ความแตกต่างของการเกิดพอลีมอร์ฟิซึมของยีนไอพีเทนในกลุ่มผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีชนิดสายพันธุ์ที่ 1 ที่ตอบสนองและไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาเพ็กกีเลตเต็ดอินเตอร์เฟียรอนและไรบาวิริน

นางสาวเกศรินทร์ ถานะภิรมย์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาอายุรศาสตร์ ภาควิชาอายุรศาสตร์
คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2556
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

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.

DIFFERENCE OF IP-10 GENES' POLYMORPHISM BETWEEN TREATMENT RESPONDER AND NON-RESPONDER PATIENTS WITH CHRONIC HEPATITIS C GENOTYPE 1 INFECTION USING PEGYLATED INTERFERON AND RIBAVIRIN

Miss Kessarin Thanapirom

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

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 2013

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ความแตกต่างของการเกิดพอลีมอร์ฟิซึมของยีนไอพีเทนในกลุ่มผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีชนิดสายพันธุ์ที่ 1 ที่ตอบสนองและไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาเพ็กกีเลตเต็ดอินเตอร์เฟียรอนและไรบาวิริน
โดย	นางสาวเกศรินทร์ ถานะภิรมย์
สาขาวิชา	อายุรศาสตร์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ ดร. ปิยะวัฒน์ โกมลมิศร์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	ศาสตราจารย์ นายแพทย์ ยง ภู่วรวรรณ ศาสตราจารย์ นายแพทย์ พิสิฐ ตั้งกิจวานิชย์

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

.....คณบดีคณะแพทยศาสตร์

(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ โศภณ นภาธร)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ

(ศาสตราจารย์ นายแพทย์ ดร. ประวิตร อัศวานนท์)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ ดร. ปิยะวัฒน์ โกมลมิศร์)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(ศาสตราจารย์ นายแพทย์ ยง ภู่วรวรรณ)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(ศาสตราจารย์ นายแพทย์ พิสิฐ ตั้งกิจวานิชย์)

.....กรรมการ

(นายแพทย์ ยุทธชัย ลิขิตเจริญ)

.....กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย

(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ ทวีศักดิ์ แทนวันดี)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

เกศรินทร์ ถานะภิรมย์ : ความแตกต่างของการเกิดพอลีมอร์ฟิซึมของยีนไอพีเทนในกลุ่มผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีชนิดสายพันธุ์ที่ 1 ที่ตอบสนองและไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาเพ็กกีเลตเต็ดอินเตอร์เฟียรอนและไรบาวิริน. (DIFFERENCE OF IP-10 GENES' POLYMORPHISM BETWEEN TREATMENT RESPONDER AND NON-RESPONDER PATIENTS WITH CHRONIC HEPATITIS C GENOTYPE 1 INFECTION USING PEGYLATED INTERFERON AND RIBAVIRIN) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: ผศ. นพ. ดร. ปิยะวัฒน์ โกมลมิศร์, อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม: ศ. นพ. ยง ภู่วรวรรณ, ศ. นพ. พิสิฐ ตั้งกิจวานิชย์, 69 หน้า.

ความสำคัญและที่มาของปัญหางานวิจัย โรคไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรังชนิดสายพันธุ์ที่ 1มีการตอบสนองต่อการรักษาที่ยังไม่ดีนัก หนึ่งในปัจจัยที่มีข้อมูลเพิ่มมากขึ้นว่ามีผลต่อการรักษาคือระดับของ interferon-gamma-inducible protein-10 (IP-10, CXCL10) และ dipeptidyl peptidase-4 (DPP4, CD26) ก่อนการรักษา ความน่าสนใจคือมีการเกิดโพลีมอร์ฟิซึมบางตำแหน่งของยีน CXCL10 และ DPP4 ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงการทำงานของ IP-10 และ DPP4

วัตถุประสงค์ เพื่อที่จะศึกษาความแตกต่างของการเกิดโพลีมอร์ฟิซึมของยีน CXCL10 และ DPP4 ในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรังชนิดสายพันธุ์ที่ 1 ที่หายและไม่หายจากการรักษาด้วยยาเพ็กกีเลตเต็ดอินเตอร์เฟียรอนและไรบาวิริน

ระเบียบวิธีการวิจัย ผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรังชนิดสายพันธุ์ที่ 1 รักษาด้วยยาเพ็กกีเลตเต็ดอินเตอร์เฟียรอนและไรบาวิรินและทราบผลการรักษาแล้วจะได้รับการตรวจหา genotype ของยีน CXCL10 ที่ตำแหน่ง rs56061981 G>A และยีน DPP4 ที่ตำแหน่ง rs13015258 A>C, rs17848916 T>G และ rs41268649 G>A ในจำนวนนี้ผู้ป่วยทั้งสิ้น 80 ราย (40 รายหายจากการรักษา 40 รายไม่หายจากการรักษา) มีการตรวจระดับของซีรัม DPP4 หรือ solubleCD26 (sCD26) เพิ่มเติม

ผลการวิจัย ผู้ป่วยทั้งสิ้น 262 รายเข้าร่วมงานวิจัยนี้ โดย 136 ราย (ร้อยละ 51.9) หายจากการรักษา การเกิดโพลีมอร์ฟิซึมของยีน CXCL10 rs5606198 แบบ G/A หรือ A/A genotype ในผู้ป่วยที่หายไม่แตกต่างจากผู้ป่วยที่ไม่หาย (ร้อยละ 25.7 และ 23.8 ตามลำดับ p=0.72) เช่นเดียวกับการเกิดโพลีมอร์ฟิซึมของยีน DPP4 ที่อีก 3 ตำแหน่งก็ไม่มีความแตกต่างกันระหว่างผู้ป่วยที่หายและไม่หายจากการรักษาด้วยยาสูตรมาตรฐานนี้ ค่ามัธยฐานของระดับ sCD26 ในผู้ป่วยที่ไม่หายเท่ากับ 700 ng/ml ซึ่งสูงกว่าผู้ป่วยที่หายที่มีระดับ sCD26 เท่ากับ 676 ng/ml แต่ทั้งนี้ไม่พบความแตกต่างทางสถิติ ผู้ป่วยที่มี DPP4 rs13015258 genotype A/A มีระดับ sCD26 สูงกว่า C/C genotype (749 vs. 585 ng/ml, p=0.006) และจากการวิเคราะห์โดยใช้สถิติแบบพหุตัวแปรพบว่าการมีพังผืดในตับตั้งแต่ระยะที่สองขึ้นไปเป็นตัวแปรที่สำคัญในการไม่หาย (Odds ratio = 3.67, 95% confidence interval = 1.78 – 7.57, $p < 0.05$)

สรุป การเกิดโพลีมอร์ฟิซึมของยีน CXCL10 ที่ตำแหน่ง rs56061981 และยีน DPP4 ที่ตำแหน่ง rs13015258, rs17848916, rs41268649 ในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรังชนิดสายพันธุ์ที่ 1 ระหว่างผู้ป่วยที่หายและไม่หายจากการรักษาด้วยยาเพ็กกีเลตเต็ดอินเตอร์เฟียรอนและไรบาวิรินนั้นไม่มีความแตกต่างกัน แสดงให้เห็นว่าระดับของ IP-10 และ DPP4 ในซีรัมก่อนการรักษาที่มีผลต่อการหายนั้นไม่ได้เกี่ยวข้องกับการผันแปรในระดับยีน

ภาควิชา อายุรศาสตร์ ลายมือชื่อนิสิต .....

สาขาวิชา อายุรศาสตร์ ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก .....

ปีการศึกษา 2556 ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม .....

ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม .....

5574111030 : MAJOR MEDICINE
KEYWORDS: CHRONIC HEPATITIS C GENOTYPE 1 / SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISMS (SNPS) / IP-10 / DPP4 / TREATMENT RESPONSE

KESSARIN THANAPIROM: DIFFERENCE OF IP-10 GENES' POLYMORPHISM BETWEEN TREATMENT RESPONDER AND NON-RESPONDER PATIENTS WITH CHRONIC HEPATITIS C GENOTYPE 1 INFECTION USING PEGYLATED INTERFERON AND RIBAVIRIN. ADVISOR: ASST. PROF. PIYAWAT KOMOLMIT, M.D., CO-ADVISOR: PROF. YONG POOVORAWAN, M.D., PROF. PISIT TANGKIJVANICH, 69 pp.

Background There is increasing evidence that pretreatment serum interferon-gamma-inducible protein-10 (IP-10, CXCL10) and dipeptidyl peptidase-4 (DPP4, CD26) levels predict treatment response in chronic hepatitis c virus (HCV) genotype 1 infection. The association between functionally genetic polymorphism of CXCL10 or DPP-4 gene and treatment outcome has not been studied before.

Objective To determine the association between the genetic variation of the CXCL10, DPP4 gene and outcome of treatment with pegylated interferon-alpha (PEG-IFN-α) and ribavirin (RBV) therapy in patients with chronic HCV infection.

Methods Patients with chronic HCV genotype 1 infection treated with PEG-IFN-α based regimen were genotyped for CXCL10 rs56061981 G>A, DPP4 (rs13015258 A>C, rs17848916 T>G and rs41268649 G>A). Eighty patients (40 patients from treatment responder group and 40 patients from treatment non-responder group) were evaluated for serum DPP4 or soluble CD 26 (sCD26).

Results Total 262 patients were enrolled. Of these, 136 patients (51.9%) achieved sustained virologic response (SVR). Single nucleotide polymorphism (SNP) of CXCL10 rs56061981 G/A and A/A genotype was not different between chronic HCV genotype 1 infected patients who had SVR and non-SVR (25.7% vs. 23.8%, p=0.72). Also, there was no difference of the polymorphisms of DPP4 gene (rs13015258 A>C, rs17848916 T>G and rs41268649 G>A) between patients with SVR and non-SVR. Median serum sCD26 in patients with non-SVR was higher than patients with SVR but no statistical significant (700 vs. 676 ng/ml, p=0.67). Chronic HCV genotype 1 infected patient with DPP4 rs13015258 A/A genotype had higher serum sCD26 compared with C/C genotype (749 vs. 585 ng/ml, p=0.006). Multivariate analysis revealed advance liver fibrosis (fibrosis stage 2-4) was predictor of poor treatment outcome (Odds ratio = 3.67, 95% confidence interval = 1.78 – 7.57, $p < 0.05$).

Conclusions The difference of functional SNPs of CXCL10 rs56061981 and DPP4 gene (rs13015258 , rs17848916 and rs41268649) dose not affect treatment outcome in patients with chronic HCV genotype 1 infection using PEG-IFN-α and RBV. Affecting of serum IP-10 and DPP4 with treatment response is not associated with functional genetic variation.

Department: Medicine	Student's Signature .....
Field of Study: Medicine	Advisor's Signature .....
Academic Year: 2013	Co-Advisor's Signature .....
	Co-Advisor's Signature .....

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดีด้วยความช่วยเหลือของ ผศ.นพ.ดร. ปิยะวัฒน์ โกมลมิศร์

ที่ให้คำแนะนำและคำปรึกษาในการทำวิจัย ขอขอบคุณ ศ.นพ. ยง ภู่วรวรรณ อาจารย์ประจำ ศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะทางด้านไวรัสวิทยาคลินิก ภาควิชากุมารเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และ ศ.นพ. พิสิฐ ตั้งกิจวานิชย์ อาจารย์ประจำภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ขอขอบคุณ คุณพนารัตน์ ไทยใหม่ คุณ ศิรินพร สุขสวัสดิ์อำนวย คุณ วรัทยา ศักรินทร์ เจ้าหน้าที่หน่วยปฏิบัติการวิจัยโรคตับ ที่ช่วยซักประวัติ และเก็บข้อมูลผู้ป่วยเป็นอย่างดี

ขอขอบพระคุณอาสาสมัครทุกท่านที่ให้ความร่วมมืออย่างดี

สุดท้าย ขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา พี่สาว ที่เป็นกำลังใจที่สำคัญ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ

กิตติกรรมประกาศ ..... ฉ

สารบัญ ..... ช

สารบัญตาราง 1

สารบัญภาพ 2

สารบัญแผนภูมิ 3

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ 4

บทที่ 1 5

บทนำ 5

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย (Background and rationale) 5

1.2. คำถามของการวิจัย (Research question(s)) 6

1.3 วัตถุประสงค์การวิจัย (Objective) 6

1.4 สมมุติฐาน (Hypothesis) 7

1.5 กรอบแนวความคิดในการวิจัย (Conceptual framework) 8

1.6 วิธีดำเนินการวิจัยโดยย่อ 8

1.7 ข้อจำกัดในการวิจัย (limitation) 9

1.8 ผลประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย (Expected and Application) 9

บทที่ 2 10

ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง 10

บทที่ 3 22

วิธีการดำเนินงาน 22

รูปแบบการวิจัย 22

ระเบียบวิธีการวิจัย 22

การให้คำนิยามเชิงปฏิบัติที่ใช้ในการวิจัย 22

เกณฑ์การคัดเลือกเข้ามาศึกษา (Inclusion criteria) 23

เกณฑ์การคัดเลือกออกจากการศึกษา (Exclusion criteria) 24

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

หน้า

การคำนวณขนาดตัวอย่าง (Sample size determination) 24
ขั้นตอนในการดำเนินการวิจัย 25
การรวบรวมข้อมูล (Data collection) 26
การวิเคราะห์ข้อมูล 26
ปัญหาทางจริยธรรม 26
ข้อจำกัดในการวิจัย 27
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย (Expected and Application) 27
อุปสรรคที่ผู้วิจัยคาดว่าจะเกิดขึ้นและมาตรการในการแก้ไข (Obstacles and strategies to solve the problems) 27
การบริหารการวิจัยและตารางการปฏิบัติงาน 28
งบประมาณรายจ่ายของโครงการวิจัย 29
บทที่ 4 30
ผลการวิจัย 30
บทที่ 5 43
อภิปรายผลและข้อเสนอแนะ 43
รายการอ้างอิง 46
ภาคผนวก ก 56
ข้อมูลสำหรับผู้เข้าร่วมโครงการวิจัย 56
ภาคผนวก ข 62
ใบยินยอมเข้าร่วมการศึกษาวิจัย 62
ภาคผนวก ค 65
แบบบันทึกข้อมูล 65
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์ 69

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 แสดง Polymorphism ของยีน *CXCL10* และ *DPP4* ที่ทำการศึกษา.....7

ตารางที่ 2 แสดงปัจจัยที่มีผลต่อกาหายของโรคไวรัสตับอักเสบซีที่ได้รับการรักษา.....16

ตารางที่ 3 แสดงผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรังสายพันธ์ 1 ที่เข้าร่วมการศึกษา.....30

ตารางที่ 4 แสดงข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรังสายพันธ์ 1.....31

ตารางที่ 5 แสดงความชุกและความแตกต่างของการเกิดโพลีมอร์ฟิซึมของยีน *CXCL10* ที่ตำแหน่ง rs 56061981 33

ตารางที่ 6 แสดงความชุกและความแตกต่างของการเกิดโพลีมอร์ฟิซึมของยีน *DPP4* ที่ตำแหน่ง rs13015258, rs17848916, rs41268649.....35

ตารางที่ 7 แสดงการเกิดโพลีมอร์ฟิซึมของยีน *DPP4* และระดับของซีรัมDPP4.....37

ตารางที่ 8 แสดงการเกิดโพลีมอร์ฟิซึมของยีน CXCL10 ยีน DPP4 และการตรวจพบ HCV-RNA ที่สัปดาห์ที่ 4 หลังการรักษา (Rapid virologicresponse).....39

ตารางที่ 9 แสดงการเกิดโพลีมอร์ฟิซึมของยีน IP-10 ยีน DPP4 และการตรวจพบ HCV-RNA ที่สัปดาห์ที่ 12 หลังการรักษา (Early virologic response).....40

ตารางที่ 10 แสดงการเกิดโพลีมอร์ฟิซึมของยีน IP-10 ยีน DPP4 และการตรวจพบ HCV-RNA ที่สัปดาห์สุดท้ายหลังการรักษา (End-of-treatment response).....41

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1 แสดงความชุกและความหลากหลายของลักษณะทางพันธุกรรม (genotype) ของผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรังทั่วโลก.....11

ภาพที่ 2 แสดงโครงสร้างของเชื้อไวรัสตับอักเสบซี.....12

ภาพที่ 3 แสดงการกระตุ้นและตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกัน โดยการทำงานของ autocrine และ paracrine ในภาวะติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซี.....13

ภาพที่ 4 แสดงการออกฤทธิ์ของ interferon alpha ต่อการยับยั้งการ replication ของไวรัสตับอักเสบซี.....15

ภาพที่ 5 แสดงกลไกของยา ribavirin ต่อการต่อต้านเชื้อไวรัสตับอักเสบซี.....16

ภาพที่ 6 แสดงกลไกการออกฤทธิ์ของ DPP4 ต่อ IP-10 ในการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซี.....21

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

สารบัญแผนภูมิ

หน้า

แผนภูมิที่ 1 แสดงความแตกต่างของการเกิด Single nucleotide polymorphism G/A หรือ A/A ที่ตำแหน่ง rs 56061981 ของยีน*CXCL10*.....34

แผนภูมิที่ 2 แสดงระดับของซีรัม DPP4 ในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีสายพันธุ์ที่ 1 จำนวน 80 คน.....36

แผนภูมิที่ 3 แสดงระดับของซีรัม DPP 4 และการโพลีมอร์ฟิซึมของยีน *DPP4* ที่ตำแหน่ง rs13015258.....38

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

SNP	Single nucleotide polymorphism
SVR	Sustained virologic response
RVR	Rapid virologic response
EVR	Early virologic response
ETR	End-of-treatment virologic response
HCV	Hepatitis C virus
CHC	Chronic hepatitis

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย (Background and rationale)

ในปัจจุบันการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซี เป็นปัญหาสำคัญทางสาธารณสุขของประเทศไทยและทั่วโลก การรักษามาตรฐานในปัจจุบันคือการใช้ยาเพ็กกีเลตเต็ดอินเตอร์เฟียรอน (Pegylated interferon: PEG-IFN) และไรบาวิริน (Ribavirin) จากการศึกษาที่ในอดีตเริ่มมีข้อมูลที่น่าสนใจมากขึ้นว่าลักษณะทางพันธุกรรมบางอย่างโดยเฉพาะอย่างยิ่งความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์ (nucleotide) ในสายดีเอ็นเอ (DNA) เพียง 1 ตำแหน่งหรือที่เรียกว่า Single nucleotide polymorphisms (SNPs) ส่งผลต่อการแสดงออกของยีน และเป็นปัจจัยที่มีผลต่อการตอบสนองต่อการรักษาในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรัง

เมื่อมีการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซี ระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายจะมีปฏิกิริยาตอบสนองผ่านในหลายๆ กระบวนการเพื่อกระตุ้น T lymphocyte โดยหนึ่งในกระบวนนี้อาศัยสารเคมีที่เรียกว่า chemokine จากหลักฐานการศึกษาต่างๆ ที่ผ่านมาในอดีตพบว่า Interferon-gamma-inducible protein 10 (IP-10 หรือ CXCL10) เป็น chemokine ที่สำคัญของการตอบสนองจากภูมิคุ้มกันต่อการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซี พบว่าระดับของ IP-10 ในซีรัมที่ต่ำมีความสัมพันธ์กับการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาสูตรมาตรฐานในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีที่มากขึ้น[1-3] ซึ่งความสัมพันธ์นี้ยังเป็นที่สงสัยว่าเหตุใดระดับ IP-10 ที่น้อยซึ่งน่าจะทำให้การกระตุ้นภูมิคุ้มกันในร่างกายลดลงจึงทำให้ผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีหายมากขึ้น จนนำไปสู่การค้นคว้าหาคำตอบในการศึกษาต่างๆ และพบว่าระดับซีรัม IP-10 ถูกเปลี่ยนแปลงโครงสร้างโดยโปรตีนตัวหนึ่งไปทำให้ IP-10 ไม่สามารถทำหน้าที่ได้เหมือนเดิม โปรตีนนี้มีชื่อว่า Dipeptidyl Peptidease IV (DPP IV, CD26)[4] สอดคล้องกับข้อมูลในปัจจุบันที่พบว่าระดับของซีรัม DPP4 ที่ลดลงสัมพันธ์กับผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีหายมากขึ้น หลักฐานต่างๆ ยังบ่งชี้ว่าการเกิด SNPs ของยีน *CXCL10* และ *DPP4* ส่งผลต่อการทำงานของ IP-10 และ DPP4 และยังมีความสำคัญในผู้ป่วยบางโรค เช่น ผู้ป่วยที่เป็นพาหะไวรัสตับอักเสบบี[5] การเกิด SNPs ของยีน *CXCL10* และ *DPP4* ส่งผลให้มีการดำเนินโรคมากกว่าผู้ป่วยที่ไม่เกิด SNPs

ในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีเองยังไม่เคยมีการศึกษาถึงผลของการเกิด SNPs ของยีน 2 ตัวนี้ต่อผลการรักษามาก่อน และจากเหตุผลที่กล่าวมาข้างต้น จึงเป็นที่มาของการศึกษานี้เพื่อที่จะศึกษาถึงการเกิด SNPs ของยีน *CXCL10* และ *DPP4* ในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรังชนิดสายพันธุ์ที่ 1 ที่

ได้รับการรักษาด้วยยาเพ็กกีเลตเต็ดอินเตอร์เฟียรอนและไรบาวิรินในผู้ป่วยที่ตอบสนองต่อการรักษาว่ามีความแตกต่างกับผู้ป่วยที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษาหรือไม่

