อการเป็นผู้ป่วยมะเร็งปากมดลูกซึ่งจะช่วยลดอัตราการเกิดโรคมะเร็งปากมดลูกในสตรีไทยที่อยู่ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือในอนาคต

วิธีการศึกษา

ตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษา

การวิจัยนี้เป็นแบบ case-control study กลุ่มตัวอย่างเป็นอาสาสมัครที่มารับการตรวจรักษาในแผนกผู้ป่วยนอกโรงพยาบาลศรีนครินทร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น และโรงพยาบาลศูนย์ขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น โดยแบ่งอาสาสมัครออกเป็นสองกลุ่มคือ กลุ่มผู้ป่วยมะเร็งปากมดลูกที่ได้รับการตรวจทางพยาธิวิทยาและวินิจฉัยจากสูตินรีแพทย์ว่าเป็นมะเร็งปากมดลูกชนิด squamous cell carcinoma (SCCA) จำนวน 175 ราย และกลุ่มควบคุมซึ่งเป็นอาสาสมัครที่มีสุขภาพดีจำนวน 175 ราย โดยอาสาสมัครแต่ละรายจะต้องไม่มีประวัติการเป็นมะเร็งชนิดอื่นๆ การฉายรังสี การผ่าตัดมดลูก และ/หรือการได้รับยาต้านไวรัส ซึ่งอาสาสมัครทั้ง 2 กลุ่มมีการคัดเลือกให้มีอายุเฉลี่ยใกล้เคียงกัน (ต่างกันไม่เกิน 5 ปี, aged-match) คณะผู้วิจัยได้ทำการเจาะเลือดจากอาสาสมัครและให้อาสาสมัครตอบแบบสอบถาม

การศึกษานี้ได้ผ่านการรับรองด้านจริยธรรมของมหาวิทยาลัยขอนแก่นเลขที่ HE 450333 และโรงพยาบาลศูนย์ขอนแก่น No. 03/02/2554

การศึกษา *VDR (Tru91)* polymorphism

เก็บเลือดจากอาสาสมัคร แล้วทำการปั่นแยกและสกัดดีเอ็นเอจากเม็ดเลือดขาว (genomic DNA) ด้วยน้ำยาสำเร็จรูป GF-1 Blood DNA Extraction Kit (Vivantis, USA) จากนั้นนำ DNA ที่ได้ไปตรวจหา *VDR (Tru91)* polymorphism ด้วยเทคนิค real-time polymerase chain reaction (PCR) ร่วมกับ TaqMan Probe โดยใช้ forward primer (5′- TTT GGA GGC AAT GTG CAG TGA CCC TT -3′) และ reverse primer (5′- ACC TCT TCC GCT GGT TAG AGG TGA G -3′) (Applied Biosystems, Foster City, USA) ในการตรวจนี้เริ่มต้นด้วยการนำ real time-PCR mixture 20 µl [ประกอบด้วย double distilled water 7.5 µl + TaqMan Genotyping Master Mix 10 µl + TaqMan Probe with primers 0.5 µl + DNA template 2 µl] ไป incubate ที่ 60 ^{0}C นาน 30 วินาที และ 95 ^{0}C นาน 10 นาที จากนั้นทำการเพิ่มจำนวน DNA โดยการทำ real-time PCR ตามโปรแกรมดังต่อไปนี้ 95 ^{0}C นาน 15 วินาที และ 60 ^{0}C 1 นาที เป็นจำนวน 40 รอบ แล้วตามด้วย 60 ^{0}C นาน 30 วินาที ในขั้นตอนสุดท้าย PCR products ที่ได้ทั้งหมดจะถูกวิเคราะห์ *VDR (Tru91)* genotype แบบ GG หรือ GA หรือ AA ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูปของเครื่อง StepOnePlus real-time PCR system (Applied Biosystems, Foster City, USA) ทั้งนี้ real-time PCR products ของยีน *VDR (Tru91)* แบบ GG genotype มีความจำเพาะในการจับกับ TaqMan probe ชนิด wild-type ที่ติดฉลากด้วยสี VIC, AA genotype มีความจำเพาะในการจับกับ TaqMan probe ชนิด mutant-type ที่ติดฉลากด้วยสี FAM และ GA genotype มีความจำเพาะในการจับกับ TaqMan probe ทั้งชนิด wild-type และชนิด mutant-type ในการทำ real-time PCR ร่วมกับ TaqMan Probe ทุกครั้งใช้ double distilled water เป็น negative control

