

## บทคัดย่อ

มะเร็งปากมดลูกเป็นปัญหาที่สำคัญของประเทศไทย โดยมีไวรัสฮิวแมนแพปพิโลมา (HPV) ชนิดความเสี่ยงสูงเป็นสาเหตุหลักของการเกิดโรค อย่างไรก็ตามผู้ที่ติดเชื้อ HPV ไม่ได้ทำให้เกิดมะเร็งมดลูกทุกราย แสดงให้เห็นว่าอาจจะมีปัจจัยเสี่ยงอื่น ๆ ร่วมในการเกิดมะเร็งปากมดลูก การสืบค้นสาเหตุของการเกิดมะเร็งปากมดลูกจึงเป็นหนทางหนึ่งที่สามารถจะช่วยลดอุบัติการณ์การเกิดมะเร็งชนิดนี้ ดังนั้นผู้วิจัยจึงได้ทำการศึกษาความสัมพันธ์ของปัจจัยเสี่ยงต่าง ๆ ได้แก่ ปัจจัยทางด้านพฤติกรรม ปัจจัยทางด้านพันธุกรรม รวมทั้งการติดเชื้อ HPV กับการเกิดมะเร็งปากมดลูกในสตรีภาคตะวันออกเฉียงเหนือที่มีอายุระหว่าง 27-74 ปี ในกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งปากมดลูก(SCCA) และกลุ่มควบคุมที่เป็นอาสาสมัครที่มีสุขภาพดี โดยการจัดกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งปากมดลูกและกลุ่มควบคุมที่มีช่วงอายุกลุ่มละ 5 ปี

จากการศึกษาในกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งปากมดลูกจำนวน 90 คน และกลุ่มอาสาสมัครที่มีสุขภาพดีจำนวน 100 คน พบว่าอุบัติการณ์การติดเชื้อไวรัสฮิวแมนแพปพิโลมา (HPV) ชนิดความเสี่ยงสูงในกลุ่มควบคุมและกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งปากมดลูกมีค่าเท่ากับ 13.0% และ 86.7% ตามลำดับ พบว่าการติดเชื้อ HPV ทำให้มีโอกาสเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งปากมดลูกเพิ่มขึ้น 43.5 เท่า (ช่วงความเชื่อมั่น 95 % เท่ากับ 17.5-110.6;  $p < 0.00001$ ) ในจำนวนสตรีที่ติดเชื้อ HPV 78 คน (86.7%) จะมีสตรีที่ติดเชื้อ HPV ชนิด 16 (HPV-16) มากที่สุด คิดเป็น 70.5% รองลงมาเป็นการติดเชื้อ HPV ชนิด 18 (HPV-18) คิดเป็น 23.1% ทั้งนี้ไม่พบความแตกต่างของชนิด HPV ในกลุ่มควบคุมและกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งปากมดลูกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ รวมทั้งไม่พบความสัมพันธ์ของการติดเชื้อ HPV กับลักษณะทางพันธุกรรมของจีน *p53* codon 72 ระหว่างอัลลีล *proline* และ *arginine* รวมทั้งไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของทางพันธุกรรมของจีน *p53* codon 72 กับการเกิดมะเร็งปากมดลูก ในประชากรที่ทำการศึกษา ( $p > 0.05$ )

จากการศึกษาความสัมพันธ์ของปัจจัยด้านพฤติกรรมเสี่ยงกับการเกิดมะเร็งปากมดลูก พบว่าปัจจัยด้านจำนวนคู่นอน ( $p < 0.003$ ) อายุที่มีเพศสัมพันธ์ครั้งแรก ( $p < 0.03$ ) และจำนวนครั้งของการตั้งครรภ์ ( $p < 0.006$ ) มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งปากมดลูก นอกจากนี้ยังพบว่าการสูบบุหรี่ของสามียังเป็นปัจจัยเสี่ยงที่สำคัญต่อการเกิดมะเร็งปากมดลูกด้วย สตรีที่มีสามีกำลังสูบบุหรี่หรือมีสามีที่เคยสูบบุหรี่จะมีความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งปากมดลูกเพิ่มขึ้น 3.31 เท่า ( $p < 0.003$ ) หรือ 3.36 เท่า ( $p < 0.003$ ) ตามลำดับ

ในผู้หญิงมีสารก่อมะเร็งหลายชนิดที่สามารถตรวจพบได้ที่มูกปากมดลูก สารก่อมะเร็งเหล่านี้มีผลทำลายดีเอ็นเอที่เซลล์ของปากมดลูกอันอาจนำไปสู่การซ่อมแซมเซลล์ที่ผิดปกติและกลายเป็นเซลล์มะเร็งในที่สุด อย่างไรก็ตามการได้รับสูบบุหรี่ไม่ได้ทำให้มีการพัฒนาเป็นเซลล์มะเร็งทุกกรณี แสดงว่าปัจจัยภายในร่างกายน่าจะมีส่วนสำคัญต่อการแบ่งเซลล์ที่ผิดปกติจนกลายเป็นมะเร็ง ในร่างกายมีกลไกที่จะทำลายสารพิษรวมทั้งกลไกการซ่อมแซมดีเอ็นเอ ที่แตกต่างกันในแต่ละบุคคล เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเมแทบอลิซึม (metabolizing enzymes) เป็นกลไกหนึ่งในการกำจัดสารพิษในร่างกาย โดยเฉพาะ *glutathione S-transferase* (GST) ซึ่งเป็นเอนไซม์กำจัดสารพิษในร่างกายมนุษย์ระยะที่ 1