1.2. คำถามของการวิจัย (Research question(s))

คำถามหลัก (Primary research question)

ความแตกต่างอย่างสมบูรณ์ของเปอร์เซนต์การเกิด SNPs ของยีน *CXCL10* ในกลุ่มผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรังชนิดสายพันธุ์ที่ 1 ที่ตอบสนองและไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาเพ็กกีเลตเต็ดอินเตอร์เฟียรอนและไรบาวิรินมีความแตกต่างกันเท่ากับ 12.5 เปอร์เซ็นต์หรือไม่

คำถามรอง (Secondary research question)

1. ความแตกต่างอย่างสมบูรณ์ของเปอร์เซนต์การเกิด SNPs ของยีน *DPP4* และระดับซีรัม DPP4 ในกลุ่มผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีชนิดสายพันธุ์ที่ 1 ที่ตอบสนองและไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาเพ็กกีเลตเต็ดอินเตอร์เฟียรอนและไรบาวิรินมีความแตกต่างกันหรือไม่
2. การเกิด SNPs ของยีน *DPP4* มีความสัมพันธ์กับ ระดับซีรัม DPP4 หรือไม่
3. เปอร์เซ็นต์ของการเกิด SNPs ของยีน *DPP4* *IP-10* และระดับซีรัม DPP4 มีความสัมพันธ์กับระดับไวรัส (viral kinetic) ระหว่างการรักษาด้วยยาเพ็กกีเลตเต็ดอินเตอร์เฟียรอนและไรบาวิรินหรือไม่

1.3 วัตถุประสงค์การวิจัย (Objective)

Primary endpoint : เพื่อจะศึกษาถึงความแตกต่างอย่างสมบูรณ์ของเปอร์เซนต์การเกิด SNPs ของยีน *CXCL10* ในกลุ่มผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีชนิดสายพันธุ์ที่ 1 ที่ตอบสนองและไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาเพ็กกีเลตเต็ดอินเตอร์เฟียรอนและไรบาวิรินว่าแตกต่างเท่ากับ 12.5 เปอร์เซ็นต์

Secondary endpoint :

1. ศึกษาถึงความแตกต่างอย่างสมบูรณ์ของเปอร์เซนต์การเกิด SNPs ของยีน *DPP4* และระดับซีรัม DPP4 มีในกลุ่มผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีชนิดสายพันธุ์ที่ 1 ที่ตอบสนองและไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาเพ็กกีเลตเต็ดอินเตอร์เฟียรอนและไรบาวิริน
2. ศึกษาถึงความสัมพันธ์ของ การเกิด SNPs ของยีน *DPP4* กับ ระดับซีรัม DPP4

3. ศึกษาถึงเปอร์เซ็นต์ของการเกิด SNPs ของยีน *DPP4 IP-10* และระดับซีรัม DPP4 มีความสัมพันธ์กับระดับไวรัส (viral kinetic) ระหว่างการรักษาด้วยยาเพ็กกีเลตเต็ดอินเตอร์เฟียรอนและไรบาวิรินหรือไม่

** SNPs ของยีน *CXCL10* และ *DPP4* แสดงในตารางที่ 1

ตารางที่1 Polymorphism of IP-10 and DPP4 gene

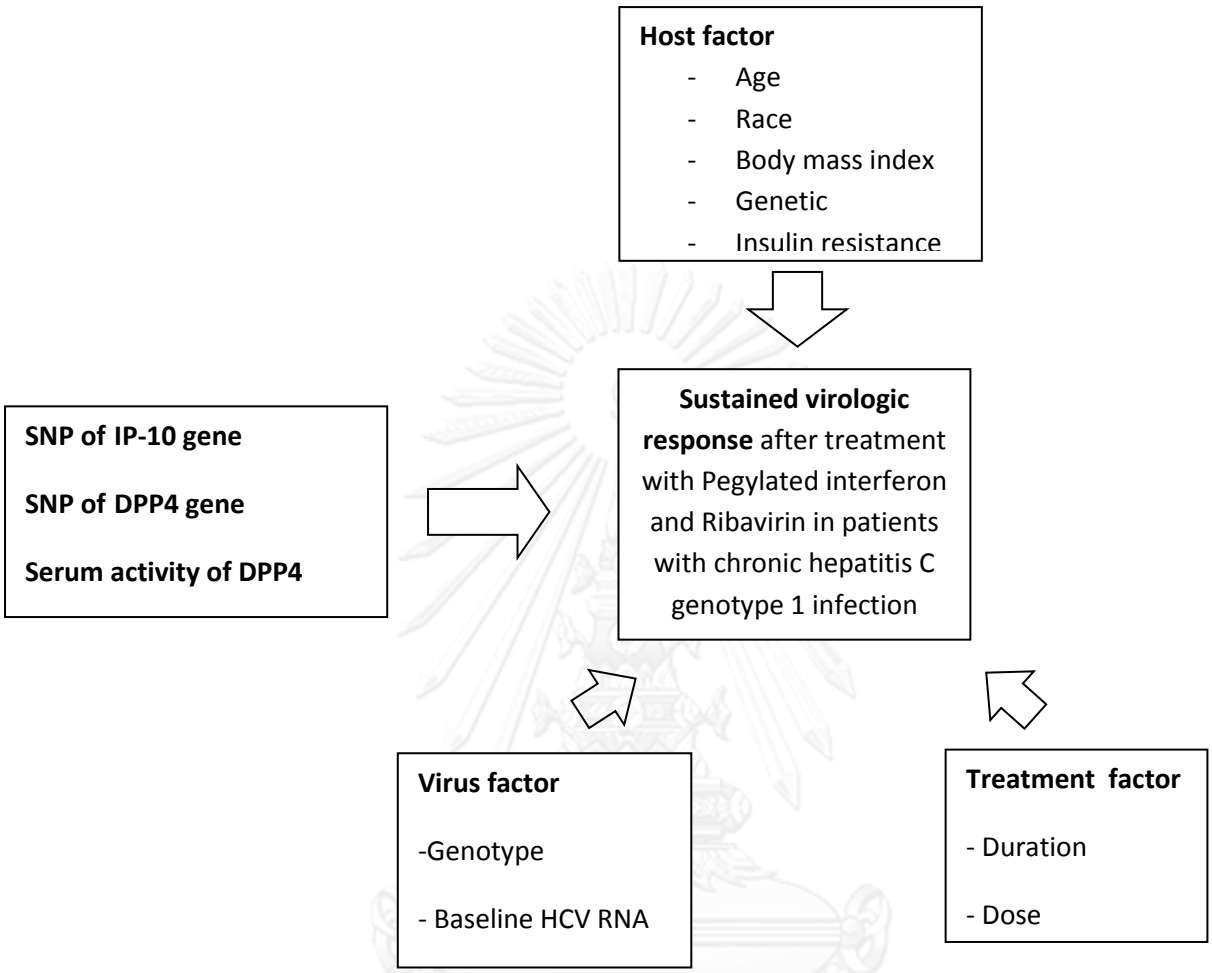
Gene	SNP (rs)	Localization	Method	Reference
IP-10	rs 56061981	G-201A	RFLP	[5]
DPP4	rs13015258	c.-234 A>C (5'UTR)	RFLP	[6,7]
	rs17848916	c.24 T>G (p.L7L)	RFLP	
	rs41268649	c.1926 G>A	RFLP	

1.4 สมมุติฐาน (Hypothesis)

การเกิด single nucleotide polymorphism ของยีน *CXCL10* มีความแตกต่างกันในกลุ่มผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรังชนิดสายพันธุ์ที่ 1 ที่ได้รับการรักษาด้วยยาเพ็กกีเลตเต็ดอินเตอร์เฟียรอนและไรบาวิริน

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

1.5 กรอบแนวความคิดในการวิจัย (Conceptual framework)



1.6 วิธีดำเนินการวิจัยโดยย่อ

ผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีชนิดสายพันธุ์ที่ 1 ที่มีอายุ 20-70 ปีที่ได้รับการรักษาด้วยยาเพ็กกีเลตเต็ดอินเตอร์เฟียรอนและไรบาวิรินครบตามการรักษามาตรฐานและทราบผลการรักษาโดยดูจากระดับไวรัสตับอักเสบซีที่ 24 สัปดาห์หลังหยุดยาจากนั้นส่งเลือดผู้ป่วยเพื่อตรวจดีเอ็นเอและเก็บซีรัมไว้ตรวจ serum DPP4 จากนั้นตรวจหา Single nucleotide polymorphism ของยีน *CXCL10* และ *DPP4* ที่ตำแหน่งต่างๆโดยวิธี polymerase chain reaction (PCR) และ restrict fragment length polymorphism (RFLP)

1.7 ข้อจำกัดในการวิจัย (limitation)

1. กลุ่มผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรังชนิดสายพันธุ์ที่ 1 โดยเฉพาะกลุ่มที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษา เป็นกลุ่มที่พบไม่บ่อยจึงจำเป็นต้องหาผู้ป่วยจากโรงพยาบาลอื่นเพื่อให้จำนวนครบตามที่คำนวณไว้

2. จากฐานข้อมูลของ SNPs ต่างๆ ของยีนในโรคต่างๆ ในแต่ละเชื้อชาติยังมีจำกัดอยู่ ดังนั้นการศึกษาวิจัยเรื่อง SNPs จึงจำเป็นต้องใช้จำนวนตัวอย่างที่มากพอจึงจะเห็นความสัมพันธ์ได้ เช่นเดียวกับ การเลือก SNPs ที่จะมาศึกษาควรมีข้อมูลสนับสนุนที่ดีพอ

1.8 ผลประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย (Expected and Application)

การศึกษาความแตกต่างของลักษณะทางพันธุกรรมของยีน *CXCL10* และ *DPP4* จึงมีความสำคัญที่อาจจะอธิบายความเกี่ยวเนื่องต่อผลการรักษาไวรัสตับอักเสบซีชนิดสายพันธุ์ที่ 1 และอาจจะนำมาสู่การใช้เพื่อทำนายและส่งเสริมการรักษาโรคนี้ได้ในอนาคต

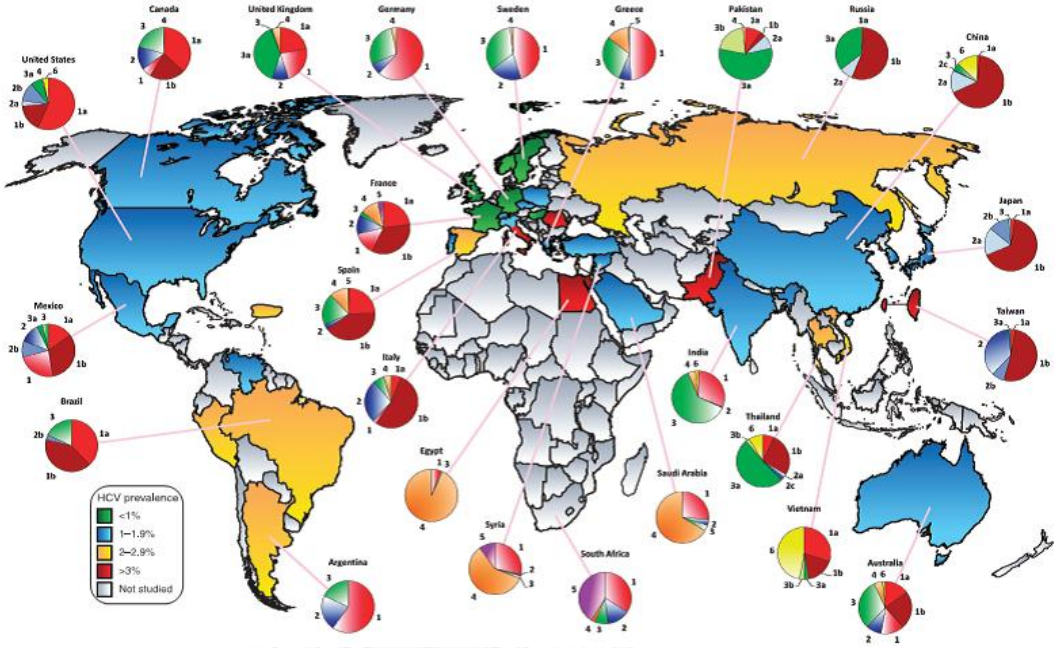
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 2

ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

การติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรังเป็นปัญหาทางสาธารณสุขระดับโลก อุบัติการณ์โดยเฉลี่ยทั่วโลกประมาณ 160 ล้านคน หรือคิดเป็น 3% ของประชากรโลก[8-10] ไวรัสตับอักเสบซีมีอย่างน้อย 6 genotypes (genoytype 1 ถึง 6) ซึ่งในแต่ละประเทศก็จะมีความหลากหลายของ genotype ต่างๆ ของเชื้อไวรัสตับอักเสบซีดังแสดงในภาพที่ 1 ประเทศไทยมีผู้ป่วยไวรัสซีโดยเฉลี่ยประมาณ 2% ของประชากร และมีความชุกประมาณ 0.5%[11] มีการกระจายของลักษณะ Genotype ของไวรัสซีแตกต่างกันในแต่ละภูมิภาค โดย genotype ที่พบบ่อยจากมากไปหาน้อยคือ 3, 1, 6 และ 4 ผู้ป่วยจำนวนอย่างน้อย 1 ล้านคนในประเทศไทยอยู่ในระยะตับอักเสบเรื้อรังที่ควรได้รับการรักษา ปัจจัยเสี่ยงต่อการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซีได้แก่ การใช้ยาเสพติดฉีดเข้าเส้นเลือด (injection venous drug use: IVDU) การได้รับเลือดก่อนปี ค.ศ. 1992 การติดต่อทางเพศสัมพันธ์โดยเฉพาะผู้ชายรักร่วมเพศ (Homosexual men) หรือ iatrogenic transmission เช่นจากการ dialysis[12-15] การติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรังสัมพันธ์กับภาวะการอักเสบของตับ (Hepatic inflammation) และการเกิดผังผืดในตับ (Hepatic fibrosis) เป็นหนึ่งในสาเหตุที่สำคัญของการเกิดโรคตับเรื้อรัง (Chronic liver disease) โดยพบว่า 10-40% ของผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรังจะเกิดภาวะตับแข็ง (Liver cirrhosis) อุบัติการณ์ของการตายจากภาวะแทรกซ้อนจากโรคตับแข็งพบประมาณ 4% ต่อปี[16] นอกจากนี้พบว่าผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีมีอุบัติการณ์ของการเกิดมะเร็งตับ (Hepatocellular carcinoma) ประมาณ 1-5% ต่อปี[17]

การรักษามาตรฐานผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรังในปัจจุบันคือการรักษาด้วยยาฉีดเข้าใต้ผิวหนัง Pegylated-inteferon และยาชนิดรับประทาน ribavirin ประมาณ 24-48 สัปดาห์ เป้าหมายในการรักษาคือหายจากการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซี ซึ่งในทางคลินิกการหายนี้หมายถึง Sustained virologic response (SVR) ซึ่งนิยามว่าคือการตรวจไม่พบระดับของ HCV RNA (< 50 IU/ml) ที่ 24 สัปดาห์หลังจากหยุดรักษาด้วยยาสูตรมาตรฐาน โดยเฉลี่ยการหายด้วยยาสูตรมาตรฐานในทุกสายพันธุ์ของไวรัสตับอักเสบซีอยู่ที่ประมาณ 60 เปอร์เซ็นต์ ถ้าแยกพิจารณาตาม genotype พบว่า genotype 1 เป็นgenotype ที่รักษายากที่สุด โดยพบ SVR หลังการรักษาประมาณ 40 – 50 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ genotype 4, 5, 6 โดย SVR ประมาณ 65 – 85 เปอร์เซ็นต์ และ genotype ที่ตอบสนองต่อการรักษาดีที่สุดคือ genotype 2 หรือ 3 ซึ่ง SVR ประมาณ 75 – 80 เปอร์เซนต์[18,19]

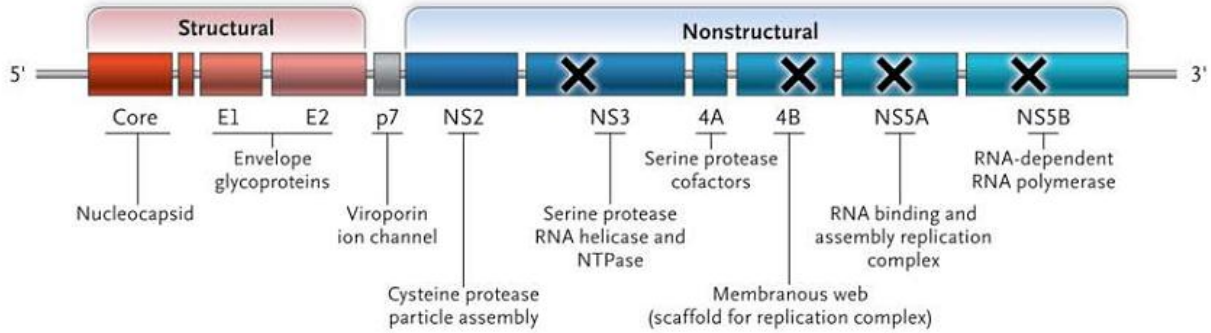


<u>ภาพที่ 1</u> แสดงความชุก (Prevalence)และความหลากหลายของลักษณะทางพันธุกรรม (genotype)ของผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรังทั่วโลก[9]

การหายจากการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซีขึ้นอยู่กับปัจจัยสำคัญ 3 ด้านได้แก่ ปัจจัยด้านไวรัส ปัจจัยด้านวิธีการรักษา และสุดท้ายปัจจัยของตัวผู้ป่วยเองทั้งทางด้านภูมิต้านทาน ลักษณะทางพันธุกรรมกำลังเป็นที่สนใจของนานาชาติมากขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งการเกิดความแตกต่างทางด้านพันธุกรรมของแต่ละบุคคลจากความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์ (nucleotide) ในสายดีเอ็นเอ (DNA) เพียง 1 ตำแหน่งหรือการเกิด SNP ของยีนต่างๆ ซึ่งส่งผลให้แต่ละบุคคลมีความแตกต่างของการตอบสนองโดยภูมิต้านทานและตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาในผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีและซี[20] ซึ่งปัจจัยเหล่านี้มีส่วนสำคัญในการประยุกต์มาใช้ในการดูแลรักษาผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีทางคลินิกทั้งด้าน ทำนายการดำเนินโรค การตอบสนองต่อการรักษาด้วยยา การเปลี่ยนแปลงของพยาธิวิทยาของตับ การลดลงของระดับเชื้อไวรัสตับอักเสบซี

Immunopathogenesis ของ ไวรัสตับอักเสบซี

เชื้อไวรัสตับอักเสบซี เป็นไวรัสประเภท enveloped, single-stranded positive-sense RNA virus อยู่ใน *Hepacivirus* genus ซึ่งเป็นสมาชิกของ Family *Flaviviridae*[12] โครงสร้างประกอบไปด้วย Polyprotein ซึ่งแบ่งเป็น structural proteins (core, envelope protein 1 &2), non-structural protein (NS2 to NS5) และ protein of unknown function (p7) ดังแสดงในภาพที่ 2

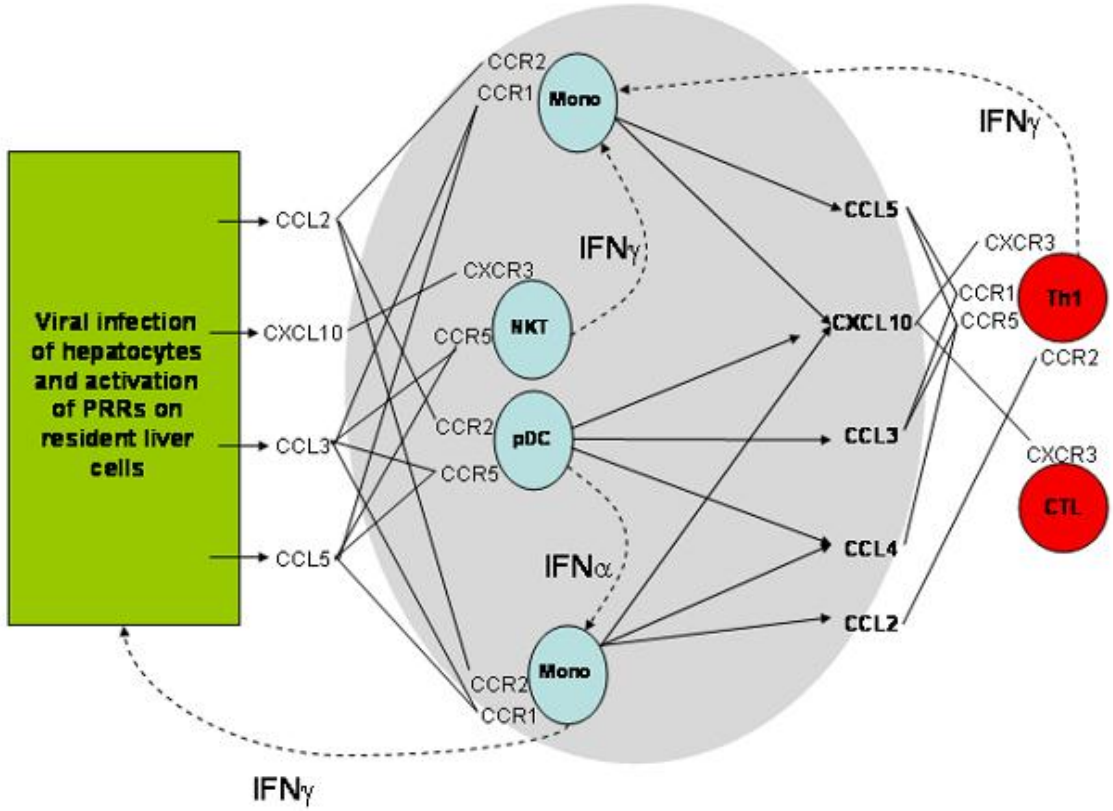


ภาพที่ 2 แสดงโครงสร้างของเชื้อไวรัสตับอักเสบซี[12]