การวิเคราะห์ทางสถิติ

ในการประมวลและวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างความหลากหลายทางพันธุกรรมของ *VDR (Tru91)* ในกลุ่มควบคุมและกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งปากมดลูกใช้วิธี chi-square test สำหรับการประเมินความเสี่ยงต่อการเกิดโรคมะเร็งปากมดลูกใช้วิธี logistic regression ด้วยการคำนวณหาค่า odds ratio (ORs) และค่า 95% confidence interval (CI)

โดยกำหนดให้ข้อมูลมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อ $p < 0.05$

ผลการศึกษา

ความถี่ของ *VDR (Tru91)* genotype แบบ GG GA และ AA ในกลุ่มควบคุมเท่ากับ 96, 9 และ 70 ราย ตามลำดับ (ร้อยละ 54.86, 5.14 และ 40.00 ตามลำดับ) ส่วนในกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งปากมดลูก เท่ากับ 104, 11 และ 60 ราย ตามลำดับ (ร้อยละ 59.42, 6.29 และ 34.29 ตามลำดับ) เมื่อนำค่าความถี่ของ genotype ของกลุ่มควบคุมกับกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งปากมดลูกมาทำการวิเคราะห์ทางสถิติด้วยโปรแกรม STATA พบว่า ลักษณะ genotype ทั้ง 3 แบบของยีน *VDR (Tru91)* ได้แก่ GG GA และ AA ไม่มีความสัมพันธ์กับความเสี่ยงในการเกิดโรคมะเร็งปากมดลูกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05) ถึงแม้จะทำการปรับ (adjusted) ปัจจัยที่คาดว่าจะมีผลต่อการทดลองนี้ ได้แก่ การมีคู่นอนสูบบุหรี่และการรับประทานยาคุมกำเนิด (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 2 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง *VDR (Tru91)* polymorphism กับความเสี่ยงต่อการเกิดโรคมะเร็งปากมดลูกในสตรีที่มีคู่นอนสูบบุหรี่พบว่า genotype ของ *VDR (Tru91)* ไม่มีความสัมพันธ์กับความเสี่ยงในการเกิดโรคมะเร็งปากมดลูกทั้งในสตรีที่มีคู่นอนไม่สูบบุหรี่และคู่นอนที่สูบบุหรี่อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05)

จากการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่าง *VDR (Tru91)* polymorphism กับความเสี่ยงต่อการเกิดโรคมะเร็งปากมดลูกในสตรีที่รับประทานยาคุมกำเนิดพบว่า ในกลุ่มสตรีที่ไม่รับประทานยาคุมกำเนิด ลักษณะ genotype *VDR (Tru91)* แบบ AA จะลดความเสี่ยงในการเป็นโรคมะเร็งปากมดลูกได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่า OR เท่ากับ 0.54 (95%CI=0.28-1.03, p=0.043) และค่า adjusted OR เท่ากับ 0.52 (95%CI=0.28-0.96, p=0.036) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่มี genotype แบบ GG ส่วนในกลุ่มสตรีที่รับประทานยาคุมกำเนิดพบว่า ลักษณะgenotype ของ *VDR (Tru91)* ไม่มีความสัมพันธ์กับความเสี่ยงในการเกิดโรคมะเร็งปากมดลูกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05) (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 1 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง *VDR (Tru91)* polymorphism กับความเสี่ยงต่อการเกิดโรคมะเร็งปากมดลูก

VDR (Tru91) genotype	Case n (%)	Control n (%)	Crude OR (95%CI)	*p*	Adjusted OR [a] (95%CI)	*p*
GG	104 (59.42)	96 (54.86)	1		1	
GA	11 (6.29)	9 (5.14)	1.13 (0.40-3.22)	0.80	1.05 (0.41-2.70)	0.92
AA	60 (34.29)	70 (40.00)	0.79 (0.50-1.26)	0.30	0.72 (0.46-1.15)	0.17

OR: odds ratio, CI: confidence interval, [a] adjusted by partner smoking and oral contraceptive pills