(human phase I detoxification enzymes) ที่มีหลายชนิดและมีลักษณะทางพันธุกรรมที่แตกต่างกัน ดังนั้นผู้วิจัยจึงทำการศึกษาความสัมพันธ์ของลักษณะทางพันธุกรรมของ *GSTs* ชนิด *GSTM1* และ *GSTT1* กับ การเกิดมะเร็งปากมดลูก ในกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งปากมดลูกจำนวน 90 คน และกลุ่มอาสาสมัครที่มีสุขภาพดี จำนวน 94 คน

จากการศึกษาพบลักษณะจีโนไทป์แบบ *GSTM1*-null ในกลุ่มควบคุม และกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งปากมดลูกคิดเป็น 60.0% และ 59.6% ตามลำดับ ในขณะที่ลักษณะจีโนไทป์แบบ *GSTT1*-null ในกลุ่มควบคุม และกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งปากมดลูกคิดเป็น 40.4% และ 46.7% ตามลำดับ โดยพบว่าลักษณะจีโนไทป์แบบ *GST*-null ไม่เป็นปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งปากมดลูก ( $p>0.05$ ) อย่างไรก็ตาม พบว่าปัจจัยร่วมกันระหว่างลักษณะจีโนไทป์แบบ *GSTM1*-null กับ *GSTT1*-null มีแนวโน้มที่จะเพิ่มโอกาสเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งปากมดลูก 2.7 เท่า (95%CI=0.8-9.0,  $p=0.10$ )

นอกจากนี้ผู้วิจัยยังได้ทำการศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมของจีนที่เกี่ยวข้องกับการซ่อมแซมดีเอ็นเอ (DNA repair genes) ต่อการเกิดมะเร็งปากมดลูกโดยเลือกศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมของจีน XRCC1 จำนวน 2 ชนิด ได้แก่ Arg399Gln และ Arg194Trp ที่เกี่ยวข้องกับการซ่อมแซม BER และจีน XRCC3 (Thr241Met) ที่เกี่ยวข้องกับการซ่อมแซม DBS ในกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งปากมดลูกจำนวน 111 คน และกลุ่มอาสาสมัครที่มีสุขภาพดีจำนวน 118 คน ผลการศึกษาพบว่าลักษณะจีโนไทป์ของจีน XRCC1 194 แบบ Trp/Trp จะเพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งปากมดลูก 5.52 เท่า อย่างมีนัยสำคัญ (95%CI=1.14-26.64;  $p=0.03$ ) เมื่อศึกษาในกลุ่มที่ไม่พบการติดเชื้อ HPV พบว่า ลักษณะจีโนไทป์ของจีน XRCC1 399 แบบ 399Arg/Gln (adjusted OR=3.69; 95%CI=1.04-13.06;  $p=0.04$ ) และลักษณะจีโนไทป์ของจีน XRCC1 194 แบบ Arg/Trp (adjusted OR=4.13; 95%CI=1.13-15.12;  $p=0.03$ ) จะเพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งปากมดลูกอย่างมีนัยสำคัญเช่นกัน

จากผลการศึกษาแสดงว่าการติดเชื้อ HPV โดยเฉพาะ HPV-16 รวมทั้งพฤติกรรมทางเพศและการได้รับบุหรี่ทางอ้อม เป็นปัจจัยเสี่ยงที่สำคัญต่อการเกิดมะเร็งปากมดลูกของสตรีในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ลักษณะทางพันธุกรรมของจีน *GSTM1* and *GSTT1* ไม่น่าจะเกี่ยวข้องกับการเพิ่มความเสี่ยงของเกิดมะเร็งปากมดลูกอย่างมีนัยสำคัญในสตรีที่ได้รับบุหรี่ อย่างไรก็ตามลักษณะที่แตกต่างกัน ของลักษณะทางพันธุกรรมของจีนที่เกี่ยวข้องกับการซ่อมแซมดีเอ็นเอ อาจมีความสัมพันธ์กับการเพิ่มความเสี่ยงของการเกิดมะเร็งปากมดลูก ทั้งนี้น่าจะมีหลายปัจจัยเข้ามาเกี่ยวข้องในการพัฒนาเซลล์มดลูกที่ผิดปกติและนำไปสู่การเกิดมะเร็งปากมดลูกเมื่อมีการติดเชื้อ HPV ด้วย

## Abstract

Cervical cancer is still a serious national health problem in Thailand. High risk HPV infection, a major risk for the cancer, other risk factors than should be identified to reduce the new cases of the cancer. Relationships between cervical cancer and risk factors: behaviors, genetic as well as HPV infection were investigated in the women aged 27-74 years, patients with squamous cell cervical cancer (SCCA) and healthy controls without cervical abnormalities in Northeastern Thailand. The controls and cases were matched within 5-year age group.