เซลล์ตับ (hepatocyte) เป็น เป้าหมายหลัก (Primary target) ของเชื้อไวรัสตับอักเสบซี อย่างไรก็ตามพบว่า monocyte, lymphocyte และ endothelial cells ก็สามารถติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซีได้[21] การที่ viral polymerase ขาดคุณสมบัติในการ proof leading ทำให้เกิดการสร้างไวรัสตัวใหม่ที่มี sequence diversity และ quasispecies จึงสามารถหลบเลี่ยงการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกัน จากผู้ป่วยได้และเกิดเป็นภาวะติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรัง[22,23]

เมื่อเกิดการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซี เชื้อจะเข้าสู่เซลล์ตับและกระตุ้น Pattern-recognition receptors (PRR) ซึ่งเป็นโปรตีนชนิดหนึ่งบนเซลล์ตับมีหน้าที่ในการจดจำ viral motif และส่งผลให้มีการสร้าง chemokine ต่างๆ ได้แก่ CCL2, CCL3, CCL5 และ CXCL 10 เพื่อไปชักนำให้เกิดกระบวนการตอบสนองคือ เซลล์ในระบบ innate immune ได้แก่ Natural Killer (NK cell), NK T cell, monocytes และ plasmacytoid Dendritic cells (pDC) ให้เข้ามาสู่เซลล์ตับที่มีการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซีในช่วงต้น จากนั้นเซลล์เหล่านี้จะกระตุ้นการหลั่ง chemokine และ interferons (IFN) โดยเฉพาะ monocyte และ NK T cell ให้สร้าง IFNγ ไปกระตุ้นเซลล์ตับ และ monocyte ให้ผลิต CXCL10 และ CCL5 ให้มากขึ้น ขณะเดียวกัน pDC cell จะสร้าง CCL3 และ IFNα ไปกระตุ้น monocyte ให้เพิ่มการสร้าง chemokine ต่าง ๆให้มากขึ้นไปอีก การสร้าง chemokine เหล่านี้สุดท้ายจะไปพา effector T cell ทั้ง CD 8^+ T cells และ CD 4^+ T cellsโดยเฉพาะ T

helper type 1 cell (Th1)[12,22] มายังบริเวณที่มีการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซีในเซลล์ตับดังแสดงในภาพที่ 3



<u>ภาพที่3</u> แสดงการกระตุ้นและตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกัน โดยการทำงานของ autocrine และ paracrine ในภาวะติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซี[22]

การตอบสนองของภูมิคุ้มกันแบบ Th1 มีบทบาทสำคัญในภาวะติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซีที่ตับ[22,24,25] ข้อมูลสนับสนุนจากการศึกษา T cell ในตับ (Intrahepatic T cells) จะมีการแสดงของตัวรับ chemokine ที่สัมพันธ์กับการตอบสนองของ Th1 ซึ่งได้แก่ CXCR3, CXCR6, CCR1 และ CCR5[24,26] ซึ่งแต่ละ chemokine จะมีหน้าที่ในการนำพาเซลล์ต่างๆกันในตับ เช่น CCR5 จะนำพา เซลล์ lymphocyte ไปที่ portal tract ขณะที่ CXCR3 จะเด่นที่ parenchyma และ sinusoids ส่วน CXCR6[27,28] จะเด่นที่เซลล์ตับที่มีการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซี และ CXCL8/CXCR1[29]จะนำพา Cytotoxic T cells

CXCR3 และ lymphocyte recruitment

CXCR3 เป็นตัวรับของ chemokine ตัวหนึ่งที่ทำหน้าที่อยู่บน T lymphocyte cells ที่โดนกระตุ้น, และเซลล์อื่นๆ เช่นเซลล์ตับ Hepatic stellate cell, NK cell, endothelum และ epithelium cell บางชนิด[22,30] โดยมีความเชื่อมโยงกับหน้าที่ของเซลล์ในระบบ Th1 [31]และ ligand ที่จับกับตัวรับนี้ได้แก่ CXCL9, CXCL10 และ CXCL11 ในภาวะที่มีการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซีจะมีการกระตุ้น Th1 cytokine คือ Interferon-gamma (IFNγ) และ Tumor necrosis factor-alpha (TNFα) เพื่อไปทำให้เกิดการเพิ่มของ CXCR3 ligands ในเลือดและตับของผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซี หลังจากรักษาผู้ป่วยที่ตอบสนองต่อยาจะมีการเพิ่มขึ้นของ $CXCR3^{+}CD8^{+}$ T cells และระดับ CXCL10, CXCL9 ในเลือดจะลดลง[32,33]

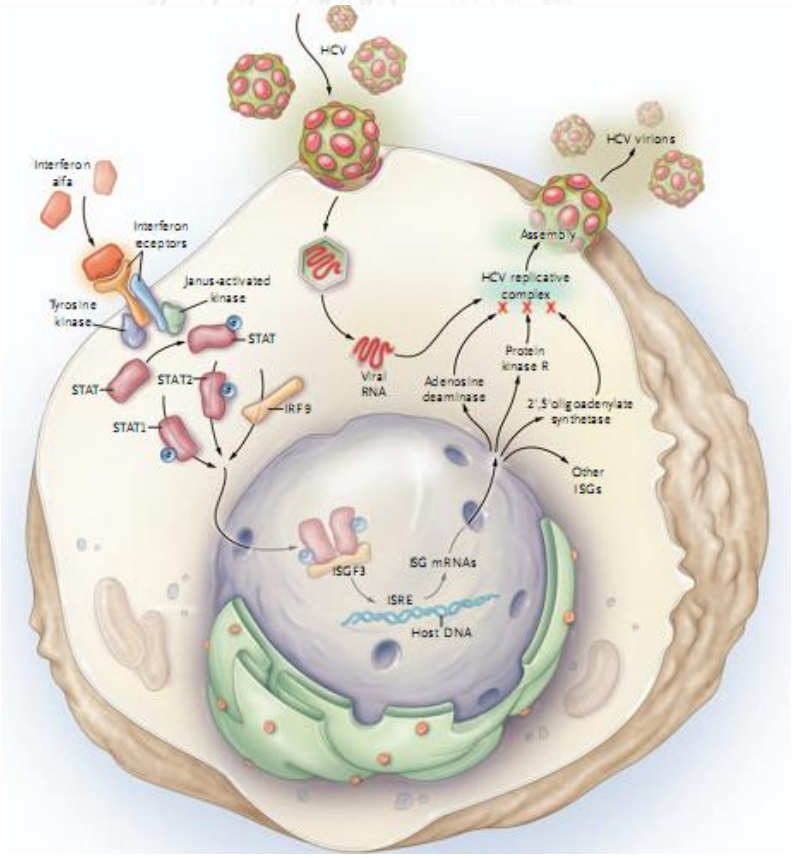
เมื่อติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซีช่วงแรก ร่างกายจะตอบสนองโดยกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันตามกระบวนการข้างต้น ถ้าระบบภูมิคุ้มกันที่สร้างขึ้นมานี้ไม่สามารถกำจัดเชื้อไวรัสตับอักเสบซีได้ กระบวนการเหล่านี้จะเกิดขึ้นเรื่อย ๆ และก่อให้เกิดภาวะตับอักเสบซีเรื้อรัง[34-36] ซึ่งหัวใจหลักสำคัญคือการเกิดอักเสบที่คงอยู่ซ้ำๆจากยังการกระตุ้นของระบบภูมิคุ้มกันแบบ Th1 (Intrahepatic Th1-mediated inflammation) โดยอาศัยการกระตุ้นการสร้าง IFN-γ และ chemokine อื่นๆ ก่อให้เกิดการอักเสบของเซลล์ตับเรื้อรังและเกิดเป็นพังผืด และผลนี้มากกว่าการอักเสบจากเชื้อไวรัสโดยตรงเสียอีก[37]

กลไกการออกฤทธิ์ของยาในการรักษาไวรัสตับอักเสบซี

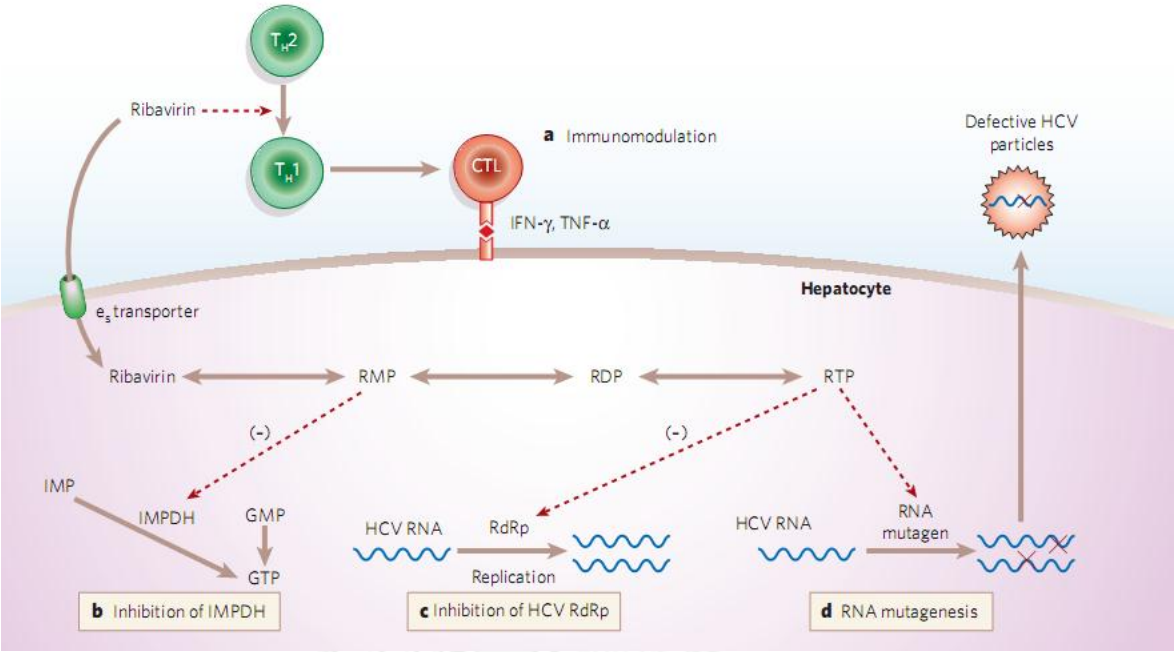
เนื่องจากในปัจจุบันการรักษาผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซี โดยการใช้ยา 2 ตัวร่วมกันคือ ยาเพ็กกีเลตเต็ดอินเตอร์เฟียรอนและไรบาวิริน กลไกของการออกฤทธิ์ของอินเตอร์เฟียรอนอัลฟ่าซึ่งเป็น cytokine ชนิดหนึ่งมีหน้าที่สำคัญในระบบของภูมิคุ้มกันที่ติดตัวมาแต่กำเนิด (Innate immune response) โดยจับกับตัวรับที่ผิวเซลล์ และส่งสัญญาณผ่านระบบ Janus-activated kinase และกระตุ้นการเกิด transcription และกระตุ้นยีนที่มีหน้าที่ต่างๆ ได้แก่ double-strand RNAase, ยับยั้ง viral protein translation และโปรตีนที่ทำให้ viral mRNA เกิดทำให้เกิดการไม่มั่นคง (Destabilization) สุดท้ายเกิดการยับยั้งการเกิด replication ของเชื้อไวรัสตับอักเสบซี ดังแสดงในภาพที่ 4 [19] นอกจากนี้ยังชักนำให้เกิดการแสดงออกของยีน (gene expression) ที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน เช่นเกิดการกระตุ้นต่อ natural killer cell และการเปลี่ยนแปลงของ dendritic cellและการเพิ่มจำนวน (Proliferation) ของ memory T cell และยับยั้งการเกิด apoptosis ของT cell[38] หลังจากการพัฒนาของความรู้และวิวัฒนาการทางการแพทย์ ในปัจจุบันมีการสร้าง interferon ที่ออกฤทธิ์ได้นานขึ้น (long-acting interferon) หรือเรียกว่า ยาเพ็กกีเลตเต็ด โดยได้การสร้างพันธะทางเคมี (covalent) ของโมเลกุลเพ็กกีเลตเต็ดอินเตอร์เฟียรอน กับโพลีเอ็ดทิลีนไกลคอล (polyethylene glycol) ทำให้สามารถออกฤทธิ์ได้นานขึ้นและให้แก่ผู้ป่วยเพียงสัปดาห์

ละหนึ่งครั้ง[39] โดยยาเพ็กกีเลตเต็ดอินเตอร์เฟียรอนที่ผ่านการรับรองใช้ในการรักษาไวรัสตับอักเสบซีในปัจจุบันมี 2 ชนิดคือ ยาเพ็กกีเลตเต็ดอินเตอร์เฟียรอนอัลฟ่าทูเอ (Pegylated interferon alfa-2a; Pegasys, Roche) และ ยาเพ็กกีเลตเต็ดอินเตอร์เฟียรอนอัลฟ่าทูบี (Pegylated interferon alfa-2b; Peg-Intron, Schering-Plough)

ยาไรบาวิรินเป็นยาทานในกลุ่มอนุพันธ์ของนิวคลีโอไซด์ (nucleoside analog) ที่มีกลไกในการต่อต้านไวรัสหลายแบบ โดยกลไกต่างๆ ที่อธิบายถึงผลของยาไรบาวิรินเมื่อใช้ร่วมกับยาเพ็กกีเลตเต็ดอินเตอร์เฟียรอนต่อการต่อต้านเชื้อไวรัสตับอักเสบซี ได้แก่ 1) ยาไรบาวิรินทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสภาวะแวดล้อมของ cytokine นำไปสู่การเปลี่ยนแปลงจากเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันแบบ type 2 T-helper เป็น type 1 T-helper, 2) เกิดการขาดของ intracellular guanosine triphosphate เนื่องจากยาไรบาวิรินไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ inosine monophosphate dehydrogenase (IMPDH) 3) เกิดการยับยั้งการทำงานของ HCV RNA-dependent RNA polymerase, 4) เกิด lethal mutagenesis ระหว่างการเกิด HCV RNA replication [40] ดังแสดงในภาพที่ 5



<u>ภาพที่ 4</u> แสดงการออกฤทธิ์ของ interferon alpha ต่อการยับยั้งการ replication ของไวรัสตับอักเสบซี[19]



ภาพที่ 5 แสดงกลไกของยา ribavirin ต่อการต่อต้านเชื้อไวรัสตับอักเสบซี[40]

ปัจจัยที่มีผลต่อการหายของโรคไวรัสตับอักเสบซีที่ได้รับการรักษา

การรักษาผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีในปัจจุบัน เป้าหมายหลักคือการเกิด sustained virolgic response (SVR) จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่ามีปัจจัยมากมายที่มีผลต่อการหายของโรคไวรัสตับอักเสบซี แบ่งพิจารณาเป็น 3 ปัจจัยหลัก คือ ปัจจัยจากตัวผู้ป่วยเอง ปัจจัยจากเชื้อไวรัสตับอักเสบซี และสุดท้ายคือปัจจัยจากการรักษา โดยสรุปเป็นรายละเอียดดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 แสดงปัจจัยที่มีผลต่อกาหายของโรคไวรัสตับอักเสบซีที่ได้รับการรักษา

ปัจจัย	Favourable therapeutic response	Impaired therapeutic response	Reference
อายุ	< 40 ปี	≥ 40 ปี	41-44
เชื้อชาติ	Non African-American	African American	45,46
BMI	Normal	> 30	47,48

การมีภาวะ Fibrosis ที่เนื้อตับ	Mild	Advanced	[44,49]
ปัจจัย	**Favourable therapeutic response**	**Impaired therapeutic response**	**Reference**
การมี Steatosis ในเนื้อตับ	Absent	Present	[50,51]
IL 28 B polymorphism	CC genotype	TT/CT genotype	[52-55]
Insulin resistance	Absent	Present	[56]
ระดับ HCV RNA ก่อนการรักษา	< 400,000 – 800,000 IU/ml	≥ 400,000 – 800,000 IU/ml	[41,43,44,47,51]
Genotype	2,3	1	[41-44,51]
Rapid virologic response	Present	Absent	[57-61]
Early virologic response	Present	Absent	[47,62,63]

Interferon gamma-inducible protein of 10 kilodalton (IP-10) ยีน IP-10 และการเกิด polymorphism กับความสำคัญทางคลินิกในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซี

Interferon gamma-inducible protein of 10 kilodalton (IP-10) หรือ C-X-C motif chemokine 10 (CXCL 10) ประกอบด้วยโปรตีนที่มีขนาดเล็กเพียง 8.9 kiloDalton เป็น

chemokine ชนิดหนึ่ง อยู่ใน CXC chemokine family[64] ซึ่งควบคุมการสร้างโดยยีน *CXCL* 10 โดย IP-10 สร้างมากจากเซลล์ต่างๆ ได้แก่monocyte, endothelium, fibroblasts cell และเซลล์ตับเมื่อได้รับการกระตุ้นโดย Interferon gamma (IFN-γ)

IP-10 จะทำงานโดยการกระตุ้นที่ IP-10 receptor (CXCR3) ซึ่งพบมากบริเวณผิวของ Th1 lymphocytes, NK และ dendritic cell หน้าที่ของ IP-10 คือกระตุ้นและนำพา T cell, NK cell, monocyte, macrophage และ dendritic cell มายังบริเวณเซลล์ตับที่มีการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซี ซึ่งเป็นหนึ่งในกระบวนการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันและก่อให้เกิดการอักเสบขึ้น นอกจากนี้ยังมีบทบาทสำคัญในการส่งเสริมการจับของ T cell, endothelial cell และต่อต้านการเติบโตของเนื้องอก ยับยั้ง bone marrow colony formation และยังช่วยในกระบวนการ angiogenesis[65,66] CXCR3 เป็น receptor ของ IP-10 นอกจากนี้ยังเป็น receptor ของ CXCL9 (หรือ monokine induce by IFN-γ: MIG) และ CXCL 11 (หรือ IFN-inducible T cell chemoattractant: ITAC) โดย chemokine เหล่านี้จะจับกับ G-protein-coupled receptor และเกิดการเคลื่อนที่ของ Intracellular Ca^{++} และส่งเป็นสัญญาณให้เกิดการเคลื่อนที่ของเซลล์มายังบริเวณที่มีการติดเชื้อ

ความเกี่ยวข้องในทางคลินิกกับผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซี พบว่าระดับซีรัม IP-10 และการแสดงออกของยีน *CXCL10* ในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีเพิ่มขึ้น[2] การแสดงออกของ CXCR3 ของ T lymphocyte ทั้ง CD4 และ CD8 T lymphocyte ก็สูงขึ้นทั้งจาก T lymphocyte ที่สกัดจากเลือดหรือเนื้อตับของผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซี[67] ระดับของซีรัม IP-10 ในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรังสูงขึ้นชัดเจนเมื่อเทียบกับคนปกติ[2,68] ระดับของซีรัม IP-10 ก่อนรักษายังสัมพันธ์กับการหายของไวรัสตับอักเสบซี (Sustained virologic response) เมื่อรักษาด้วยสูตรยาเพ็กกีเลตเต็ดอินเตอร์เฟียรอนและไรบาวิริน [68-71] ดังจะเห็นได้จากข้อมูลผู้ป่วยในกลุ่มที่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาสูตรมาตรฐานจะมีระดับซีรัม IP-10 ก่อนการรักษาต่ำกว่ากลุ่มที่ไม่ตอบสนองในไวรัสตับอักเสบซีซึ่งมีข้อมูลทั้งสายพันธุ์ 1 และสายพันธุ์อื่นๆ [68-71] โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อใช้เป็น marker ร่วมกับการตรวจ SNPs ของ ยีน *IL28B* ตำแหน่ง rs12979860 ซึ่งถ้าร่วมกับ non-CC genotypes ยิ่งมีโอกาสในการหายสูงขึ้นในผู้ป่วยไวรัสซีสายพันธุ์ที่ 1[1,72] และกลุ่มที่ตอบสนองนี้พบว่าหลังรักษาแล้วระดับซีรัม IP-10 จะลดลงอย่างมีนัยสำคัญในทุกๆสายพันธุ์[2,32,68,69,73] ระดับของซีรัม IP-10 ยังมีความสัมพันธ์สอดคล้องไปกับระดับไวรัสตับอักเสบซี (viral kinetic) ที่เวลาต่างๆ มีข้อมูลว่าในกลุ่มผู้ป่วยที่ Hepatitic C viral load ก่อนการรักษามากกว่า 2×10^6 IU/mL จะมีระดับซีรัม IP-10 สูงกว่าผู้ป่วยที่ น้อยกว่า 2×10^6 IU/mLในทุกๆสายพันธุ์ของไวรัสตับอักเสบซี โดยเฉพาะในสายพันธุ์ที่ 1[69] นอกจากนี้ระดับซีรัม IP-10 ก่อนการรักษายังสามารถใช้เป็นตัวทำนายสำหรับการเกิด Rapid virologic response ที่ 4 สัปดาห์หลังการเริ่มรักษาได้ในผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซีชนิดสายพันธ์ 1 และ 4 [8,69] อีกทั้งระดับ