ตารางที่ 2 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง *VDR (Tru91)* polymorphism กับความเสี่ยงต่อการเกิดโรคมะเร็งปากมดลูกในสตรีที่มีคู่นอนสูบบุหรี่

Partner smoking	*VDR (Tru91)* genotype	Case n (%)	Control n (%)	Crude OR (95%CI)	*p*	Adjusted OR [a] (95%CI)	*p*
No	GG	28 (59.57)	50 (62.50)	1		1	
	GA	1 (2.13)	4 (5.00)	0.45 (0.01-4.85)	0.47	0.44 (0.47-4.17)	0.48
	AA	18 (38.30)	26 (32.50)	1.24 (0.54-2.82)	0.58	1.23 (0.58-2.64)	0.59
Yes	GG	76 (59.38)	46 (48.42)	1		1	
	GA	10 (7.81)	5 (5.26)	1.21 (0.35-4.80)	0.74	1.23 (0.39-3.86)	0.72
	AA	42 (32.81)	44 (46.32)	0.58 (0.32-1.05)	0.05	0.57 (0.32-1.00)	0.50

OR: odds ratio, CI: confidence interval, [a] adjusted by oral contraceptive pills

ตารางที่ 3 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง *VDR (Tru91)* polymorphism กับความเสี่ยงต่อการเกิดโรคมะเร็งปากมดลูกในสตรีที่รับประทานยาคุมกำเนิด

Oral contraceptive pills	*VDR (Tru91)* genotype	Case n (%)	Control n (%)	Crude OR (95%CI)	p	Adjusted OR [a] (95%CI)	p
No	GG	61 (64.21)	3 (50.96)	1		1	
	GA	6 (6.32)	6 (5.77)	0.87 (0.22-3.47)	0.82	0.80 (0.24-2.65)	0.71
	AA	28(29.47)	5 (43.27)	0.54 (0.28-1.03)	0.04*	0.52 (0.28-0.96)	0.04*
Yes	GG	43 (53.75)	43 (60.56)	1		1	
	GA	5 (6.25)	3 (4.23)	1.67 (0.30-11.34)	0.50	1.46 (0.31-6.87)	0.63
	AA	32 (40)	25 (35.21)	1.28 (0.62-2.65)	0.47	1.20 (0.60-2.42)	0.61

OR: odds ratio, CI: confidence interval, [a] adjusted by partner smoking, * $p<0.05$

วิจารณ์

มะเร็งปากมดลูกเป็นโรคมะเร็งที่พบมากในสตรีไทยและเป็นสาเหตุของการเสียชีวิตเป็นจำนวนมาก การเกิดโรคมะเร็งปากมดลูกมีสาเหตุจากหลายปัจจัย เช่น เชื้อไวรัส HPV สารเคมี สารรังสี รวมทั้งปัจจัยทางพันธุกรรม[17] โดยความหลากหลายทางพันธุกรรม (genetic polymorphism) มีผลต่อความไวหรือความเสี่ยงในการเกิดโรคต่างๆ ได้แตกต่างกัน ในการศึกษาครั้งนี้พบความถี่ของยีน G และ A เท่ากับร้อยละ 57.43 และ 42.57 ในกลุ่มควบคุม ตามลำดับ และเท่ากับร้อยละ 62.57 และ 37.43 ในกลุ่มมะเร็งปากมดลูก ตามลำดับ โดยพบว่าลักษณะทางพันธุกรรมของยีน *VDR (Tru91)* ไม่มีความสัมพันธ์กับความเสี่ยงในการเกิดโรคมะเร็งปากมดลูก ในขณะที่ Gong และคณะ[16] ได้ทำการศึกษาในประชากรจีน พบว่าความถี่ของยีน G และ A เท่ากับร้อยละ 87.95 และ 12.05 ในกลุ่มควบคุม ตามลำดับ และเท่ากับร้อยละ 90.94 และ 9.06 ในกลุ่มมะเร็งลำไส้ ตามลำดับ ซึ่งไม่พบความสัมพันธ์ระหว่าง *VDR (Tru91)* genotype กับความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งลำไส้ อย่างไรก็ตาม ความถี่ของยีนที่มีความแตกต่างกันในแต่ละกลุ่มชาติพันธุ์อาจจะส่งผลต่อความเสี่ยงของการเกิดมะเร็งที่แตกต่างกันด้วย