Among 90 patients with squamous cell cervical cancer and 100 healthy controls, prevalence of high-risk group of HPV infection in the controls and the SCCA patients were 13.0% and 86.7%, respectively. The HPV infection significantly increased the risk for cervical cancer 43.5 -fold (95 % confidential interval: 17.5-110.6;  $p<0.00001$ ). Among HPV carrier patients with SCCA ( $n=78$ ), HPV-16 was also prominent (70.5%) followed by HPV-18 (23.1%). There was no statistical difference in the subtype distribution between the SCCA and the control groups. The relationships between HPV infection and *p53* codon 72 polymorphism, proline and arginine allele was studied. There was no significant association between genotype distribution of the *p53* codon 72 polymorphism and the HPV infection. In addition, there was no significant difference in allele and genotype distribution between the SCCA and the control groups ( $p>0.05$ ).

Relationships between cervical cancer and behavioral risk factor were studied. Significant difference was observed in the number of sexual partners ( $p<0.003$ ), age at the first sexual intercourse ( $p<0.03$ ) and number of partities ( $p<0.006$ ). After adjusted by age and *p53* genotype significant difference was still observed in the number of sexual partners ( $p<0.017$ ). The partners' smoking increased the risk to develop SCCA. Increased odd ratios were observed when the partner had smoking history both at present (3.31;  $p<0.003$ ) and in the past (3.36;  $p<0.003$ ). HPV infection was confirmed as a critical risk factor for the cervical cancer development while the *p53* codon 72 polymorphism itself may not be a risk factor for cervical cancer in Northeast Thailand. Since the polymorphism of the *p53* itself as well as in combination with HPV infection may not be a genetic risk for cervical cancer, much attention should be paid to other risk factors such as sexual behaviors and smoking.

Carcinogens have been detected in the cervical mucus of smokers, inhaled tobacco-derived components may damage smokers' cervical cellular DNA, not all smokers develop cervical cancer. The difference, therefore, in the metabolic efficiency of tobacco smoke pro-carcinogens is thought to be the individual's susceptibility to cervical cancer. Among the metabolizing enzymes, glutathione S-transferase (GST) is related to human phase I detoxification enzymes. Therefore, the relationships between genetic polymorphisms of the *GSTs* (*GSTM1* and *GSTT1*) and cervical cancer, the null genotype of each gene was studied in squamous cell cervical cancer (SCCA) patients ( $n=90$ ) and controls ( $n=94$ ).

The prevalence of the *GSTM1*-null genotype in the controls and SCCA patients was 59.6% and 60.0%, respectively, whereas those of the *GSTT1*-null genotype in the control and SCCA patients was 40.4% and 46.7%, respectively. Neither of the *GST*-null genotypes increased the risk for SCCA ( $p>0.05$ ); however, the combination of the *GSTM1* and *GSTT1*-null genotypes showed a trend to an increased risk for developing cervical cancer with adjusted OR=2.7 (95%CI=0.8-9.0,  $p=0.10$ ). Genetic polymorphism of *GSTM1* and *GSTT1* was not a significant risk for cervical cancer in either tobacco-smokers or non-smokers. A different contribution of the *GST* genotype to cancer risk may be attributed to a different, as yet undefined, property of the enzymes.

Since the influence of the polymorphisms of DNA repair genes on the development of cervical cancer was unknown, we have selected BER related *XRCC1* and DBS related *XRCC3* to test the contribution of their polymorphisms, *XRCC1* Arg399Gln and Arg194Trp and *XRCC3* Thr241Met, to develop cervical cancer. In this study, cases ( $n=111$ ) were defined as squamous cell cervical cancer and controls ( $n=118$ ) were recruited. The *XRCC1* 194Trp/Trp genotype significantly increased the risk for cervical cancer (OR=5.52; 95%CI=1.14-26.64;  $p=0.03$ ). Among the HPV infection negative group, significantly higher risks for SCCA were visualized for *XRCC1* 399Arg/Gln (adjusted OR=3.69; 95%CI=1.04-13.06;  $p=0.04$ ) and *XRCC1* 194Arg/Trp (adjusted OR=4.13; 95%CI=1.13-15.12;  $p=0.03$ ).

This study indicates HPV infection is identified as a critical risk factor, particular HPV-16 for the cervical cancer development in Northeast Thailand. To other risk factors such as sexual behaviors and smoking may serve as cofactors to increase risk for cervical carcinoma in the presence of HPV. The null genotype of phase I detoxification enzymes, *GSTM1* and *GSTT1*, did not increase the risk for SCCA in smokers. That variant types of DNA repair genes play partial roles in modifying individual susceptibility to cervical cancer. Since cervical cancer is a multifactorial disease, the contribution of repair enzymes if it ever exists to the development of cervical cancer is concealed by HPV infection.