ซีรัม IP-10 ก่อนการรักษาและ intrahepatic IP-10 ยังสัมพันธ์กับการลดลงของระดับไวรัสตับอักเสบซีในวันแรกของการรักษาในทุกสายพันธุ์ของไวรัสตับอักเสบซี[74]

ในทางความสัมพันธ์กับพยาธิสภาพ มีข้อมูลที่ชี้นำว่า IP-10 มีความสัมพันธ์กับพยาธิวิทยาของตับโดยพบว่า mRNA expression ของ IP-10 จากเนื้อตับของผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีสูงกว่าเนื้อตับจากคนปกติถึง 30 เท่า[67] และสัมพันธ์กับการอักเสบของ lobule ในตับ ดังมีข้อมูลจากการศึกษาโดยทำ immunohistochemistry พบว่าเมื่อย้อมIP-10 ที่ไซโตพลาสซึมของเซลล์ตับที่อยู่บริเวณ lobule[67] พบว่าหลังจากที่ได้รับการรักษาแล้ว mRNA expression ลดลง[2] ขณะที่อีกการศึกษาพบความเกี่ยวพันของระดับซีรัม IP-10 ก่อนการรักษาและ necroinflammation activity, fibrosis stage โดยเฉพาะในไวรัสตับอักเสบซีชนิดสายพันธุ์ที่ 1 [69,75]

CXCL10 gene อยู่บน chromosome 4q21 มีความยาว 2,378 basepair แต่ Promoter region มีความยาวประมาณ 1800 basepair เป็นที่น่าสนใจว่าการเกิด SNPs ที่ตำแหน่ง rs56061981 ซึ่งอยู่บนตำแหน่ง promoter ของยีน *CXCL10* มี minor allele frequency มากกว่า 5 เปอร์เซ็นต์ และเป็น tagging SNP มีการศึกษาพบว่า genotype G/A หรือ A/A มีความสัมพันธ์กับ susceptibility ต่อการเป็นโรควัณโรค โดย Odd ratio = 0.51 (95% confidence interval 0.29 – 0.91, *P*-value = 0.018) หรือเป็น Protective ต่อการเป็นโรควัณโรค[76] ขณะที่อีกการศึกษาหนึ่ง ซึ่งทำการศึกษาถึงความสัมพันธ์ระหว่าง SNP ของยีน *CXCL10* กับ susceptibility ต่อ progression ของโรคในผู้ป่วยที่เป็นพาหะไวรัสตับอักเสบบีโดยดูจาก การเกิดภาวะตับอักเสบที่รุนแรง การเกิดภาวะตับแข็ง หรือการเกิดมะเร็งตับ (Hepatocellular carcinoma) พบว่า A allele ที่ SNP ตำแหน่งนี้มีความสัมพันธ์กับ Progression ของโรค โดย Odd ration = 1.5 (95% confidence interval 1.2-1.87; *P* value < 0.001) และการเกิด SNP นี้มีเป็นตัวควบคุมการ expression ของ *CXCL10* [5]

นอกจากนี้ IP-10 มีความเกี่ยวโยงกับโรคอื่นๆที่กระบวนการอักเสบเกิดจาก Th1 เช่น โรคผิวหนัง psoriasis[77], multiple sclerosis[78], rheumatoid arthritis[79], inflammatory bowel disease

ในอนาคตซีรัม IP-10 อาจจะกลายมาเป็น marker สำคัญที่ใช้ในการพยากรณ์โรค บอกการดำเนินโรค และบอกถึงโอกาสในการตอบสนองต่อการรักษาในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรัง

ซีรัม Dipeptidylpeptidase IV (DPP4) การเกิดโพลีมอร์ฟิซึมของยีน *DPP4* และความสำคัญทางคลินิกในภาวการณ์ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรัง

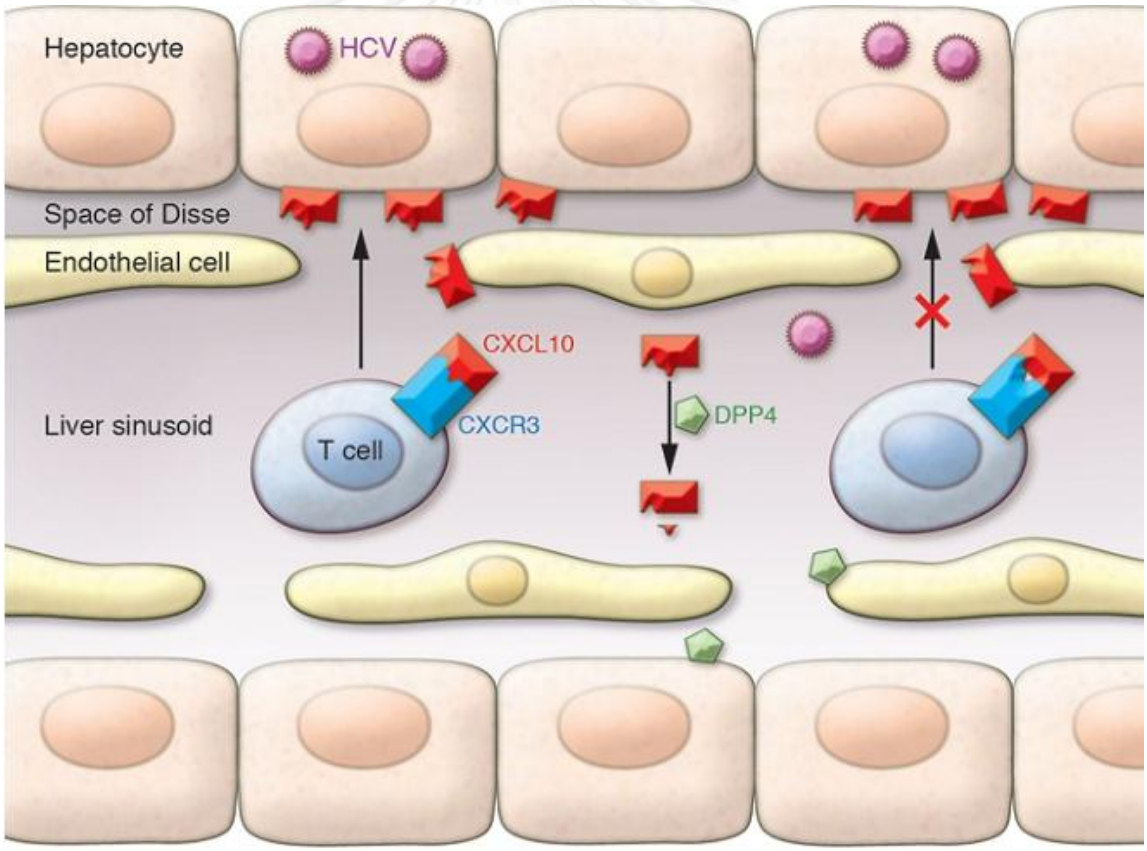
อย่างไรก็ตามประเด็นที่น่าสงสัยและยังเป็นคำถามที่น่าหาคำตอบอยู่ที่ว่า เหตุใดระดับซีรัม IP-10 ที่เพิ่มกลับทำให้การตอบสนองต่อการรักษาลดลง ทั้งที่ IP-10 เป็นตัวกระตุ้นการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน มีการศึกษาหนึ่งได้พบคำตอบที่น่าสนใจ ดังนี้ว่า ซีรัม IP-10 ที่มีระดับสูงแท้จริงเป็น non-functional IP-10 หรืออยู่ในรูป antagonist form[4] เนื่องจากในภาวะปกติการทำงานของ chemokine ในการกระตุ้นตัวรับนั้น จะมี 2 กระบวนการ อันดับแรกคือ Core ligand จะจับกับผิวด้านนอกของตัวรับ ต่อมาจะมีการจัดเรียงรูปร่างใหม่ให้ N-terminal tail ของโปรตีนไปจับกับอีก domain ในตัวรับนั้น[80] IP-10 หลังจากสร้างออกมาจะโดน modification โดยเอนไซม์หลายตัว เช่น Matrix metallopeptidase 9 (MMP9) และ Peptidylarginine deiminase (PAD) แต่ก็ไม่ทำให้ IP-10 เสียการทำงานหรือคือยังอยู่ใน Agonist form ต่อไป[81,82] ตรงกันข้ามกับเอนไซม์อีกตัวที่ชื่อ X-prolyl dipeptidylpeptidase IV (DPP4 หรือ CD 26)[83] ซึ่งจะไปตัดที่ N-terminal ของ IP-10 ทำให้ IP-10 อยู่ในรูป non-functional protein หรือเป็น antagonist form และเมื่อจับกับ CXCR3 receptor ก็ไม่สามารถกระตุ้นปฏิกิริยาทำให้มีการ migration ของ $CXCR3^{+}$ cell ได้[4] ดังแสดงในภาพที่ 6 Non-functional IP-10 นี้ในกลุ่มผู้ป่วยที่ระดับไวรัสตับอักเสบซีลดลงมากกว่า 2 log หรือมี Early virologic response (EVR) มากกว่ากลุ่มที่ non-responder อย่างมีนัยสำคัญ[4]

Dipeptidyl peptidase-4 (DPP4) หรือ adenosine deaminase complexing protein 2 หรือ CD26 เป็นโปรตีนชนิดหนึ่งซึ่งสร้างจากยีน *DPP4* เป็นเอนไซม์หนึ่งในกลุ่ม serine protease ที่อยู่บนผิวเซลล์หลายชนิดเช่น epithelial cell, T-cell, reactive fibroblasts[84] และมีหน้าที่เกี่ยวกับ immune regulation, signal transduction, apoptosis และสามารถตัด X-proline dipeptide ที่ N-terminus ของ polypeptides ของ substrate หลายตัวที่มี Proline เป็นองค์ประกอบ[85] เช่น growth factor, chemokines, neuropeptides และ vasoactive peptides นอกจากนี้ DPP4 ยังมีบทบาทสำคัญในกระบวนการเมตาบอลิซึมของกลูโคส เพราะ DPP4 เป็นตัว degradation ของ Incretin เช่น Glucagon-like peptide 1 (GLP-1) และ Glucose-dependent insulinotropic polypeptide (GIP)[86] และยังพบว่ามีความสัมพันธ์กับมะเร็งและเนื้องอกบางชนิด[87-89] DPP4 ในร่างกายมี 2 รูปแบบได้แก่ รูปแบบแรกคือ membrane-bound ซึ่งพบว่า activity ของ รูปแบบนี้มีส่วนสำคัญต่อการกระตุ้น T cell[90] และอีกรูปแบบคือ soluble form (sCD26) ซึ่งพบว่าช่วยเสริม CD86 expression บน antigen-presenting cells[91]

สำหรับข้อมูลความสัมพันธ์ทางคลินิกของ DPP4 และผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีข้อมูลการศึกษามีไม่มาก และพบว่าระดับของ sCD26 ในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีน้อยกว่าคนปกติ[92] นอกจากนี้ในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรังชนิดสายพันธุ์ที่ 1 ที่หายด้วยการรักษาด้วย Pegylated interferon และ ribavirin นั้นมีระดับ sCD26 ก่อนรักษาน้อยกว่าผู้ป่วยที่ไม่หายโดยพบว่าเกิดจากระดับ sCD26 ที่น้อยจะทำให้มี

HCV-specific CD8^{+}T cellsที่มากกว่า[92,93] โดยการใช้ cut-off ที่น้อยกว่า 600 ng/ml ของ sCD26 จะมี sensitivity และ specificity ที่ดีที่สุดในการทำนายการเกิด SVR[93]

ถึงปัจจุบันยังไม่มีข้อมูลการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่าง Polymorphism ของยีน DPP4 กับไวรัสตับอักเสบซี อย่างไรก็ตามได้มีการศึกษาถึงการเกิด SNP ที่ตำแหน่ง rs13015258, rs17848916 และ rs41268649 โดยการมี C allele ของ 2 ตำแหน่งแรก และ A allele ของตำแหน่งสุดท้ายตามลำดับ สัมพันธ์กับการเกิด hypermethylation ของ CpG ที่ Promoter ของยีน *DPP4* และ Hypermethylation นี้สัมพันธ์กับ mRNA level และการเกิด metabolic syndrome ในผู้ป่วยที่มีภาวะอ้วนรุนแรง[6,7]



<u>ภาพที่ 6</u> แสดงกลไกการออกฤทธิ์ของ DPP4 ต่อ IP-10 ในการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซี (DPP4 จะตัดบริเวณ N-terminal ของ IP-10 ทำให้กลายเป็น antagonist form ซึ่งเมื่อไปจับกับตัวรับของ CXCR3 บน T-cell จะไม่สามารถกระตุ้นปฏิกิริยาต่างๆได้[94]

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงาน

รูปแบบการวิจัย

Cross-sectional analytic and prospective cohort study

ระเบียบวิธีการวิจัย

Target population (ประชากรเป้าหมาย) : ผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีชนิดสายพันธุ์ที่ 1 ที่ได้รับการรักษาด้วย Pegylated interferon และ ribavirin ครบและหยุดยามาแล้วอย่างน้อย 24 สัปดาห์

Study population (ประชากรที่ใช้ในการศึกษา): ผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีชนิดสายพันธุ์ที่ 1ที่ได้รับการรักษาด้วย Pegylated interferon และ ribavirin ครบและหยุดยามาแล้วอย่างน้อย 24 สัปดาห์ ที่เข้ารับการรักษา ณ.แผนกผู้ป่วยนอกโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ จังหวัดกรุงเทพมหานครและโรงพยาบาลศรีนครินทร์ จังหวัด ขอนแก่น โดยผู้ป่วยยินยอมเข้าร่วมงานวิจัย

การให้คำนิยามเชิงปฏิบัติที่ใช้ในการวิจัย

Single nucleotide polymorphism (SNP) คือ ความแปรผันทางพันธุกรรมในมนุษย์ประเภทหนึ่ง โดยเป็นความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์เบสเพียง 1 ตำแหน่ง

Sustained virologic response (SVR) หมายถึง การตอบสนองต่อการรักษาโดยการตรวจไม่พบปริมาณเชื้อไวรัสตับอักเสบที่เวลา 24 สัปดาห์หลังจากหยุดการรักษา

Rapid virologic response (RVR) หมายถึง ตรวจไม่พบ HCV-RNA หลังจากได้รับการรักษาไป 4 สัปดาห์

Early virologic response (EVR) หมายถึงตรวจไม่พบ HCV-RNA หลังจากได้รับการรักษาไป 12สัปดาห์

End-of-treatment response (ETR) หมายถึง ตรวจไม่พบ HCV-RNAที่สัปดาห์สิ้นสุดการรักษา

Cytokine มีรากศัพท์มาจาก “cyto” คือ cell และ “ kinein” แปลว่าการเคลื่อน ซึ่งก็คือ โปรตีน หรือ glycoprotein ที่มีขนาดเล็ก (< 30 kDa) ซึ่งสร้างจากเซลล์ต่างๆ เช่น เซลล์เม็ดเลือดขาวเพื่อเป็นการตอบสนองต่อสิ่งกระตุ้น เพื่อไปกระตุ้นหรือควบคุมการเคลื่อนที่ของเซลล์ต่างๆ

Chemokine คือ โปรตีนที่มีขนาดเล็ก ประมาณ 8-14 kDa มีหน้าที่สำคัญในการนำพา immune cell อีกทั้งยังเกี่ยวข้องกับ activation, proliferation, differentiation, survival และ apoptosis ของ immune cell

Viral replication คือ การเพิ่มจำนวนของ virus

Genotype หรือ ลักษณะทางพันธุกรรม หมายถึงลักษณะองค์ประกอบของยีน (gene) ของสิ่งมีชีวิตที่มีการแสดงออกเป็นลักษณะปรากฏที่แตกต่างกัน และสามารถถ่ายทอดจากรุ่นหนึ่งไปยังรุ่นอื่นๆ ต่อไปได้โดยการถ่ายทอดยีน

Allele คือ ยีนที่ประกอบหรือยีนที่อยู่กันเป็นคู่กันเฉพาะลักษณะหนึ่งๆเป็นยีนที่อยู่บนตำแหน่งเดียวกันของโครโมโซมที่เป็นคู่กัน

Minor allele frequency หมายถึง ความถี่ของการเกิด allele ที่พบน้อยกว่าในประชากร

Tagging SNP หมายถึง SNP ที่ตำแหน่งใกล้กันและมี Pattern การเกิดแบบเดียวกัน

Polymerase chain reaction (PCR) คือ ขบวนการสังเคราะห์ชิ้นส่วนดีเอ็นเอในหลอดทดลอง ซึ่งขบวนการนี้เลียนแบบขบวนการสังเคราะห์ดีเอ็นเอในสิ่งมีชีวิต ประกอบด้วย 3 ขั้นตอน ดังนี้ การแยกสาย DNA เกลียวคู่ออกจากกัน (Denaturation) การจับของprimer กับ DNA แม่แบบ (Annealing) และสุดท้ายคือการสังเคราะห์ DNA สายใหม่ต่อจาก primer (Extension)

DNA Sequencing คือ วิธีการหาลำดับ Base ของ DNA

เกณฑ์การคัดเลือกเข้ามาศึกษา (Inclusion criteria)

1.ผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีโดยวินิจฉัยจากตรวจ Anti-HCV แล้วพบผลบวก และได้รับการตรวจยืนยันโดยตรวจพบ HCV RNA ได้ในเลือด ที่ได้รับการรักษาด้วยยา Pegylated interferon/ribavirin เสร็จสิ้น และติดตามผลการรักษาหลังการรักษาครบ 24 สัปดาห์

2. ตรวจ HCV genotype แล้วเป็นชนิดสายพันธุ์ที่ 1

3. อาสาสมัครมีอายุ ระหว่าง 20 – 70 ปี

4. ยินยอมเข้าร่วมในโครงการวิจัย

เกณฑ์การคัดเลือกออกจากการศึกษา (Exclusion criteria)

1. ผู้ป่วยที่ระหว่างการรักษาต้องหยุดยาเนื่องจากเหตุต่างๆ เช่น ทนการรักษาไม่ได้ มีภาวะแทรกซ้อนจากยา
2. ผู้ป่วยโรคไตวายเรื้อรัง
3. ผู้ป่วยที่มีโรคติดเชื้อ HIV ร่วมด้วย
4. ผู้ป่วย decompensated cirrhosis และ post liver transplantation
5. ผู้ป่วยทาน immunosuppressive drugs
6. ผู้ป่วยที่มีโรคติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีร่วมด้วยโดยวินิจฉัยจาก ผล HBsAg เป็นผลบวก
7. ผู้ป่วยมี active infection อื่นๆ

การคำนวณขนาดตัวอย่าง (Sample size determination)

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

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

โดย p_1 คือ เปอร์เซ็นต์ของการเกิด SNP ของยีน IP-10 ที่ตำแหน่ง rs56061981 (G/A หรือ A/A genotype)ในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีชนิดสายพันธุ์ 1 ที่ไม่หายด้วยการรักษาจากยา Pegylated interferon และribavarin

p_2 คือ เปอร์เซ็นต์ของการเกิด SNP ของยีน IP-10 ที่ตำแหน่ง rs56061981 (G/A หรือ A/A genotype)ในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีสายพันธุ์ 1 ที่หายด้วยการรักษาจากยา Pegylated interferon และribavarin

โดย α = 0.05 → $Z_{\alpha/2}$ = 1.96 β = 0.2 → Z_{β} = 0.84

$$P = \frac{p_1 + p_2}{2} \qquad Q = 1 - P$$

โดย p_1 และ p_2 ได้จากการทำ pilot study ในคนไข้ไวรัสตับอักเสบซีที่ได้รับการรักษาด้วย Pegylated interferon และ ribavirin ที่ไม่หายและหายจำนวน 40 คน พบว่า

$P_1 = 0.075$ $P_2 = 0.2$

$P = \frac{0.075 + 0.2}{2} = 0.1375$ $Q = 1 - 0.1625 = 0.8625$

จำนวนตัวอย่างในแต่ละกลุ่ม =

$$\frac{[\ 1.96\sqrt{2(0.1375)(0.8625)} + 0.84\sqrt{(0.075)(0.925) + (0.2)(0.8)}\ ]^2}{(\ 0.125\ )^2} = 113 \text{ คน}$$

ขั้นตอนในการดำเนินการวิจัย

1. ขอเจาะเลือดผู้ป่วย 1 ครั้ง และแยกเลือดจำนวน 10 ซีซี (ประมาณ 2 ช้อนชา) จากผู้ป่วยที่เคยได้รับการรักษา chronic hepatitis C สายพันธุ์ที่ 1 ด้วยยา Pegylated interferon/ribavirin ซึ่งปกติมาติดตามการรักษาอยู่ที่คลีนิก และ ได้รับการเจาะเลือดเพื่อติดตามการรักษาตามปกติ
2. ปั่นแยกซีรั่มและ buffy coat จากนั้นสกัด DNA ด้วย Phenol chloroform ตามวิธีการมาตรฐาน
3. PCR จากส่วนของ SNPs ตามตารางที่ 1 จากนั้นแยก DNA จาก Acrylamide gel
4. Genotyping หรือ (Restriction Fragment Length Polymorphism) RFLP เพื่อตรวจ Haplotype ของแต่ละตำแหน่ง ตามตารางข้างล่าง
5. เจาะเลือดประมาณ 5 มิลลิลิตรใส่หลอด EDTA เพื่อส่งตรวจระดับ DPP4 ในซีรัมและนำไปเก็บที่อุณหภูมิน้อยกว่า -20 °c

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

การรวบรวมข้อมูล (Data collection)