ในควันบุหรี่มีสารก่อมะเร็งและสารพิษหลายชนิด เช่น นิโคติน คาร์บอนมอนอกไซด์ โพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน ทาร์ นิโคติน[18] เป็นต้น เมื่อสารเหล่านี้เข้าสู่ร่างกายจะไปกระตุ้นการแสดงออกและการทำงานของ cyclooxygenase-2 (COX-2) ทำให้เพิ่มการหลั่งของ prostaglandin E_2 (PGE_2) กับ thromboxane A2 (TXA2) นอกจากนี้ยังเพิ่มการผลิต pro-inflammatory cytokine เช่น tumor necrosis factor α(TNF-α), interleukin (IL)-1, interleukin 8(IL-8), interleukin 6(IL-6) และยังลดการทำงานของ anti-inflammatory cytokines เช่น interleukin 10(IL-10)[19] เป็นต้น ส่งผลให้เกิดกระบวนการ อักเสบของเซลล์และทำให้ภูมิต้านทานของร่างกายลดลง[20] วิตามินดีสามารถป้องกันการเกิดมะเร็งได้ โดยพบว่า วิตามินดีมีผลลดกระบวนการอักเสบ (anti-Inflammatory effects) ที่เกิดจากการสูบบุหรี่ เช่น ลดการทำงานของ interleukin 8 และ interleukin 6 โดยผ่านทางการยับยั้ง p38 signaling[21] และยับยั้งการสังเคราะห์พรอสตาแกลนดินส์[22] โดยกดการทำงานของ cyclooxygenase-2 (COX-2) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่สังเคราะห์พรอสตาแกลนดินส์ จึงทำให้เซลล์เกิดกระบวนการ apoptosisis และลดการเพิ่มของจำนวนเซลล์ (proliferation)[14] นอกจากนี้วิตามินดีสามารถยับยั้งกระบวนการสร้างหลอด

เลือดใหม่ (angiogenesis) โดยจะลดการทำงานของ pro-angiogenic factor เช่น hypoxia-inducible factor 1 (HIF-1), vascular endothelial growth factor (VEGF)[23] และ interleukin 8 [24] ซึ่งเป็นโปรตีนที่ทำหน้าเป็นสารกระตุ้นการสร้างหลอดเลือดใหม่ ส่งผลให้ลดการกระจายและการพัฒนาไปของเซลล์มะเร็ง ซึ่งลักษณะพันธุกรรมของตัวรับวิตามินดี อาจจะมีความสัมพันธ์กับความสามารถในการทำหน้าที่ของวิตามินดี ในการศึกษาครั้งนี้ได้ทำการศึกษาความสัมพันธ์ความหลากหลายของยีน *VDR (Tru91)* กับความเสี่ยงต่อการเกิดโรคมะเร็งปากมดลูกในกลุ่มสตรีที่มีคู่นอนสูบบุหรี่และไม่สูบบุหรี่ โดยพบว่าในกลุ่มสตรีที่มีคู่นอนสูบบุหรี่ร่วมกับการมีลักษณะ genotype ของ *VDR (Tru91)* แบบ AA มีแนวโน้มที่จะลดความเสี่ยงในการเป็นโรคมะเร็งปากมดลูก 0.57 เท่า (p=0.050) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มสตรีที่มีคู่นอนสูบบุหรี่ร่วมกับการมีลักษณะ genotype ของ *VDR (Tru91)* แบบ GG ดังนั้น จึงน่าจะมีการศึกษาลักษณะ genotype ของ *VDR (Tru91)* กับความเสี่ยงในการเป็นโรคมะเร็งปากมดลูกในกลุ่มสตรีที่มีคู่นอนสูบบุหรี่อย่างต่อเนื่องและชัดเจนมากกว่านี้ด้วยการเพิ่มขนาดตัวอย่างมากขึ้น นอกจากนี้ยังเป็นที่น่าสนใจที่ไม่พบความสัมพันธ์ของ *VDR (Tru91)* genotype กับการเป็นมะเร็งปากมดลูกในสตรีที่รับประทานยาคุมกำเนิด แต่พบว่า *VDR (Tru91)* genotype มีความสัมพันธ์กับการเป็นมะเร็งปากมดลูกในสตรีที่ไม่รับประทานยาคุมกำเนิด โดย *VDR (Tru91)* genotype แบบ AA สามารถลดความเสี่ยงในการเป็นมะเร็งปากมดลูกได้ 0.52 เท่า (95%CI=0.28-0.96, p=0.036) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่มีลักษณะ genotype แบบ GG ซึ่งแสดงให้เห็นว่าลักษณะ genotype ของ *VDR (Tru91)* อาจจะเป็น genetic risk factor ในสตรีที่ไม่รับประทานยาคุมกำเนิด ดังนั้นการหลีกเลี่ยงปัจจัยเสี่ยงร่วมกับการสืบค้นลักษณะทางพันธุกรรมและการตรวจคัดกรองมะเร็งปากมดลูกในระยะเริ่มแรกจะช่วยกำหนดแนวทางที่เหมาะสมในการป้องกันเพื่อลดอุบัติการณ์การเกิดโรคมะเร็งปากมดลูก

ในการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าความหลากหลายทางพันธุกรรมของ *VDR (Tru91)* อาจจะไม่มีส่วนในการเพิ่มความเสี่ยงในการเป็นโรคมะเร็งปากมดลูกในสตรีทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือของไทย อย่างไรก็ตาม ควรจะมีการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของ *VDR* กับความเสี่ยงในการเป็นโรคมะเร็งปากมดลูกอย่างต่อเนื่อง ร่วมกับการเพิ่มจำนวนตัวอย่างที่มากขึ้น อนึ่งการศึกษานี้เป็นการวิจัยชิ้นแรกที่ได้รายงานความถี่ของ genotype ของ *VDR (Tru91)* และความหลากหลายทางพันธุกรรมของ *VDR (Tru91)* กับการเกิดมะเร็งปากมดลูกในสตรีไทย ซึ่งสามารถใช้เป็นข้อมูลและอ้างอิงในการศึกษาด้านพันธุศาสตร์ต่อไป

สรุป

ความหลากหลายทางพันธุกรรมของ *VDR (Tru91)* ไม่มีความสัมพันธ์กับความเสี่ยงในการเป็นโรคมะเร็งปากมดลูกในสตรีทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือของไทย นอกจากนี้ความหลากหลายทางพันธุกรรมของ *VDR (Tru91)* ไม่เป็นปัจจัยร่วมกับยาคุมกำเนิดชนิดรับประทานและการได้รับบุหรี่ในการเพิ่มความเสี่ยงในการเป็นโรคมะเร็งปากมดลูกในสตรีทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือของไทย ดังนั้น การสืบค้นปัจจัยทางพันธุกรรมควรจะมีการดำเนินต่อไปร่วมกับการตรวจคัดกรองมะเร็งปากมดลูกในระยะเริ่มแรก เพื่อลดอุบัติการณ์การเกิดโรคมะเร็งปากมดลูกและกำหนดแนวทางที่เหมาะสมในการป้องกันต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษาครั้งนี้ได้รับเงินทุนสนับสนุนจาก บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น ทุนอุดหนุนและส่งเสริมการทำวิทยานิพนธ์ ทุนอุดหนุนการวิจัย คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ทุนอุดหนุนการวิจัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น และขอขอบคุณกลุ่มงานวิจัย สถาบันมะเร็งแห่งชาติ

เอกสารอ้างอิง

1. Ferenczy A, Coutlee F, Franco E, Hankins C. Human papillomavirus and HIV coinfection and the risk of neoplasias of the lower genital tract: A review of recent developments. CMAJ 2003; 169:431-4.
2. Wheeler CM. Advances in primary and secondary interventions for cervical cancer: Human papillomavirus prophylactic vaccines and testing. Nat Clin Pract Oncol 2007; 4:224-35.
3. Nagpal S, Na S, Rathnachalam R. Noncalcemic actions of vitamin D receptor ligands. Endocr Rev 2005; 26:662-87.
4. Deeb KK, Trump DL, Johnson CS. Vitamin D signalling pathways in cancer: Potential for anticancer therapeutics. Nat Rev Cancer 2007; 7:684-700.

