

รหัสโครงการ: RSA43-8-0013, **ชื่อโครงการ :** ปัจจัยทางพันธุกรรมทางภูมิคุ้มกันที่มีผลต่อการเกิดโรคและการดำเนินโรคของการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง

ผู้ทำการวิจัย: ญัตติยา หิรัญกาญจน์, พิทยา คำมี, อิงอร กิมก, จันทน์ มโนนอม, พิสิฐ ตั้งกิจวานิชย์, ยง ภู่วรรณ คณะแพทยศาสตร์, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย **fmednpt@md.chula.ac.th**
ระยะเวลาโครงการ 15 สิงหาคม 2546-14 สิงหาคม 2549

จากหลักฐานการศึกษาในปัจจุบันพบว่าปัจจัยทางพันธุกรรมของผู้ป่วยโรคไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง โดยเฉพาะอย่างยิ่งยีนที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันมีบทบาทสำคัญในการเกิดโรคและการดำเนินของโรค จากการศึกษาของเราก่อนหน้านี้พบว่า ในกลุ่มผู้ที่เคยได้รับเชื้อไวรัสตับอักเสบบีและสามารถกำจัดเชื้อไวรัสได้เอง (จำนวน 100 คน) มีความถี่ของรูปแบบ HLA-DR13 สูงกว่าในกลุ่มผู้ป่วยโรคไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง (จำนวน 150 คน) ถึงแม้ว่าในประเทศไทยจะมีความถี่ของยีนนี้อยู่ต่ำก็ตาม (ร้อยละ 3) จากข้อมูลดังกล่าวแสดงให้เห็นความสำคัญของรูปแบบ HLA-DR13 ในการต้านทานการเกิดโรคไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังในประเทศไทยซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาในประชากรชาวผิวขาวและชาวแอฟริกัน ซึ่งแสดงให้เห็นบทบาทและความสำคัญของรูปแบบ HLA-DR13 นี้ต่อการกำจัดไวรัส ในการศึกษาความหลากหลายของไซโตไคน์ยีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการอักเสบ (Pro-inflammatory genes) ได้แก่ TNF-alpha (-863, -308 และ -238), IL-1 beta (-511) และ IL-1RA (VNTR) พบว่า รูปแบบ -863A ของยีน TNF-alpha และ -511C ของยีน IL-1 beta ซึ่งมีความสัมพันธ์กับการสร้างไซโตไคน์ที่เพิ่มสูงขึ้นในตับ สามารถนำมาใช้เป็นเครื่องหมายทางพันธุกรรมของการเกิดมะเร็งตับ (Hepatocellular carcinoma) ในประชากรไทยที่เป็นโรคไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง ปัจจุบันพบว่า T helper 1 cells มีบทบาทในการยับยั้งการเพิ่มจำนวนของไวรัส ผ่านกลไกที่ไม่ทำลายเซลล์ (non-cytolytic antiviral mechanism) โดยการสร้าง IFN-gamma และพบว่าไซโตไคน์ IL-12 และ IL-18 ที่สร้างจาก activated macrophages สามารถกระตุ้นการสร้าง IFN-gamma และ TNF alpha และช่วยเพิ่มความสามารถในการทำงานของ NK-cell และเพิ่มการแสดงออกของ FasL จากความสำคัญของไซโตไคน์ทั้ง 3 ชนิดดังกล่าว จึงสนใจศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายของยีนซึ่งมีผลต่อการแสดงออกของยีนกับความเสี่ยงในการเกิดโรคไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังในประเทศไทย จากการศึกษาไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของความหลากหลายของยีน IFN-gamma ที่ตำแหน่ง +874 ใน intron ที่ 1, ยีน IL-12 ที่ตำแหน่ง +1159 ใน 3' UTR และยีน IL-18 ที่ตำแหน่ง -137 ในบริเวณ promoter ระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มผู้ป่วย (จำนวน 140 คนต่อกลุ่ม) อย่างไรก็ตามพบว่าความถี่ของ genotypes AA ที่ตำแหน่ง -607 ใน promoter ของยีน IL-18 ในผู้ป่วยโรคไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การเปลี่ยนนิวคลีโอไทด์ที่ตำแหน่ง -607 จาก C เป็น A ซึ่งเปลี่ยนแปลง cyclic AMP-responsive element (CRE) consensus sequence ส่งผลให้การสร้าง IL-18 และ IFN-gamma ลดลง จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นถึงความสำคัญของ IL-18 กับความเสี่ยงในการเกิดโรคไวรัสตับอักเสบบี

คำสำคัญ โรคไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง, มะเร็งตับ, HLA-DR, TNF-alpha, IL-1 beta, IL-1RN, IL-10, IL-12, IL-18, IFN-gamma, ความหลากหลายของยีน

Project Code: RSA43-8-0013 **Project Title:** Immunogenetic factors influencing susceptibility and disease progression of chronic hepatitis B infection

Investigator: Nattiya Hirankarn, Pittaya Kummee, Ingorn Kimkong, Chantanee Manonom, Pisit Tangkijvanich, Yong Poovorawan; Faculty of Medicine; Chulalongkorn University

E-mail Address: fmednpt@md.chula.ac.th

Project Period: 15 August 2003-14 August 2006

Considerable evidence suggests that host genetic factor, especially genes related to immunity, might play an important role in the pathogenesis and clinical outcome of chronic hepatitis B virus (HBV) infection. We have previously reported that the frequency of HLA-DR13 in the 100 recovered patients was significantly higher than 150 chronic HBV patients. Although DR13 present with low frequency in Thai population (~3%), the protective role of DR13 can be clearly demonstrated in Thai population similar to Caucasian and African study supporting the important role of this HLA allele in clearing the virus. For the study of pro-inflammatory genes, three markers at position -863, -308, and -238 of TNF alpha gene and one marker each for IL-1 beta (-511) and IL-1RA (VNTR) were analyzed. We found that the TNF-alpha-863A allele and IL-1B-511C allele which is likely to be associated with high cytokine production in liver, is a genetic marker for HCC development in chronic hepatitis B patients in Thai population. There are growing evidences that T helper 1 cells play a predominant role in suppressing viral replication mainly by IFN-gamma through noncytolytic antiviral mechanism. IL-12 and IL-18 are novel cytokines that are mainly produced by activated macrophages and are able to induce IFN-gamma and TNF-alpha, as well as enhancing the cytotoxicity of NK cells and FasL expression. Therefore, polymorphisms within these 3 cytokine genes, previously reported to affect expression level were analyzed for the association with chronic HBV susceptibility in this study. There was no significant difference in the genotype distribution or allele frequency of +874 SNP in the first intron of IFN gamma gene, +1159 SNP in 3'UTR of IL-12 gene and -137 SNP in the promoter region of IL-18 gene between controls and patients. However, chronic HBV patients had significantly higher frequency of AA genotype at position -607 in the promoter region of IL-18 gene when compared with healthy individuals. In the promoter of IL-18 gene, a change from nucleotide C to A at -607 position disrupts the cyclic AMP-responsive element (CRE) consensus sequence and results in markedly lower transcription activity of IL-18 and potentially also to IFN-gamma. This result suggests the concrete involvement between IL-18 and susceptibility to HBV.

Keywords Chronic hepatitis B, Hepatocellular carcinoma, HLA-DR, TNF-alpha, IL-1 beta, IL-1RN, IL-10, IL-12, IL-18, IFN-gamma, polymorphism