เก็บข้อมูลพื้นฐานต่างๆของผู้ป่วย บันทึกข้อมูลลงในแบบบันทึกข้อมูล (Case record form) และลงข้อมูลไว้ในคอมพิวเตอร์ บันทึกข้อมูลทั้งในส่วนข้อมูลพื้นฐาน เช่น อายุ เพศ โรคประจำตัว ประวัติการดื่มเหล้า ประวัติการสักตามร่างกาย การใช้ยาเสพติดฉีดเข้าเส้น การได้รับเลือด บันทึกผลเลือดก่อน ระหว่างและหลังการรักษา เช่น ผลค่าการทำงานของตับ ระดับไวรัส บันทึกข้อมูลชนิดของยาที่ใช้รักษา บันทึกระยะเวลาที่ใช้ในการรักษา ตลอดจนผลข้างเคียงที่เกิดขึ้นระหว่างรักษา สุดท้ายบันทึกผลของการรักษา

การวิเคราะห์ข้อมูล

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

Chi-square test ใช้เปรียบเทียบความแตกต่างของ Polymorphism ระหว่างกลุ่ม Multivariable logistic regression analysis ใช้เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่าง Polymorphism และการหายจากโรคไวรัสตับอักเสบซีโดยการรักษาด้วยสูตรยามาตรฐานโดยคำนวณเป็น odds ratio (OR) *P* values และ 95% Confidence intervals (95% CI) Student *t* test ใช้เพื่อวิเคราะห์ข้อมูลที่เป็น Quantitative data ค่า *P* value ที่น้อยกว่า 0.05 ถือเป็นค่าที่มีนัยสำคัญทางสถิติ

ปัญหาทางจริยธรรม

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

- <u>หลักการเคารพในตัวบุคคล</u> ผู้เข้าร่วมวิจัยทุกราย จะได้รับการอธิบายถึงวัตถุประสงค์ วิธีการวิจัย โดยระบุไว้ในส่วนต้นของแบบสอบถามทุกฉบับ เพื่อขอความยินยอม และเข้าสู่การวิจัยโดยความสมัครใจ และ ข้อมูลต่างๆที่เกี่ยวกับผู้เข้าร่วมวิจัยจะถูกเก็บไว้เป็นความลับซึ่งทราบกันเฉพาะในคณะผู้ทำการวิจัย ไม่มีการเปิดเผยข้อมูลของอาสาสมัครต่อสาธารณชนเว้นเสียแต่ว่าจะได้รับความยินยอมเป็นลายลักษณ์อักษรจากอาสาสมัคร

- หลักการให้คุณประโยชน์ องค์ความรู้ที่ได้จากงานวิจัยนี้จะให้ข้อมูลที่อาจจะเป็นประโยชน์ต่อการปรับปรุงการรักษาต่ออาสาสมัคร และในอนาคตจะนำไปซึ่งการพัฒนาของการรักษาไวรัสตับอักเสบซี

- หลักความยุติธรรม (Justice) การศึกษานี้มีเกณฑ์ในการคัดเข้าและคัดออกชัดเจน และผลการตรวจของผู้ป่วยถ้าพบความผิดปกติจะมีการแจ้งให้รับทราบ

ข้อจำกัดในการวิจัย

1. การขอเจาะเลือดผู้ป่วยเพื่อเข้าร่วมโครงการวิจัยจะขอเจาะในวันที่ผู้ป่วยมาตรวจเลือดเพื่อพบแพทย์ที่คลินิกโรคตับเป็นส่วนใหญ่ ทำให้ต้องใช้เวลาในการรวบรวมผู้ป่วยให้ได้ครบตามจำนวนที่คำนวณไว้

2. จากฐานข้อมูลของ SNPs ต่างๆ ของยีนในโรคต่างๆ ในแต่ละเชื้อชาติยังมีจำกัดอยู่ ดังนั้นการศึกษาวิจัยเรื่อง SNPs จึงจำเป็นต้องใช้จำนวนตัวอย่างที่มากพอจึงจะเห็นความสัมพันธ์ได้ เช่นเดียวกับ การเลือก SNPs ที่จะมาศึกษาควรมีข้อมูลสนับสนุนที่ดีพอ

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย (Expected and Application)

ความแตกต่างของลักษณะทางพันธุกรรมของยีน IP-10 และ DPP4 อาจจะอธิบายความเกี่ยวเนื่องต่อผลการรักษาไวรัสตับอักเสบซีชนิดสายพันธุ์ที่ 1 และอาจจะนำมาประยุกต์สู่การใช้เพื่อทำนายผลของการรักษาและอาจจะประยุกต์ไปเพื่อพัฒนายาใหม่ๆ มาใช้รักษาโรคไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรังได้ในอนาคต

อุปสรรคที่ผู้วิจัยคาดว่าจะเกิดขึ้นและมาตรการในการแก้ไข (Obstacles and strategies to solve the problems)

ปัญหาในการเรื่องการเก็บดูแล specimen และการเจาะเลือด ได้แก้ไขโดยการจ้างเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการและพยาบาลผู้เชี่ยวชาญให้ดูแลโดยตรง

การบริหารการวิจัยและตารางการปฏิบัติงาน

ระยะเวลาทำการศึกษา 18 เดือน

รายการ	2555							2556									
	06	07	08	09	10	11	12	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11
เขียนโครงร่างวิจัยและขอจริยธรรม																		
รวบรวม sampleจากผู้เข้าร่วมโครงการ																		
Assessment																		
รวบรวมข้อมูล																		
วิเคราะห์ข้อมูล																		
สรุปผลการศึกษาและรายงาน																		
แต่ง Manuscript เพื่อส่งพิจารณาตีพิมพ์																		

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

งบประมาณรายจ่ายของโครงการวิจัย

รายการ	รายละเอียดของอัตราค่าใช้จ่าย x รายการ	รวม (บาท)
1. ค่าวัสดุทางวิทยาศาสตร์		
1.1 ค่าอุปกรณ์ที่ใช้ในการทำ lab	300 ราย x 100 บาท	30,000
1.2 DNA Sequencing	300 ราย x 200 บาท	60,000
1.3 ค่าน้ำยาที่ใช้ในการตรวจ DPP4	120,000 บาท/ 320 sample	120,000
1.4 ค่าเอนไซม์ที่ใช้ในการทำ RFLP		35,000
2. ค่าอุปกรณ์สำนักงาน		5,000
TOTAL		250,000

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 4

ผลการวิจัย

การศึกษานี้ได้ศึกษาในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรังชนิดสายพันธุ์ 1 (Chronic hepatitis C genotype 1 infection) ซึ่งได้รับการรักษาด้วยยาสูตรมาตรฐานคือ ยาเพ็กกีเลตเต็ดอินเตอร์เฟียรอนและไรบาวิรินและทราบผลการรักษาแล้วหลังจากหยุดยาเป็นระยะเวลา 24 สัปดาห์ในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ จังหวัดกรุงเทพมหานครและโรงพยาบาลศรีนครินทร์ จังหวัดขอนแก่น ช่วงเวลาตั้งแต่วันที่ 1 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2556 ถึง 30 พฤศจิกายน พ.ศ. 2556 มีผู้ป่วยเข้าร่วมการศึกษาทั้งสิ้น 262 ราย เป็นผู้ป่วยที่ตอบสนองต่อการรักษา 136 ราย และผู้ป่วยที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษา 126 รายโดยจำแนกตามโรงพยาบาลดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3: แสดงผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรังสายพันธ์ 1 ที่เข้าร่วมการศึกษาจากโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ จังหวัดกรุงเทพมหานครและโรงพยาบาลศรีนครินทร์ จังหวัดขอนแก่น

	Non-SVR	SVR	Total
โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์	59	88	147
โรงพยาบาลศรีนครินทร์	67	48	115
Total	126	136	262

ผู้ป่วยจำนวน 262 รายนี้ เป็นชาวไทย ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรังชนิดสายพันธุ์ 1 จากการที่มีผลเลือด anti-HCV มีค่าบวกและตรวจพบ HCV-RNA ได้รับการรักษาด้วยยายาเพ็กกีเลตเต็ดอินเตอร์เฟียรอนและไรบาวิรินเสร็จสิ้นอย่างน้อย 24 สัปดาห์ ผู้ป่วยมีอายุเฉลี่ย 52.3 ± 7.9 ปี อายุน้อยที่สุดที่เข้าร่วมการศึกษาคือ 26 ปีและอายุมากที่สุดคือ70 ปี มีผู้ป่วยเพศหญิง 81 ราย คิดเป็นร้อยละ31 เพศชาย 181 รายคิดเป็นร้อยละ 69 ค่าเฉลี่ยของดัชนีมวลกาย (Body mass index หรือ BMI) เท่ากับ 24.7 ± 3.4 kilograms/metre^2 ผลทางห้องปฏิบัติการก่อนการรักษา มีระดับค่าเฉลี่ยของ HCV-RNA เท่ากับ 2,475,483 ± 4,073,651

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

IU/ml และ ALT เท่ากับ 106.2 ± 10.5 U/L จากผู้ป่วยทั้งหมดมีผู้ป่วยที่ได้รับการเจาะชิ้นเนื้อจากตับก่อนการรักษาทั้งสิ้น 142 รายคิดเป็นร้อยละ 54 พบว่ามีพังผืดในตับตั้งแต่ระยะ 2 ขึ้นไป (Fibrosis stage 2-4) จำนวน 50 ราย คิดเป็นร้อยละ 35 ในด้านการรักษา ผู้ป่วยที่ได้รับการรักษามากกว่าหรือเท่ากับ 48 สัปดาห์คิดเป็นร้อยละ 83.6 และผู้ป่วยที่ยังตรวจพบระดับของ HCV-RNA ที่ 12 สัปดาห์หลังจากการเริ่มรักษา (Non-responder หรือ partial responder) คิดเป็นร้อยละ 20.7 จากการวิเคราะห์เปรียบเทียบข้อมูลพื้นฐานของกลุ่มผู้ป่วยที่ตอบสนองต่อการรักษาและไม่ตอบสนองต่อการรักษาพบว่า ผู้ป่วยที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษามีอายุเฉลี่ยและพังผืดในตับก่อนการรักษาตั้งแต่ระยะที่ 2ขึ้นไปมากกว่าผู้ป่วยที่ตอบสนองต่อการรักษา แต่เพศ ดัชนีมวลกาย ระดับของ HCV-RNA AST และALT ก่อนการรักษาไม่แตกต่างกันในผู้ป่วยสองกลุ่มนี้ ดังแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 : แสดงข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรังสายพันธ์ 1 ที่ตอบสนองและไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาเพ็กกีเลตเต็ดอินเตอร์เฟียรอนและไรบาวิริน

Baseline characteristics	Non-SVR (n=126)	SVR (n=136)	p-value
Sex Female, n (%)	35 (27.8%)	46 (33.8%)	0.29
Age (years) Mean ± SD	53.3 ± 7.4	51.3 ± 9.3	0.02
Body mass index (kg/m^2) Mean ± SD	24.6 ± 3.0	24.8 ± 3.8	0.54
Alcohol drinking, n (%)	82 (71.9%)	67 (67.7%)	0.55
Diabetes Mellitus, n (%)	30 (26.5%)	23 (22.3%)	0.47
Pre-treatment HCV-RNA (IU/ml) Mean ± SD	2,541,524 ± 3,717,281	2,757,936 ± 4,676,830	0.19

Pre-treatment ALT level (U/L) Mean ± SD	115.8 ± 219.0	97.8 ± 82.2	0.56
Pre-treatment AST level (U/L) Mean ± SD	92.9 ± 179.6	68.2 ± 47.5	0.06
Advanced fibrosis (stage 2-4), n (%)	32/62 (51.6%)	18/80 (22.5%)	< 0.05
PEG-IFN-α 2a, n (%)	58/108 (53.7%)	55/102 (53.9%)	0.97
Duration of treatment ≥ 48 weeks, n (%)	72/100 (72%)	111/119 (93.3%)	< 0.05
Detectable HCV-RNA at week 12, n (%)	38/105 (36.2%)	9/122 (7.4%)	< 0.05

ข้อมูลพื้นฐานอื่นๆ ที่สำคัญพบว่ามีผู้ป่วย 53 จาก 217 รายที่วินิจฉัยว่าเป็นโรคเบาหวาน (Diabetic mellitus) คิดเป็นร้อยละ24 มีผู้ป่วย 149 รายจาก 213 รายที่มีประวัติดื่มเหล้าหรือเคยดื่มเหล้ามาก่อนคิดเป็นร้อยละ70 ประวัติการใช้ยาเสพติดฉีดเข้าเส้นในผู้ป่วย 48 รายจาก194 รายคิดเป็นร้อยละ 24.7 มีผู้ป่วยที่เคยมีประวัติการได้รับเลือด 104 รายจาก 208 รายคิดเป็นร้อยละ 50 และผู้ป่วย 39 รายจาก 178 รายมีประวัติการสักตามร่างกายคิดเป็นร้อยละ 22

วัตถุประสงค์หลักของการวิจัยนี้เพื่อจะหาว่ามีความแตกต่างของการเกิด single nucleotide polymorphism ที่ตำแหน่งของยีน *CXCL10* ในกลุ่มผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรังชนิดสายพันธุ์ที่ 1 หรือไม่ จากผลการวิเคราะห์พบว่าความชุกของ Genotype G/G มีมากที่สุด โดยพบในผู้ป่วย 197 คิดเป็นร้อยละ 75.2 รองลงมาคือ G/A พบในผู้ป่วย 64 รายคิดเป็นร้อยละ 24.4 สุดท้ายคือ A/A พบในผู้ป่วยเพียงแค่ 1 รายคิดเป็นร้อยละ 0.4 และเมื่อจำแนกตามผลการรักษาแสดงดังในตารางที่ 5

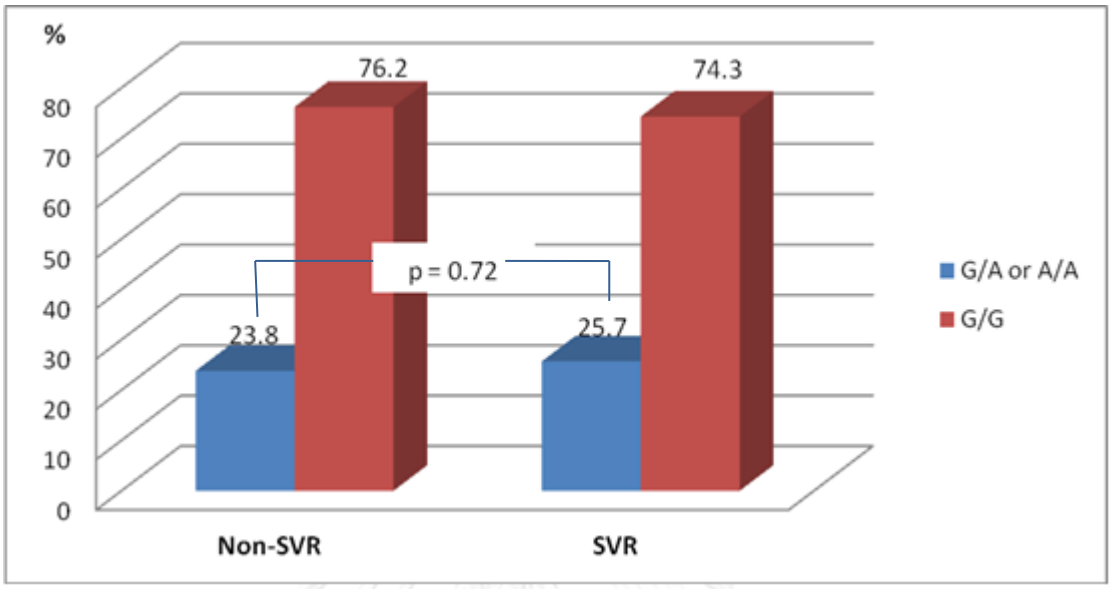
ตารางที่ 5: แสดงความชุกและความแตกต่างของการเกิดโพลีมอร์ฟิซึมของยีน *CXCL10* ที่ตำแหน่ง rs 56061981 ในกลุ่มผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีสายพันธุ์ที่ 1 ที่ตอบสนองและไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาเพ็กกีเลตเต็ดอินเตอร์เฟียรอนและไรบาวิริน

Baseline characteristics	Non-SVR (n=126)	SVR (n=136)
G/G, n (%)	96 (76.2%)	101 (74.3%)
G/A, n (%)	30 (23.8%)	34 (25%)
A/A, n (%)	0	1 (0.7%)

จากผลการศึกษาในอดีตตามการทบทวนวรรณกรรมข้างต้น[5] พบว่าการมี genotype G/A หรือ A/ A ที่ตำแหน่ง rs56061981 ของยีน *CXCL10* มีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงและเสียหน้าที่ทำงานของโปรตีน IP-10 ไป แต่ในการศึกษานี้พบว่าการเกิดการมีโพลีมอร์ฟิซึม G/A หรือ A/A ที่ตำแหน่ง rs56061981 บนยีน *CXCL10* ในกลุ่มผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรังสายพันธุ์ที่ 1 ที่ตอบสนองและไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาเพ็กกีเลตเต็ดอินเตอร์เฟียรอนและไรบาวิรินไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยผู้ป่วยที่ตอบสนองต่อการรักษาพบความชุกของ genotype G/A หรือ A/A เท่ากับร้อยละ 25.7 และผู้ป่วยที่ไม่ตอบสนองต่อการักษาพบความชุกของgenotype G/A หรือ A/A เท่ากับร้อยละ 23.8 ดังแสดงในแผนภูมิที่ 1

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

แผนภูมิที่ 1: แสดงความแตกต่างของการเกิด Single nucleotide polymorphism G/A หรือ A/A ที่ตำแหน่ง rs 56061981 ของยีน *CXCL10* ในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรังสายพันธุ์ที่ 1 ที่ตอบสนองและไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาเพ็กกิเลตเต็ดอินเตอร์เฟียรอนและไรบาวิริน



ผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรังสายพันธุ์ที่ 1 มีอัตราชุกของโพลีมอร์ฟิซึมของยีน *DPP4* ดังนี้ ที่ตำแหน่ง rs13015258 จากจำนวนผู้ป่วย 237 รายมี A/A genotype 73 รายคิดเป็นร้อยละ 30.8 มี A/C genotype 112 ราย คิดเป็นร้อยละ 47.3 มี C/C genotype 52 ราย คิดเป็นร้อยละ 21.9 ที่ตำแหน่ง rs17848916 จากจำนวนผู้ป่วย 235 ราย มี T/T genotype 219 ราย คิดเป็นร้อยละ 93.2 มี T/G genotype 16 ราย คิดเป็นร้อยละ 6.8 และที่ตำแหน่ง rs41268649 จากผู้ป่วย 206 ราย มีเพียง genotype เดียวคือ G/G คิดเป็นร้อยละ 100 ซึ่งถ้าจำแนกตามการตอบสนองต่อการรักษา ผลแสดงดังในตารางที่ 6 การเกิดโพลิมอร์ฟิซึมของยีน *DPP4* ที่ 3 ตำแหน่งดังกล่าวไม่มีความแตกต่างกันกันทางสถิติระหว่างกลุ่มผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรังชนิดสายพันธุ์ที่ 1 ที่ตอบสนองและไม่ตอบสนองต่อการรักษา แสดงในตารางที่ 6

ตารางที่ 6: แสดงความชุกและความแตกต่างของการเกิดโพลีมอร์ฟิซึมของยีน *DPP4* ที่ตำแหน่ง rs 13015258, rs17848916, rs41268649 ในกลุ่มผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีสายพันธุ์ที่ 1 ที่ตอบสนองและไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาเพ็กกีเลตเต็ดอินเตอร์เฟียรอนและไรบาวิริน

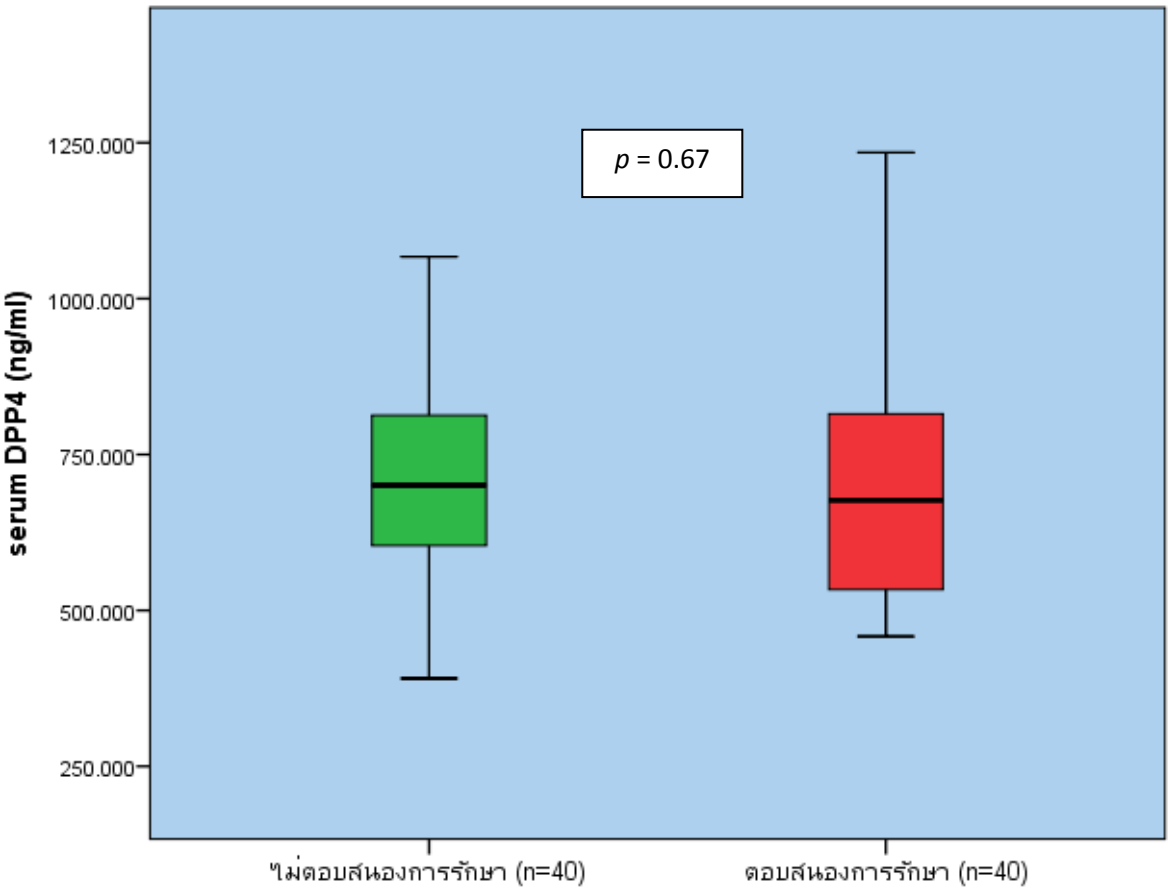
Baseline characteristics	Non-SVR	SVR	p-value
rs13015258			
A/A	35/109 (32.1%)	38/128 (29.7%)	0.16
A/C	45/109 (41.3%)	67/128 (52.3%)	
C/C	29/109 (26.6%)	23/128 (18%)	
rs17848916			
T/T	10/109 1 (92.7%)	118/126 (93.7%)	0.76
T/G	8/109 (7.3%)	8/126 (6.3%)	
G/G	0/109	0/109	
rs41268649			
G/G	98/98 (100%)	108/108 (100%)	-
G/A	0/98	0/108	
A/A	0/98	0/108	