5. Bouillon R, Eelen G, Verlinden L, et al. Vitamin D and cancer. J Steroid Biochem Mol Biol 2006; 102:156-62.
6. Rankin EB, Giaccia AJ. The role of hypoxia-inducible factors in tumorigenesis. Cell Death Differ 2008; 15:678-85.
7. Crofts LA, Hancock MS, Morrison NA, Eisman JA. Multiple promoters direct the tissue-specific expression of novel n-terminal variant human vitamin D receptor gene transcripts. Proc Natl Acad Sci U S A 1998; 95:10529-34.
8. Zmuda JM, Cauley JA, Ferrell RE. Molecular epidemiology of vitamin D receptor gene variants. Epidemiol Rev 2000; 22:203-17.
9. Ingles SA, Ross RK, Yu MC, et al. Association of prostate cancer risk with genetic polymorphisms in vitamin D receptor and androgen receptor. J Natl Cancer Inst 1997; 89:166-70.
10. Ingles SA, Wang J, Coetzee GA, et al. Vitamin D receptor polymorphisms and risk of colorectal adenomas (united states). Cancer Causes Control 2001; 12:607-14.
11. Kim HS, Newcomb PA, Ulrich CM, et al. Vitamin D receptor polymorphism and the risk of colorectal adenomas: Evidence of interaction with dietary vitamin D and calcium. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2001; 10:869-74.
12. Chokkalingam AP, McGlynn KA, Gao YT, et al. Vitamin D receptor gene polymorphisms, insulin-like growth factors, and prostate cancer risk: A population-based case-control study in china. Cancer Res 2001; 61:4333-6.
13. Guy M, Lowe LC, Bretherton-Watt D, et al. Approaches to evaluating the association of vitamin D receptor gene polymorphisms with breast cancer risk. Recent Results Cancer Res 2003; 164:43-54.
14. Li C, Liu Z, Wang LE, et al. Haplotype and genotypes of the VDR gene and cutaneous melanoma risk in non-hispanic whites in texas: A case-control study. Int J Cancer 2008; 122:2077-84.
15. Slattery ML, Herrick J, Wolff RK, et al. Cdx2 VDR polymorphism and colorectal cancer. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2007; 16:2752-5.
16. Gong YL, Xie DW, Deng ZL, et al. Vitamin D receptor gene Tru91 polymorphism and risk for incidental sporadic colorectal adenomas. World J Gastroenterol 2005; 11:4794-9.
17. Chen WY, Bertone-Johnson ER, Hunter DJ, et al. Associations between polymorphisms in the vitamin D receptor and breast cancer risk. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2005; 14:2335-9.
18. Baker RR, Massey ED, Smith G. An overview of the effects of tobacco ingredients on smoke chemistry and toxicity. Food Chem Toxicol 2004; 42 Suppl:S53-83.
19. Kelley DJ, Mestre JR, Subbaramaiah K, et al. Benzo[a] pyrene up-regulates cyclooxygenase-2 gene expression in oral epithelial cells. Carcinogenesis 1997; 18:795-9.
20. Holt PG, Keast D. Environmentally induced changes in immunological function: Acute and chronic effects of inhalation of tobacco smoke and other atmospheric contaminants in man and experimental animals. Bacteriol Rev 1977; 41:205-16.
21. Nonn L, Peng L, Feldman D, Peehl DM. Inhibition of p38 by vitamin D reduces interleukin-6 production in normal prostate cells via mitogen-activated protein kinase phosphatase 5: Implications for prostate cancer prevention by vitamin d. Cancer Res 2006; 66:4516-24.
22. Xu Y, Shibata A, McNeal JE, et al. Vitamin D receptor start codon polymorphism (Fok1) and prostate cancer progression. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2003; 12:23-7.
23. Ben-Shoshan M, Amir S, Dang DT, et al. 1alpha, 25-dihydroxyvitamin D_3 (calcitriol) inhibits hypoxia-inducible factor-1/vascular endothelial growth factor pathway in human cancer cells. Mol Cancer Ther 2007; 6:1433-9.
24. Bao BY, Yao J, Lee YF. 1alpha, 25-dihydroxyvitamin D_3 suppresses interleukin-8-mediated prostate cancer cell angiogenesis. Carcinogenesis 2006; 27:1883-93.