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ในการศึกษานี้มีผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีชนิดสายพันธุ์ที่ 1 จำนวน 80 รายได้รับการตรวจระดับของซีรัม DPP4 โดย 40 ราย (ร้อยละ 50) เป็นผู้ป่วยที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษาและ 40 ราย (ร้อยละ 50) เป็นผู้ป่วยที่ตอบสนองต่อการรักษา จากการวิเคราะห์พบว่าในกลุ่มผู้ป่วยที่ตอบสนองต่อการรักษาระดับซีรัม DPP4 ไม่มีความแตกต่างจากกลุ่มที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษา ค่าเฉลี่ย (mean) และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard deviation: SD) ของระดับซีรัม DPP4 ในกลุ่มที่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาเพ็กกีเลตเต็ดอินเตอร์เฟียรอนและไรบาวิรินเท่ากับ 695 ± 191 ng/ml ขณะที่กลุ่มที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษามีค่าเท่ากับ ng/ml (p = 0.67) แผนภูมิ

697 ± 170ที่ 2 แสดงค่ามัธยฐาน (median) เปอร์เซนไทล์ที่ 10, 25, 50, 75 และ 90 ของระดับของซีรัม DPP4 ในผู้ป่วยทั้ง 2 กลุ่ม

แผนภูมิที่ 2: แสดงระดับของซีรัม DPP4 ในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีสายพันธุ์ที่ 1 จำนวน 80 คน ที่ตอบสนองและไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาเพ็กกีเลตเต็ดอินเตอร์เฟียรอนและไรบาวิริน



Chulalongkorn University

การเกิดโพลีมอร์ฟิซึมของยีน DPP4 ทั้ง 3 ตำแหน่งและระดับของซีรัม DPP4 ในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีสายพันธุ์ชนิดที่ 1 โดยพบว่าที่ตำแหน่งของ rs13015258 ผู้ป่วยที่มี A/A genotype จะมีระดับของซีรัม DPP 4 สูงกว่าผู้ป่วยที่มี C/C genotype (p = 0.006) ขณะที่การเกิดโพลีมอร์ฟิซึมของยีน DPP4 ที่ตำแหน่ง rs17848916 และ rs41268649 ไม่มีผลต่อระดับของซีรัม DPP 4 (p > 0.05) ดังแสดงในตารางที่ 7และ แผนภูมิที่ 3

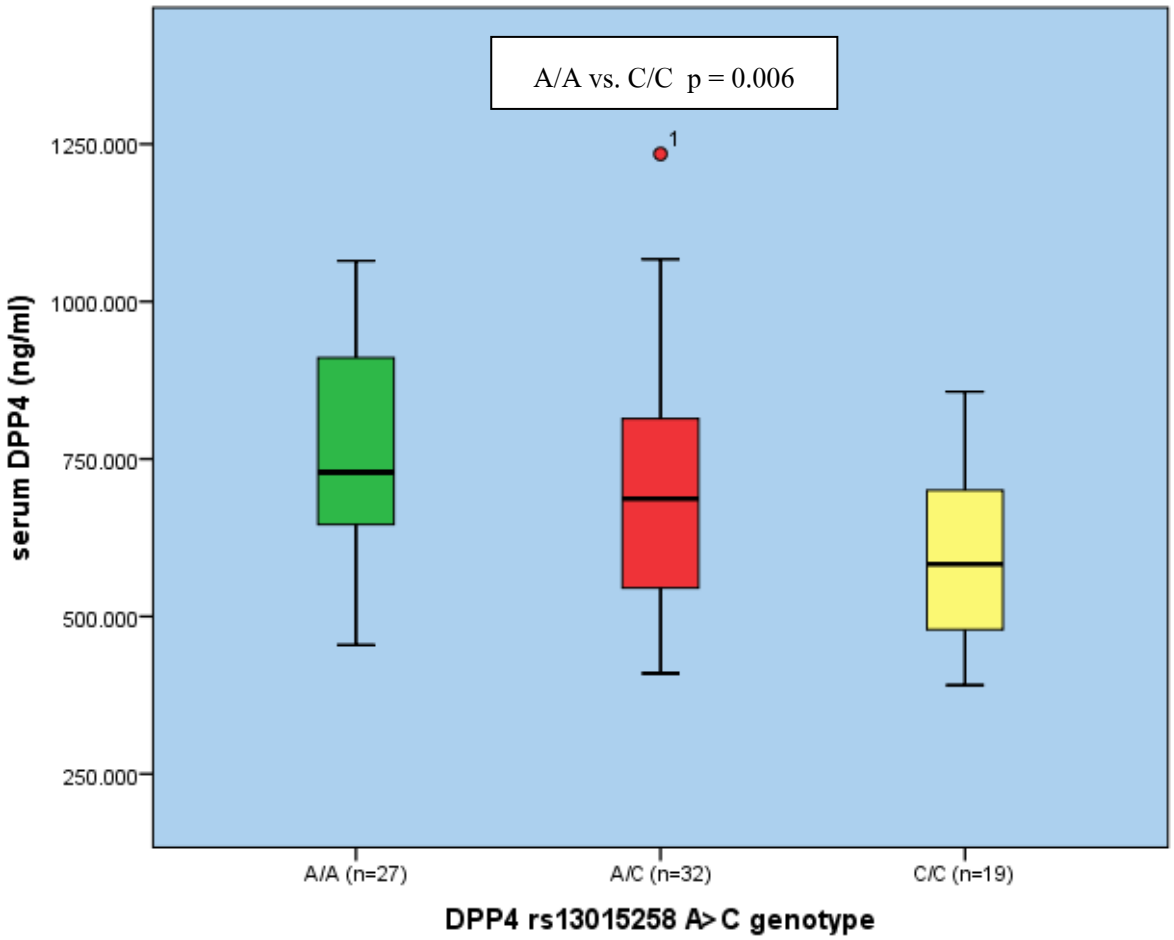
ตารางที่ 7: แสดงการเกิดโพลีมอร์ฟิซึมของยีน *DPP4* และระดับของซีรัม DPP 4 ในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีชนิดสายพันธุ์ที่ 1 ที่ได้รับการรักษา

SNP of *DPP4* gene	Serum DPP 4 (ng/ml)		
	Mean	Median	Standard deviation
rs13015258			
A/A	749	729	168
A/C	703	686	184
C/C	585	552	149
rs17848916			
T/T	694	692	180
T/G	632	522	189
G/G	-	-	-
rs41268649			
G/G	690	692	180
G/A	-	-	-
A/A	-	-	-

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

แผนภูมิที่ 3 : แสดงระดับของซีรัม DPP 4 และการโพลีมอร์ฟิซึมของยีน DPP4 ที่ตำแหน่ง rs13015258

ของผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีชนิดสายพันธุ์ที่ 1 ที่ได้รับการรักษา



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

จากการวิเคราะห์ปัจจัยทั้งหมด ได้แก่ อายุ เพศ ดัชนีมวลกาย ระดับของ HCV-RNA ก่อนการรักษาระดับของ ALT ก่อนการรักษา ภาวะพังผืดในตับตั้งแต่ระยะที่สองขึ้นไป ระดับของซีรัม DPP 4 รวมทั้งการเกิดโพลีมอร์ฟิซึมของ ยีน *CXCL10* และ *DPP4* โดยวิธี Univariate และ Multivariate analysis พบว่ามีเพียงแค่การมีพังผืดในตับตั้งแต่ระยะที่สองขึ้นไปเป็นปัจจัยที่สำคัญต่อการไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาเพ็กกีเลตเต็ดอินเตอร์เฟียรอนและไรบาวิรินในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรังชนิดสายพันธุ์ที่ 1โดยมีค่า Odd ratios = 3.67, 95% confidence interval = 1.78 – 7.57 และ p-value < 0.05

นอกจากนี้ยังไม่พบความแตกต่างของการเกิดโพลีมอร์ฟิซึมของ ยีน *CXCL10* ยีน *DPP4* และการลดลงของระดับ HCV-RNA ในสัปดาห์ที่ 4, 12 และสัปดาห์สุดท้ายที่สิ้นสุดการรักษาด้วยยาเพ็กกีเลตเต็ดอินเตอร์เฟียรอนและไรบาวิริน (RVR, EVR และ ETR) ยกเว้นผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีชนิดสายพันธุ์ที่ 1 ที่ตรวจไม่พบ HCV-RNA ที่สัปดาห์สุดท้ายของการรักษาจะมี DPP4 rs17848916 T/T genotype น้อยกว่ากลุ่มที่ตรวจพบ HCV-RNA ที่สัปดาห์สุดท้ายของการรักษาอย่างมีนัยสำคัญ (91.2% vs. 100%: p = 0.03) ดังข้อมูลที่แสดงในตารางที่ 8-10

ตารางที่ 8: แสดงการเกิดโพลีมอร์ฟิซึมของยีน *CXCL10* ยีน *DPP4* และการตรวจพบ HCV-RNA ที่สัปดาห์ที่ 4 หลังการรักษา (Rapid virologic response: RVR) ในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรังสายพันธุ์ชนิดที่ 1 ด้วยยาเพ็กกีเลตเต็ดอินเตอร์เฟียรอนและไรบาวิริน

	No RVR	RVR	p-value
CXCL10 rs 56061981			
G/G	85 (78.0%)	69 (71.9%)	0.38
G/A	24 (22.0%)	26 (27.1%)	
A/A	0 (0%)	1 (1%)	
Total	109	96	
DPP 4 rs 13015258			
A/A	29 (30.5%)	32 (35.2%)	0.1
A/C	39 (41.1%)	45 (49.5%)	
C/C	27 (28.4%)	14 (15.4%)	
Total	95	91	
DPP4 rs17848916			
T/T	91 (94.8%)	83 (94.3%)	0.88
T/G	5 (5.2%)	5 (5.7%)	

G/G	0	0	
Total	96	88	
DPP4 rs41268649			
G/G	84 (100.0%)	82 (100.0%)	-
G/A	0	0	
A/A	0	0	
Total	84	82	

ตารางที่ 9: แสดงการเกิดโพลีมอร์ฟิซึมของยีน *CXCL10* ยีน *DPP4* และการตรวจพบ HCV-RNA ที่สัปดาห์ที่ 12 หลังการรักษา (Early virologic response: EVR) ในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรังสายพันธุ์ชนิดที่ 1 ด้วยยาเพ็กกีเลตเต็ดอินเตอร์เฟียรอนและไรบาวิริน

	No EVR	EVR	p-value
CXCL10 rs 56061981			
G/G	36 (76.6%)	131 (72.8%)	0.78
G/A	11 (23.4%)	48 (26.7%)	
A/A	0	1 (0.6%)	
Total	47	180	
DPP 4 rs 13015258			
A/A	13 (33.3%)	49 (29.0%)	0.16
A/C	14 (35.9%)	87 (51.5%)	
C/C	12 (30.8%)	33 (19.5%)	
Total	39	169	

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

DPP4 rs17848916			
T/T	38 (95.0%)	153 (92.7%)	0.61
T/G	2 (5.0%)	12 (7.3%)	
G/G	0	0	
Total	40	165	
DPP4 rs41268649			
G/G	37 (100.0%)	145 (100.0%)	-
G/A	0	0	
A/A	0	0	
Total	37	145	

ตารางที่ 10 : แสดงการเกิดโพลีมอร์ฟิซึมของยีน *IP-10* ยีน *DPP4* และการตรวจพบ HCV-RNA ที่สัปดาห์สุดท้ายหลังการรักษา (End-of-treatment response: ETR) ในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรังสายพันธุ์ชนิดที่ 1 ด้วยยาเพ็กกีเลตเต็ดอินเตอร์เฟียรอนและไรบาวิริน

	No ETR	ETR	p-value
CXCL10 rs 56061981			
G/G	41 (77.4%)	125 (71.4%)	0.63
G/A	12 (22.6%)	49 (28.0%)	
A/A	0	1 (0.6%)	
Total	53	175	

DPP4 rs 13015258			
A/A	12 (26.7%)	52 (31.7%)	0.78
A/C	22 (48.9%)	76 (46.6%)	
C/C	11 (24.4%)	35 (21.5%)	
Total	45	163	
DPP4 rs17848916			
T/T	46 (100.0%)	145 (91.2%)	0.03
T/G	0	14 (8.8%)	
G/G	0	0	
Total	46	159	
DPP4 rs41268649			
G/G	44 (100%)	139 (100%)	-
G/A	0	0	
A/A	0	0	
Total	44	139	

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 5

อภิปรายผลและข้อเสนอแนะ

การศึกษานี้เป็นการศึกษาแรกที่มีวัตถุประสงค์ที่จะศึกษาผลของการเกิดโพลีมอร์ฟิซึมของยีน *CXCL10* และ *DPP4* จากผลการศึกษาวิจัยในโครงการนี้พบว่าการเกิดโพลีมอร์ฟิซึมที่ตำแหน่ง rs 56061981 ของยีน *CXCL 10* ในกลุ่มผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรังชนิดสายพันธุ์ที่ 1 ที่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาสูตรมาตรฐานคือยาเพ็กกีเลตเต็ดอินเตอร์เฟียรอนและไรบาวิรินนั้นไม่แตกต่างจากผู้ป่วยที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษา แสดงให้เห็นว่าแม้ข้อมูลการศึกษาก่อนหน้านี้จะพบว่าระดับของซีรัม IP-10 ก่อนการรักษาจะสัมพันธ์กับการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาสูตรมาตรฐานในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรังโดยเฉพาะในไวรัสสายพันธุ์ที่ 1[69,70] และการเกิดโพลีมอร์ฟิซึมของยีน *CXCL10* ที่ตำแหน่ง rs 56061981 จะมีผลต่อเปลี่ยนแปลงความสามารถในการจับของ nuclear protein และควบคุม *CXCL 10* expression[5] ก็ตาม แต่การเกิดโพลีมอร์ฟิซึมนี้ไม่ส่งผลกระทบต่อการรักษาด้วยยาเพ็กกีเลตเต็ดอินเตอร์เฟียรอนและไรบาวิรินในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรังชนิดสายพันธุ์ที่ 1 ซึ่งเหตุผลยังไม่สามารถอธิบายได้ชัดเจน อาจจะเป็นเพราะมีปัจจัยอื่นหลังการกระบวนการ transcription และ translation ในระดับยีนซึ่งมีผลเปลี่ยนแปลงการทำงานของ IP-10 ในกระแสเลือด หรืออาจจะเป็นเพราะการตอบสนองต่อการรักษาเองมีปัจจัยอื่นๆ ทั้งจากปัจจัยจากตัวผู้ป่วย ปัจจัยของเชื้อไวรัสตับอักเสบซี และปัจจัยด้านการรักษา

การเกิดโพลีมอร์ฟิซึมที่ 3 ตำแหน่งได้แก่ rs 13015258 rs17848916 rs41268649 ของยีน *DPP4* ในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรังชนิดสายพันธุ์ที่ 1 ที่ตอบสนองต่อการรักษาก็ไม่แตกต่างจากผู้ป่วยที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษาเช่นเดียวกันและเหตุผลที่อาจจะอธิบายได้แบบเดียวกับที่อธิบายในยีน *CXCL10* จากการทบทวนวรรณกรรมที่ผ่านมาการศึกษานี้เป็นครั้งแรกที่ศึกษาเกี่ยวกับการเกิดโพลีมอร์ฟิซึมของยีน IP-10 และ DPP 4 ต่อการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาสูตรมาตรฐานในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรังสายพันธุ์ที่ 1 เนื่องจากการเพิ่มขึ้นของหลักฐานทางด้านความสำคัญของการมีความผันแปรทางพันธุกรรมในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรังส่งผลต่อการรักษา เช่นการเกิดโพลีมอร์ฟิซึมของยีน *IL-28B*

ปัจจัยที่สำคัญที่มีผลต่อการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาเพ็กกีเลตเต็ดอินเตอร์เฟียรอนและไรบาวิรินในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรังชนิดสายพันธุ์ที่ 1 ที่พบจากการศึกษานี้โดยใช้วิธีสถิติของ Multivariate analysis มาช่วยในการวิเคราะห์พบว่าการมีพังผืดตั้งแต่ระยะที่ 2 ขึ้นไปก่อนการรักษา เป็นปัจจัยที่มีผลทำให้ผู้ป่วยรักษาไม่หาย ส่วนปัจจัยอื่นๆเช่น อายุ ดัชนีมวลกาย

การทางแอลกอฮอลล์ เบาหวาน ชนิดของยาเพ็กกีเลตเต็ดอินเตอร์เฟียรอน ระดับของ HCV-RNA ASL และ ALT ก่อนการรักษาไม่มีผลต่อการรักษา ซึ่งข้อมูลเรื่องปัจจัยที่มีผลต่อการรักษานี้ในแต่ละการศึกษาก็จะแตกต่างกัน ทั้งนี้อาจจะเป็นจากเชื้อชาติ พันธุกรรมและการรักษาที่แตกต่างกัน

ในปัจจุบันมีหลักฐานเพิ่มมากขึ้นเรื่อยๆว่า ในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรังโดยเฉพาะในสายพันธุ์ที่ 1 ที่ตอบสนองดีกับยาสูตรมาตรฐานมีระดับซีรัม DPP4 ก่อนการรักษาน้อยกว่าผู้ป่วยที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ[93] ซึ่งอธิบายจากการที่ DPP4 มีส่วนสำคัญในการกระตุ้น T-cell แต่จากการศึกษานี้พบว่าค่าเฉลี่ยของซีรัม DPP 4 ในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรังสายพันธุ์ 1 ที่ตอบสนองต่อการรักษามีค่าไม่ต่างกับผู้ป่วยที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษา จึงยังเป็นที่น่าสนใจและต้องการการศึกษาเพิ่มเติมว่าซีรัม DPP 4 จริงๆแล้วมีความเกี่ยวข้องกับการรักษาหรือไม่

อย่างไรก็ตามผู้ป่วยที่เข้าร่วมการศึกษานี้เมื่อวิเคราะห์จะพบว่า ผู้ป่วยส่วนใหญ่คือร้อยละ 80 ตรวจไม่พบเชื้อไวรัสตับอักเสบซีที่ 12 สัปดาห์หลังเริ่มการรักษา (Relapser) ส่วนที่เหลืออีกร้อยละ 20 นั้นเป็นกลุ่ม Non-responder หรือ partial responder ซึ่งเป็นกลุ่มที่รักษาหายได้ยากกว่า จึงอาจจะเป็นอีกหนึ่งปัจจัยที่ทำให้ไม่พบความแตกต่างของการเกิดโพลีมอร์ฟิซึมของยีน CXCL10 และ DPP4 เนื่องจากผู้ป่วยส่วนน้อยที่เป็นกลุ่มที่รักษายากซึ่งอาจจะเป็นกลุ่มที่มีปัจจัยด้านความผันแปรทางพันธุกรรมแอบแฝงอยู่ ในการศึกษานี้มีข้อจำกัดหลายประการ การเก็บข้อมูลของผู้ป่วยจำนวนหนึ่งเป็นแบบย้อนหลังทำให้มีข้อมูลบางส่วนไม่ครบถ้วน นอกจากนี้ในการคัดเลือกผู้ป่วยเข้าการศึกษานี้เกิด selection bias เพราะผู้ป่วยที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษามีน้อยกว่าตอบสนองตามธรรมชาติของผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรังสายพันธุ์ที่ 1 มีโอกาสตอบสนองมากกว่าไม่ตอบสนอง จึงหลีกเลี่ยงไม่ได้ที่จะเลือกผู้ป่วยที่ไม่ตอบสนองจากโรงพยาบาลศรีนครินทร์มากขึ้นจากการที่จำนวนของผู้ป่วยที่ไม่ตอบสนองการรักษาจากโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ไม่เพียงพอ อีกประการหนึ่งคือการตรวจชนิดของสายพันธุ์ของไวรัสตับอักเสบซีใช้เครื่องมือที่เรียกว่า Versant HCV genotype assay (LIPA) ซึ่งในการตรวจช่วงแรกๆที่เครื่องมือนี้ยังไม่ได้มีการพัฒนาเต็มที่นั้นจะไม่สามารถแยกชนิดไวรัสตับอักเสบซีสายพันธุ์ที่ 1 และสายพันธุ์ที่ 6 ได้จึงมีโอกาสเป็นไปได้ว่าผู้ป่วยที่เคยได้รับการรักษาส่วนหนึ่งอาจจะไม่ใช่สายพันธุ์ที่ 1 จริง สุดท้ายซีรัมที่ส่งตรวจเป็นหลังจากหยุดการรักษาแล้วในระยะเวลาที่ไม่เท่ากัน ค่าที่ได้จึงอาจมีความผันแปรได้ และผลของการขึ้นลงของซีรัม DPP 4 อาจจะมีเหตุจากปัจจัยอื่นๆ อีกนอกเหนือจากการรักษาและไวรัสตับอักเสบซี เมื่อวิเคราะห์ถึงความสัมพันธ์ของการเกิดโพลีมอร์ฟิซึมของยีน DPP 4 และระดับของซีรัม DPP 4 ในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรังสายพันธุ์ที่ 1 พบว่าที่ตำแหน่ง rs13015258 ของ DPP 4 ผู้ป่วยที่มี A/A genotype จะมีซีรัม DPP 4 สูงกว่า A/C และ C/C genotype ตามลำดับ โดยที่กลไกยังไม่ทราบแน่ชัด อาจเพราะการเกิดโพลีมอร์ฟิซึมที่ตำแหน่งนี้

อาจมีผลต่อ mRNA expression ของ DPP 4 และทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของระดับ ซีรัม DPP 4 แต่อย่างไรก็ตาม A/A genotype ก็ไม่มีความแตกต่างกันระหว่างผู้ป่วยทั้งสองกลุ่ม

กล่าวโดยสรุปในปัจจุบันแม้จะมีหลักฐานจากการศึกษาชี้ให้เห็นว่าระดับ IP-10 และ DPP4 ก่อนการรักษาในซีรัมมีผลต่อการหายของไวรัสซีจากการักษาก็ตาม แต่จากการศึกษาวิจัยชิ้นนี้ ชี้ให้เห็นว่าความแตกต่างของพันธุกรรม (SNPs) ของยีนทั้งสองชนิด ไม่มีผลต่อการหายของโรค ซึ่งพอจะอนุมานได้ว่าระดับของ IP-10 และ DPP4 ในซีรัมที่มีผลต่อการรักษาของโรคไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรังชนิดสายพันธุ์ที่ 1 นี้เกิดจากปัจจัยอื่นในระดับ post translation หรือ network ของการทำงานของ chemokine อื่นๆ จนทำให้ระดับของ IP-10 และ DPP4 ในซีรัมแตกต่างกันในผู้ป่วยที่หายและไม่หายจากการรักษาด้วยยาสูตรมาตรฐาน

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

รายการอ้างอิง

1. Darling JM, Aerssens J, Fanning G, et al. Quantitation of pretreatment serum interferon-gamma-inducible protein-10 improves the predictive value of an IL28B gene polymorphism for hepatitis C treatment response. *Hepatology.* Jan 2011;53(1):14-22.

2. Narumi S, Tominaga Y, Tamaru M, et al. Expression of IFN-inducible protein-10 in chronic hepatitis. *J Immunol.* Jun 1 1997;158(11):5536-5544.

3. Beinhardt S, Aberle JH, Strasser M, et al. Serum level of IP-10 increases predictive value of IL28B polymorphisms for spontaneous clearance of acute HCV infection. *Gastroenterology.* Jan 2012;142(1):78-85 e72.

4. Casrouge A, Decalf J, Ahloulay M, et al. Evidence for an antagonist form of the chemokine CXCL10 in patients chronically infected with HCV. *The Journal of clinical investigation.* Jan 4 2011;121(1):308-317.

5. Deng G, Zhou G, Zhang R, et al. Regulatory polymorphisms in the promoter of CXCL10 gene and disease progression in male hepatitis B virus carriers. *Gastroenterology.* Mar 2008;134(3):716-726.

6. Bouchard L, Faucher G, Tchernof A, et al. Comprehensive genetic analysis of the dipeptidyl peptidase-4 gene and cardiovascular disease risk factors in obese individuals. *Acta diabetologica.* Mar 2009;46(1):13-21.

7. Turcot V, Bouchard L, Faucher G, et al. DPP4 gene DNA methylation in the omentum is associated with its gene expression and plasma lipid profile in severe obesity. *Obesity (Silver Spring).* Feb 2011;19(2):388-395.

8. Fattovich G, Covolo L, Bibert S, et al. IL28B polymorphisms, IP-10 and viral load predict virological response to therapy in chronic hepatitis C. *Alimentary pharmacology & therapeutics.* May 2011;33(10):1162-1172.

9. Lavanchy D. Evolving epidemiology of hepatitis C virus. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases.* Feb 2011;17(2):107-115.

10. Lavanchy D. The global burden of hepatitis C. *Liver international : official journal of the International Association for the Study of the Liver.* Jan 2009;29 Suppl 1:74-81.

CHULALONGKORN UNIVERSITY

11. Chimparlee N, Oota S, Phikulsod S, Tangkijvanich P, Poovorawan Y. Hepatitis B and hepatitis C virus in Thai blood donors. *The Southeast Asian journal of tropical medicine and public health.* May 2011;42(3):609-615.

12. Rosen HR. Clinical practice. Chronic hepatitis C infection. *The New England journal of medicine.* Jun 23 2011;364(25):2429-2438.

13. Wang CC, Krantz E, Klarquist J, et al. Acute hepatitis C in a contemporary US cohort: modes of acquisition and factors influencing viral clearance. *The Journal of infectious diseases.* Nov 15 2007;196(10):1474-1482.

14. Armstrong GL, Wasley A, Simard EP, McQuillan GM, Kuhnert WL, Alter MJ. The prevalence of hepatitis C virus infection in the United States, 1999 through 2002. *Annals of internal medicine.* May 16 2006;144(10):705-714.

15. EASL Clinical Practice Guidelines: management of hepatitis C virus infection. *Journal of hepatology.* Aug 2011;55(2):245-264.

16. Afdhal NH. The natural history of hepatitis C. *Seminars in liver disease.* 2004;24 Suppl 2:3-8.

17. Thompson Coon J, Rogers G, Hewson P, et al. Surveillance of cirrhosis for hepatocellular carcinoma: systematic review and economic analysis. *Health Technol Assess.* Sep 2007;11(34):1-206.

18. Antaki N, Craxi A, Kamal S, et al. The neglected hepatitis C virus genotypes 4, 5 and 6: an international consensus report. *Liver international : official journal of the International Association for the Study of the Liver.* Mar 2010;30(3):342-355.

19. Hoofnagle JH, Seeff LB. Peginterferon and ribavirin for chronic hepatitis C. *The New England journal of medicine.* Dec 7 2006;355(23):2444-2451.

20. Thursz M, Yee L, Khakoo S. Understanding the host genetics of chronic hepatitis B and C. *Seminars in liver disease.* May 2011;31(2):115-127.

21. Lai WK, Sun PJ, Zhang J, et al. Expression of DC-SIGN and DC-SIGNR on human sinusoidal endothelium: a role for capturing hepatitis C virus particles. *The American journal of pathology.* Jul 2006;169(1):200-208.

22. Heydtmann M, Adams DH. Chemokines in the immunopathogenesis of hepatitis C infection. *Hepatology.* Feb 2009;49(2):676-688.

23. Rehermann B, Nascimbeni M. Immunology of hepatitis B virus and hepatitis C virus infection. *Nature reviews. Immunology.* Mar 2005;5(3):215-229.

24. Shields PL, Morland CM, Salmon M, Qin S, Hubscher SG, Adams DH. Chemokine and chemokine receptor interactions provide a mechanism for selective T cell recruitment to specific liver compartments within hepatitis C-infected liver. *J Immunol.* Dec 1 1999;163(11):6236-6243.

25. Napoli J, Bishop GA, McGuinness PH, Painter DM, McCaughan GW. Progressive liver injury in chronic hepatitis C infection correlates with increased intrahepatic expression of Th1-associated cytokines. *Hepatology.* Oct 1996;24(4):759-765.

26. Leroy V, Vigan I, Mosnier JF, et al. Phenotypic and functional characterization of intrahepatic T lymphocytes during chronic hepatitis C. *Hepatology.* Oct 2003;38(4):829-841.

27. Heydtmann M, Lalor PF, Eksteen JA, Hubscher SG, Briskin M, Adams DH. CXC chemokine ligand 16 promotes integrin-mediated adhesion of liver-infiltrating lymphocytes to cholangiocytes and hepatocytes within the inflamed human liver. *J Immunol.* Jan 15 2005;174(2):1055-1062.

28. Curbishley SM, Eksteen B, Gladue RP, Lalor P, Adams DH. CXCR 3 activation promotes lymphocyte transendothelial migration across human hepatic endothelium under fluid flow. *The American journal of pathology.* Sep 2005;167(3):887-899.

29. Hess C, Altfeld M, Thomas SY, et al. HIV-1 specific CD8+ T cells with an effector phenotype and control of viral replication. *Lancet.* Mar 13 2004;363(9412):863-866.

30. Oo YH, Adams DH. The role of chemokines in the recruitment of lymphocytes to the liver. *Journal of autoimmunity.* Feb 2010;34(1):45-54.

31. Qin S, Rottman JB, Myers P, et al. The chemokine receptors CXCR3 and CCR5 mark subsets of T cells associated with certain inflammatory reactions. *The Journal of clinical investigation.* Feb 15 1998;101(4):746-754.

32. Butera D, Marukian S, Iwamaye AE, et al. Plasma chemokine levels correlate with the outcome of antiviral therapy in patients with hepatitis C. *Blood.* Aug 15 2005;106(4):1175-1182.

33. Larrubia JR, Calvino M, Benito S, et al. The role of CCR5/CXCR3 expressing CD8+ cells in liver damage and viral control during persistent hepatitis C virus infection. *Journal of hepatology.* Nov 2007;47(5):632-641.

34. Thimme R, Oldach D, Chang KM, Steiger C, Ray SC, Chisari FV. Determinants of viral clearance and persistence during acute hepatitis C virus infection. *The Journal of experimental medicine.* Nov 19 2001;194(10):1395-1406.

35. Grakoui A, Shoukry NH, Woollard DJ, et al. HCV persistence and immune evasion in the absence of memory T cell help. *Science.* Oct 24 2003;302(5645):659-662.

36. Wertheimer AM, Miner C, Lewinsohn DM, Sasaki AW, Kaufman E, Rosen HR. Novel CD4+ and CD8+ T-cell determinants within the NS3 protein in subjects with spontaneously resolved HCV infection. *Hepatology.* Mar 2003;37(3):577-589.

37. Cerny A, Chisari FV. Pathogenesis of chronic hepatitis C: immunological features of hepatic injury and viral persistence. *Hepatology.* Sep 1999;30(3):595-601.

38. Tilg H. New insights into the mechanisms of interferon alfa: an immunoregulatory and anti-inflammatory cytokine. *Gastroenterology.* Mar 1997;112(3):1017-1021.

39. Glue P, Fang JW, Rouzier-Panis R, et al. Pegylated interferon-alpha2b: pharmacokinetics, pharmacodynamics, safety, and preliminary efficacy data. Hepatitis C Intervention Therapy Group. *Clinical pharmacology and therapeutics.* Nov 2000;68(5):556-567.

40. Feld JJ, Hoofnagle JH. Mechanism of action of interferon and ribavirin in treatment of hepatitis C. *Nature.* Aug 18 2005;436(7053):967-972.

41. Shiffman ML, Suter F, Bacon BR, et al. Peginterferon alfa-2a and ribavirin for 16 or 24 weeks in HCV genotype 2 or 3. *The New England journal of medicine.* Jul 12 2007;357(2):124-134.

42. Torriani FJ, Rodriguez-Torres M, Rockstroh JK, et al. Peginterferon Alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection in HIV-infected patients. *The New England journal of medicine.* Jul 29 2004;351(5):438-450.

43. Manns MP, McHutchison JG, Gordon SC, et al. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomised trial. *Lancet.* Sep 22 2001;358(9286):958-965.

44. Poynard T, McHutchison J, Goodman Z, Ling MH, Albrecht J. Is an "a la carte" combination interferon alfa-2b plus ribavirin regimen possible for the first line treatment in patients with chronic hepatitis C? The ALGOVIRC Project Group. *Hepatology.* Jan 2000;31(1):211-218.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

45. Brau N, Bini EJ, Currie S, et al. Black patients with chronic hepatitis C have a lower sustained viral response rate than non-Blacks with genotype 1, but the same with genotypes 2/3, and this is not explained by more frequent dose reductions of interferon and ribavirin*. *Journal of viral hepatitis.* Apr 2006;13(4):242-249.

46. McHutchison JG, Poynard T, Pianko S, et al. The impact of interferon plus ribavirin on response to therapy in black patients with chronic hepatitis C. The International Hepatitis Interventional Therapy Group. *Gastroenterology.* Nov 2000;119(5):1317-1323.

47. Berg T, von Wagner M, Nasser S, et al. Extended treatment duration for hepatitis C virus type 1: comparing 48 versus 72 weeks of peginterferon-alfa-2a plus ribavirin. *Gastroenterology.* Apr 2006;130(4):1086-1097.

48. Bressler BL, Guindi M, Tomlinson G, Heathcote J. High body mass index is an independent risk factor for nonresponse to antiviral treatment in chronic hepatitis C. *Hepatology.* Sep 2003;38(3):639-644.

49. Everson GT, Hoefs JC, Seeff LB, et al. Impact of disease severity on outcome of antiviral therapy for chronic hepatitis C: Lessons from the HALT-C trial. *Hepatology.* Dec 2006;44(6):1675-1684.

50. Poynard T, Ratziu V, McHutchison J, et al. Effect of treatment with peginterferon or interferon alfa-2b and ribavirin on steatosis in patients infected with hepatitis C. *Hepatology.* Jul 2003;38(1):75-85.

51. Zeuzem S, Hultcrantz R, Bourliere M, et al. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin for treatment of chronic hepatitis C in previously untreated patients infected with HCV genotypes 2 or 3. *Journal of hepatology.* Jun 2004;40(6):993-999.

52. Thompson AJ, Muir AJ, Sulkowski MS, et al. Interleukin-28B polymorphism improves viral kinetics and is the strongest pretreatment predictor of sustained virologic response in genotype 1 hepatitis C virus. *Gastroenterology.* Jul 2010;139(1):120-129 e118.

53. Asselah T, De Muynck S, Broet P, et al. IL28B polymorphism is associated with treatment response in patients with genotype 4 chronic hepatitis C. *Journal of hepatology.* Mar 2012;56(3):527-532.

54. Gonzalez SA, Keeffe EB. IL-28B As a Predictor of Sustained Virologic Response in Patients with Chronic Hepatitis C Virus Infection. *Gastroenterology & hepatology.* Jun 2011;7(6):366-373.

55. Huang CF, Huang JF, Yang JF, et al. Interleukin-28B genetic variants in identification of hepatitis C virus genotype 1 patients responding to 24 weeks peginterferon/ribavirin. *Journal of hepatology.* Jan 2012;56(1):34-40.

56. Romero-Gomez M, Del Mar Viloria M, Andrade RJ, et al. Insulin resistance impairs sustained response rate to peginterferon plus ribavirin in chronic hepatitis C patients. *Gastroenterology.* Mar 2005;128(3):636-641.

57. Ferenci P, Laferl H, Scherzer TM, et al. Peginterferon alfa-2a and ribavirin for 24 weeks in hepatitis C type 1 and 4 patients with rapid virological response. *Gastroenterology.* Aug 2008;135(2):451-458.

58. Dalgard O, Bjoro K, Ring-Larsen H, et al. Pegylated interferon alfa and ribavirin for 14 versus 24 weeks in patients with hepatitis C virus genotype 2 or 3 and rapid virological response. *Hepatology.* Jan 2008;47(1):35-42.

59. Jensen DM, Morgan TR, Marcellin P, et al. Early identification of HCV genotype 1 patients responding to 24 weeks peginterferon alpha-2a (40 kd)/ribavirin therapy. *Hepatology.* May 2006;43(5):954-960.

60. Zeuzem S, Buti M, Ferenci P, et al. Efficacy of 24 weeks treatment with peginterferon alfa-2b plus ribavirin in patients with chronic hepatitis C infected with genotype 1 and low pretreatment viremia. *Journal of hepatology.* Jan 2006;44(1):97-103.

61. Mangia A, Santoro R, Minerva N, et al. Peginterferon alfa-2b and ribavirin for 12 vs. 24 weeks in HCV genotype 2 or 3. *The New England journal of medicine.* Jun 23 2005;352(25):2609-2617.

62. Davis GL, Wong JB, McHutchison JG, Manns MP, Harvey J, Albrecht J. Early virologic response to treatment with peginterferon alfa-2b plus ribavirin in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology.* Sep 2003;38(3):645-652.

63. Kamal SM, El Kamary SS, Shardell MD, et al. Pegylated interferon alpha-2b plus ribavirin in patients with genotype 4 chronic hepatitis C: The role of rapid and early virologic response. *Hepatology.* Dec 2007;46(6):1732-1740.

64. O'Donovan N, Galvin M, Morgan JG. Physical mapping of the CXC chemokine locus on human chromosome 4. *Cytogenetics and cell genetics.* 1999;84(1-2):39-42.

65. Angiolillo AL, Sgadari C, Taub DD, et al. Human interferon-inducible protein 10 is a potent inhibitor of angiogenesis in vivo. *The Journal of experimental medicine.* Jul 1 1995;182(1):155-162.

66. Dufour JH, Dziejman M, Liu MT, Leung JH, Lane TE, Luster AD. IFN-gamma-inducible protein 10 (IP-10; CXCL10)-deficient mice reveal a role for IP-10 in effector T cell generation and trafficking. *J Immunol.* Apr 1 2002;168(7):3195-3204.

67. Harvey CE, Post JJ, Palladinetti P, et al. Expression of the chemokine IP-10 (CXCL10) by hepatocytes in chronic hepatitis C virus infection correlates with histological severity and lobular inflammation. *Journal of leukocyte biology.* Sep 2003;74(3):360-369.

68. Yoneda S, Umemura T, Joshita S, et al. Serum chemokine levels are associated with the outcome of pegylated interferon and ribavirin therapy in patients with chronic hepatitis C. *Hepatol Res.* Jun 2011;41(6):587-593.

69. Romero AI, Lagging M, Westin J, et al. Interferon (IFN)-gamma-inducible protein-10: association with histological results, viral kinetics, and outcome during treatment with pegylated IFN-alpha 2a and ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *The Journal of infectious diseases.* Oct 1 2006;194(7):895-903.

70. Lagging M, Romero AI, Westin J, et al. IP-10 predicts viral response and therapeutic outcome in difficult-to-treat patients with HCV genotype 1 infection. *Hepatology.* Dec 2006;44(6):1617-1625.

71. Diago M, Castellano G, Garcia-Samaniego J, et al. Association of pretreatment serum interferon gamma inducible protein 10 levels with sustained virological response to peginterferon plus ribavirin therapy in genotype 1 infected patients with chronic hepatitis C. *Gut.* Mar 2006;55(3):374-379.

72. Lagging M, Askarieh G, Negro F, et al. Response prediction in chronic hepatitis C by assessment of IP-10 and IL28B-related single nucleotide polymorphisms. *PLoS One.* 2011;6(2):e17232.

73. Apolinario A, Diago M, Lo Iacono O, et al. Increased circulating and intrahepatic T-cell-specific chemokines in chronic hepatitis C: relationship with the type of virological response to peginterferon plus ribavirin combination therapy. *Alimentary pharmacology & therapeutics.* Mar 1 2004;19(5):551-562.

74. Askarieh G, Alsio A, Pugnale P, et al. Systemic and intrahepatic interferon-gamma-inducible protein 10 kDa predicts the first-phase decline in hepatitis C virus RNA and overall viral response to therapy in chronic hepatitis C. *Hepatology.* May 2010;51(5):1523-1530.

75. You CR, Park SH, Jeong SW, et al. Serum IP-10 Levels Correlate with the Severity of Liver Histopathology in Patients Infected with Genotype-1 HCV. *Gut and liver.* Dec 2011;5(4):506-512.

76. Tang NL, Fan HP, Chang KC, et al. Genetic association between a chemokine gene CXCL-10 (IP-10, interferon gamma inducible protein 10) and susceptibility to tuberculosis. *Clin Chim Acta.* Aug 2009;406(1-2):98-102.

77. Gottlieb AB, Luster AD, Posnett DN, Carter DM. Detection of a gamma interferon-induced protein IP-10 in psoriatic plaques. *The Journal of experimental medicine.* Sep 1 1988;168(3):941-948.

78. Sorensen TL, Tani M, Jensen J, et al. Expression of specific chemokines and chemokine receptors in the central nervous system of multiple sclerosis patients. *The Journal of clinical investigation.* Mar 1999;103(6):807-815.

79. Patel DD, Zachariah JP, Whichard LP. CXCR3 and CCR5 ligands in rheumatoid arthritis synovium. *Clin Immunol.* Jan 2001;98(1):39-45.

80. Schwartz TW, Frimurer TM, Holst B, Rosenkilde MM, Elling CE. Molecular mechanism of 7TM receptor activation--a global toggle switch model. *Annual review of pharmacology and toxicology.* 2006;46:481-519.

81. Loos T, Mortier A, Gouwy M, et al. Citrullination of CXCL10 and CXCL11 by peptidylarginine deiminase: a naturally occurring posttranslational modification of chemokines and new dimension of immunoregulation. *Blood.* Oct 1 2008;112(7):2648-2656.

82. Van den Steen PE, Husson SJ, Proost P, Van Damme J, Opdenakker G. Carboxyterminal cleavage of the chemokines MIG and IP-10 by gelatinase B and neutrophil collagenase. *Biochemical and biophysical research communications.* Oct 24 2003;310(3):889-896.

83. Gorrell MD. Dipeptidyl peptidase IV and related enzymes in cell biology and liver disorders. *Clin Sci (Lond).* Apr 2005;108(4):277-292.

84. Mentzel S, Dijkman HB, Van Son JP, Koene RA, Assmann KJ. Organ distribution of aminopeptidase A and dipeptidyl peptidase IV in normal mice. *The journal of histochemistry and cytochemistry : official journal of the Histochemistry Society.* May 1996;44(5):445-461.

85. Chen X. Biochemical properties of recombinant prolyl dipeptidases DPP-IV and DPP8. *Advances in experimental medicine and biology.* 2006;575:27-32.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

86. Barnett A. DPP-4 inhibitors and their potential role in the management of type 2 diabetes. *International journal of clinical practice.* Nov 2006;60(11):1454-1470.

87. Masur K, Schwartz F, Entschladen F, Niggemann B, Zaenker KS. DPPIV inhibitors extend GLP-2 mediated tumour promoting effects on intestinal cancer cells. *Regulatory peptides.* Dec 10 2006;137(3):147-155.

88. Wesley UV, McGroarty M, Homoyouni A. Dipeptidyl peptidase inhibits malignant phenotype of prostate cancer cells by blocking basic fibroblast growth factor signaling pathway. *Cancer research.* Feb 15 2005;65(4):1325-1334.

89. Pro B, Dang NH. CD26/dipeptidyl peptidase IV and its role in cancer. *Histology and histopathology.* Oct 2004;19(4):1345-1351.

90. Tanaka T, Kameoka J, Yaron A, Schlossman SF, Morimoto C. The costimulatory activity of the CD26 antigen requires dipeptidyl peptidase IV enzymatic activity. *Proc Natl Acad Sci U S A.* May 15 1993;90(10):4586-4590.

91. Ohnuma K, Munakata Y, Ishii T, et al. Soluble CD26/dipeptidyl peptidase IV induces T cell proliferation through CD86 up-regulation on APCs. *J Immunol.* Dec 15 2001;167(12):6745-6755.

92. Yang SS, Fu LS, Chang CS, Yeh HZ, Chen GH, Kao JH. Changes of soluble CD26 and CD30 levels correlate with response to interferon plus ribavirin therapy in patients with chronic hepatitis C. *Journal of gastroenterology and hepatology.* Dec 2006;21(12):1789-1793.

93. Soderholm J, Waldenstrom J, Askarieh G, et al. Impact of soluble CD26 on treatment outcome and hepatitis C virus-specific T cells in chronic hepatitis C virus genotype 1 infection. *PLoS One.* 2013;8(2):e56991.

94. Charles ED, Dustin LB. Chemokine antagonism in chronic hepatitis C virus infection. *The Journal of clinical investigation.* Jan 2011;121(1):25-27.

ภาคผนวก

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก ก

ข้อมูลสำหรับผู้เข้าร่วมโครงการวิจัย

ชื่อโครการวิจัย

ความแตกต่างของการเกิดพอลีมอร์ฟิซึมของยีนไอพีเทนในกลุ่มผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีที่ตอบสนองและไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาเพ็กกีเลตเต็ดอินเตอร์เฟียรอนและไรบาวิริน

ผู้สนับสนุนการวิจัย

สาขาวิชาโรคระบบทางเดินอาหารและตับ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

แพทย์ผู้ทำวิจัยหลัก

แพทย์หญิง เกศรินทร์ ถานะภิรมย์

สาขาวิชาโรคระบบทางเดินอาหารและตับ ตึกพร้อมพันธ์ ชั้น 1 โรงพยาบาล จุฬาลงกรณ์

โทรศัพท์ 02 – 256-4265, 083-068-5211

แพทย์ผู้ทำวิจัยร่วม

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ ดอกเตอร์ ปิยะวัฒน์ โกมลมิศร์ (อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการ)

สาขาวิชาโรคทางเดินอาหาร ตึกพร้อมพันธ์ ชั้น 1 โรงพยาบาล จุฬาลงกรณ์

ศาสตราจารย์ นายแพทย์ ยง ภู่วรวรรณ

ศูนย์วิจัยอณูวิทยาทางการแพทย์ ตึกสก.ชั้น 9 โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

ศาสตราจารย์ นายแพทย์ พิสิฐ ตั้งกิจวานิชย์

ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ตึกแพทยพัฒน์ โทรศัพท์ 089-667-3199

เรียนผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยทุกท่าน

ท่านได้รับเชิญให้เข้าร่วมงานวิจัยนี้ เนื่องจากท่านเป็นผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรัง ก่อนที่ท่านจะตัดสินใจเข้าร่วมในการศึกษาวิจัยดังกล่าว ขอให้ท่านอ่านเอกสารฉบับนี้อย่างถี่ถ้วน เพื่อให้ท่านได้ทราบถึง

เหตุผลและรายละเอียดของการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ หากท่านมีข้อสงสัยใดๆเพิ่มเติม กรุณาซักถามจากทีมงานของแพทย์ผู้ทำวิจัย หรือ แพทย์ผู้ร่วมทำวิจัยซึ่งจะเป็นผู้สามารถตอบคำถามและให้ความกระจ่างแก่ท่านได้

ท่านสามารถขอคำแนะนำในการเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้จากครอบครัว เพื่อน หรือ แพทย์ประจำตัวของท่านได้ ท่านมีเวลาอย่างเพียงพอในการตัดสินใจ โดยอิสระ ถ้าท่านตัดสินใจแล้วว่าจะเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้ ขอให้ท่านลงนามในเอกสารแสดงความยินยอมของโครงการวิจัยนี้

เหตุผลและความเป็นมา

ในปัจจุบันการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซี เป็นปัญหาสำคัญทางสาธารณสุขของประเทศไทยและทั่วโลก การรักษามาตรฐานในปัจจุบันคือการใช้ยาเพ็กกีเลตเด็ดอินเตอร์เฟียรอน (Pegylated interferon: Peg-IFN) และไรบาวิริน (Ribavirin) จากการศึกษาที่ในอดีตเริ่มมีข้อมูลที่น่าสนใจมากขึ้นว่าลักษณะทางพันธุกรรมบางอย่างโดยเฉพาะอย่างยิ่งความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์ (nucleotide) ในสายดีเอ็นเอ (DNA) เพียง 1 ตำแหน่งหรือที่เรียกว่า Single nucleotide polymorphisms (SNPs) ส่งผลต่อการแสดงออกของยีน และเป็นปัจจัยที่มีผลต่อการตอบสนองต่อการรักษาในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรัง

เมื่อมีการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซี ระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายจะมีปฏิกิริยาตอบสนองผ่านในหลายๆ กระบวนการเพื่อกระตุ้น T lymphocyte โดยหนึ่งในกระบวนการกระตุ้นนั้นอาศัยสารเคมีที่เรียกว่า chemokine จากหลักฐานการศึกษาต่างๆ ที่ผ่านมาในอดีตพบว่า Interferon-gamma-inducible protein 10 (IP-10) เป็น chemokine ที่สำคัญของการตอบสนองจากภูมิคุ้มกันต่อการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซี พบว่าระดับของ IP-10 ที่น้อยมีความสัมพันธ์กับการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาสูตรมาตรฐานในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีที่มากขึ้น[1-3] ซึ่งความสัมพันธ์นี้ยังเป็นที่สงสัยว่าเหตุใดระดับ IP-10 ที่น้อยซึ่งน่าจะทำให้การกระตุ้นภูมิคุ้มกันในร่างกายลดลงจึงทำให้ผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีหายมากขึ้น จนนำไปสู่การค้นคว้าหาคำตอบในการศึกษาต่างๆ และพบว่าระดับซีรัม IP-10 ถูกเปลี่ยนแปลงโครงสร้างโดยโปรตีนตัวหนึ่งไปทำให้ IP-10 ไม่สามารถทำหน้าที่ได้เหมือนเดิม โปรตีนนี้มีชื่อว่า Dipeptidyl Peptidease IV (DPP IV, CD26)[4] สอดคล้องกับข้อมูลในปัจจุบันที่พบว่าระดับ serum activity ของ DPP4 ที่ลดลงสัมพันธ์กับผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีหายมากขึ้น หลักฐานต่างๆ ยังบ่งชี้ไปว่าการทำงานของ IP-10 และ DPP4 มีความเกี่ยวเนื่องกับ SNPs ของ gene IP-10 และ DPP4 ก่อให้เกิดความเสี่ยงต่อการเกิดโรค เช่น SNPs ของ Promoter ของ IP-10 gene สัมพันธ์กับการดำเนินโรคที่รุนแรงขึ้นในผู้ป่วยพาหะไวรัสตับอักเสบบี[5] ความสัมพันธ์ของการเกิด SNPs ของยีน IP-10 และ DPP4 ในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซียังไม่เคยมีการศึกษามาก่อน และจากเหตุผลความสัมพันธ์ที่กล่าวมาข้างต้น

จึงเป็นที่มาของการศึกษานี้เพื่อที่จะศึกษาถึงการเกิดพอลีมอร์ฟิซึม ของยีน IP-10, DPP4 และระดับการทำงานของสาร DPP4 ว่ามีความสัมพันธ์กับการตอบสนองต่อการรักษาผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีด้วยยา Pegylated interferon และ ribavirin หรือไม่

วัตถุประสงค์ของการศึกษา

เพื่อตรวจหาลักษณะของยีนหลายประเภท และระดับการทำงานของสาร DPP4 ในเลือด ที่อาจส่งผลกระทบต่อการรักษาโรคไวรัสซี ซึ่งบางท่านได้หายจากโรคแล้ว หรือ บางท่านโรคไวรัสตับอักเสบซียังมีอยู่ อันจะเป็นประโยชน์ ต่อข้อมูลที่จะนำไปใช้วางแผนการรักษาผู้ป่วยในอนาคต เช่น การตรวจหาการลักษณะของยีนก่อนเริ่มการรักษาไวรัสตับอักเสบซี

วิธีการที่เกี่ยวข้องกับการวิจัย

หลังจากท่านให้ความยินยอมที่จะเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้ ทางทีมผู้วิจัยจะขอเจาะเลือด 1 ครั้ง ปริมาณ 10 มิลลิลิตร (2 ช้อนชา) เพื่อตรวจระดับของสารที่เกี่ยวข้องกับภูมิต้านทาน และยีนต่างๆที่อาจส่งผลกระทบต่อการรักษาไวรัสซี และทางทีมผู้วิจัย จะทบทวนประวัติการรักษาไวรัสซีรวมถึงข้อมูลการรักษาที่ผ่านมาเพื่อนำไปวิเคราะห์เพิ่มเติม เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของปริมาณสารภูมิต้านทานเลือดและความแตกต่างของยีนที่เกี่ยวข้องกับภาวะการหายของโรคไวรัสตับอักเสบซี

หลังจากเสร็จสิ้นงานวิจัย จะมีการเก็บตัวอย่างเลือดและ DNA ไว้ที่หน่วยโรคระบบทางเดินอาหาร เลขที่ 1873 ตึกพร้อมพันธุ์ ชั้น 1 สาขาวิชาโรคทางเดินอาหาร โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ถนนพระรามสี่ ปทุมวัน กรุงเทพ 10330 เพื่อใช้ในการตรวจการกลายพันธุ์ของยีนตัวอื่นที่อาจเกี่ยวข้องกับการหายของไวรัสตับอักเสบซีในอนาคต โดยจะเก็บไว้นาน 15 ปีจึงจะทำลาย และหากถ้ามีการใช้ตัวอย่างเหล่านี้เพื่อทำการศึกษาจะมีการเขียนเพื่อขอคำอนุญาตจากคณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัยต่อไป

ความเสี่ยงที่อาจได้รับ

มีความเสี่ยงหรือผลกระทบอยู่บ้าง ต่อชีวิตประจำวัน เช่น เสียเวลา ไม่สะดวก อาจสูญเสียเวลางานหรือรายได้ในวันที่ท่านมาตรวจเลือด หรือพบแพทย์ตามนัดปกติ

ความเสี่ยงที่อาจจะได้รับจากการเจาะเลือด

การตรวจนี้ เป็นการตรวจเลือดตามที่ปกติท่านต้องมาตรวจกับแพทย์เป็นระยะๆอยู่แล้ว เพื่อการติดตามโรคและคอยระวังการเกิดมะเร็งตับ ในการนี้ผู้วิจัยขอตรวจเลือดเพิ่มเติมจากเดิม 10 มิลลิลิตร (2 ช้อน

ชา) หรือ 1 หลอดขนาดเล็ก ซึ่งจะไม่มีผลกระทบ หรือก่อให้เกิดภาวะแทรกซ้อนใดๆ เพิ่มเติมจากการตรวจปกติตามที่ท่านเคยได้รับการตรวจอย่างสม่ำเสมอ ซึ่งการเจาะเลือดโดยปกตินั้น อาจก่อให้เกิด อาการเจ็บ เลือดออกซ้ำจากการเจาะเลือด บวมบริเวณที่เจาะ อาการหน้ามืด เป็นลมในคนที่กลัวการเจาะเลือด โอกาสการติดเชื้อจากการเจาะเลือดนั้นพบได้แต่น้อยมาก

ความเสี่ยงที่ไม่ทราบแน่นอน

ท่านอาจเกิดอาการข้างเคียง หรือความไม่สบาย นอกเหนือจากที่บรรยาย ข้างต้น หรือ เกิดอาการอื่นๆ ที่ไม่เกี่ยวเนื่องกับการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ ควรแจ้งแก่ผู้วิจัยให้ทราบ

หากท่านมีข้อสงสัยใดๆ เกี่ยวกับความเสี่ยงที่อาจได้รับจากการเข้าร่วมในโครงการวิจัย ท่านสามารถสอบถามจากผู้วิจัยได้ตลอดเวลา

ประโยชน์ที่อาจได้รับ

อาสาสมัครจะไม่ได้รับประโยชน์จากการเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้

ข้อปฏิบัติของท่านขณะที่ร่วมโครงการวิจัย

ไม่มีการปฏิบัติตัวเป็นพิเศษแตกต่างจากการตรวจเลือดปกติ ขอความกรุณาแจ้งอาการเจ็บป่วยอื่นแก่ผู้วิจัย เช่น กำลังเป็นไข้หวัด ติดเชื้อที่ต่าง เพราะจะต้องขอเลื่อนการเลือดออกไปก่อน

อันตรายที่อาจเกิดขึ้นจากการเข้าร่วมโครงการวิจัย และความรับผิดชอบของผู้ทำวิจัย

เนื่องจากอันตรายที่เกิดขึ้นจากการเข้าร่วมนี้น้อยมาก ในกรณีที่ท่านได้รับอันตรายหรือต้องการข้อมูลเพิ่มเติมที่เกี่ยวข้องกับการวิจัย ท่านสามารถติดต่อกับผู้ทำวิจัยคือแพทย์หญิง เกศรินทร์ ถานะภิรมย์ ตามเบอร์โทรศัพท์ข้างต้น

ค่าใช้จ่ายของท่านในการเข้าร่วมการวิจัย

อาสาสมัครไม่ต้องเสียค่าใช้จ่ายใดๆ ในการเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้

ค่าตอบแทนสำหรับผู้เข้าร่วมวิจัย

โครงการนี้ไม่มีค่าตอบแทนต่ออาสาสมัคร

การเข้าร่วมและการสิ้นสุดการเข้าร่วมโครงการ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

การเข้าร่วมโครงการนี้เป็นไปโดยความสมัครใจ หากท่านไม่สมัครใจเข้าร่วมศึกษาแล้ว ท่านสามารถถอนตัวได้ตลอดเวลา การขอถอนตัวออกจากโครงการวิจัยจะไม่มีผลต่อการดูแลรักษาโรคของท่านแต่อย่างใด

การปกป้องรักษาข้อมูลความลับของอาสาสมัคร

ข้อมูลที่อาจนำไปสู่การเปิดเผยตัวท่าน จะได้รับการปกปิดและจะไม่เปิดเผยแก่สาธารณชน ในกรณีที่ผลการวิจัยได้รับการตีพิมพ์ ชื่อ และที่อยู่ของท่านจะต้องได้รับการปกปิดอยู่เสมอ โดยจะใช้เฉพาะรหัสประจำโครงการวิจัยของท่าน จากการลงนามยินยอมของท่าน ผู้ทำวิจัยและผู้สนับสนุนการวิจัยสามารถเข้าไปตรวจสอบบันทึกข้อมูลทางการแพทย์ของท่านได้แม้จะสิ้นสุดโครงการวิจัยแล้วก็ตาม หากท่านต้องการยกเลิกการให้สิทธิ์ดังกล่าว ท่านสามารถแจ้งหรือเขียนบันทึกขอยกเลิกการให้คำยินยอม โดยส่งไปที่แพทย์หญิง เกศรินทร์ ถานะภิรมย์ เลขที่ 1873 ตึกพร้อมพันธุ์ ชั้น 1 สาขาวิชาโรคทางเดินอาหาร โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ถนนพระรามสี่ ปทุมวัน กรุงเทพ 10330

หากท่านขอยกเลิกการให้คำยินยอมหลังจากที่ท่านได้ร่วโครงการวิจัยแล้ว ข้อมูลส่วนตัวของท่านจะไม่ถูกบันทึกเพิ่มเติม อย่างไรก็ตามข้อมูลอื่นๆของท่านอาจถูกนำมาใช้เพื่อประเมินผลการวิจัย

จากการลงนามยินยอมของท่านแพทย์ผู้ทำวิจัยสามารถบอกรายละเอียดของท่านที่เกี่ยวกับการเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้ให้แก่แพทย์ผู้รักษาท่านได้

สิทธิ์ของผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย

ในฐานะที่ท่านเป็นผู้เข้าร่วมโครงการวิจัย ท่านจะมีสิทธิ์ดังต่อไปนี้

ท่านจะได้รับทราบถึงลักษณะและวัตถุประสงค์ของการวิจัยครั้งนี้

ท่านจะได้รับการอธิบายเกี่ยวกับระเบียบวิธีการของการวิจัยทางการแพทย์ รวมทั้งอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้

ท่านจะได้รับการอธิบายถึงความเสี่ยงและความไม่สบายที่จะได้รับจากการวิจัย

ท่านจะได้รับการอธิบายถึงประโยชน์ที่ท่านอาจจะได้รับจากการวิจัย

ท่านจะได้รับการแนะนำในการรักษา ถ้าผลการตรวจวินิจฉัยพบความผิดปกติ

ท่านจะได้รับทราบแนวทางการรักษา ในกรณีที่พบโรคแทรกซ้อนภายหลังการเข้าร่วมในโครงการวิจัย

ท่านจะมีโอกาสได้ซักถามเกี่ยวกับงานวิจัยหรือขั้นตอนที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัย

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ท่านจะได้รับทราบว่าการยินยอมเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้ ท่านสามารถขอถอนตัวจากโครงการเมื่อไรก็ได้ โดยผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัยสามารถถอนตัวจากโครงการได้โดยไม่ได้รับผลกระทบใดๆทั้งสิ้น

ท่านจะได้รับสำเนาเอกสารใบยินยอมที่มีลายเซ็นและวันที่ และได้รับสำเนาเอกสารข้อมูลสำหรับผู้เข้าร่วมงานวิจัย

ท่านมีโอกาสในการตัดสินใจว่าจะเข้าร่วมในโครงการวิจัยหรือไม่ก็ได้ โดยปราศจากการใช้อิทธิพลบังคับ ข่มขู่ หรือการหลอกลวง

หากท่านไม่ได้รับการชดเชยอันควรต่อการบาดเจ็บหรือเจ็บป่วยที่เกิดขึ้นโดยตรงจากการวิจัย หรือท่านไม่ได้รับการปฏิบัติตามที่ปรากฏในเอกสารข้อมูลคำอธิบายสำหรับผู้เข้าร่วมในการวิจัย ท่านสามารถร้องเรียนได้ที่ คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัย คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ตึกอานันทมหิดล ชั้น 3 โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ถนนพระราม 4 ปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330 โทร 0-2256-4455 ต่อ 14, 15 ในเวลาราชการ

ขอขอบคุณในความร่วมมือของท่านมา ณ ที่นี้

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก ข

ใบยินยอมเข้าร่วมการศึกษาวิจัย

การวิจัยเรื่อง ความแตกต่างของการเกิดพอลีมอร์ฟิซึมของยีนไอพีเทนในกลุ่มผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีชนิดสายพันธุ์1 ที่ตอบสนองและไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาเพ็กกีเลตเต็ดอินเตอร์เฟียรอนและไรบาวิริน

วันให้คำยินยอม วันที่.....เดือน.....พ.ศ.....

ข้าพเจ้า นาย/นาง/นางสาว.....

ที่อยู่.....

ได้อ่านข้อมูลจากเอกสารและรายละเอียดสำหรับผู้เข้าร่วมงานวิจัย โดยเอกสารวิจัยที่แนบมาฉบับวันที่..... และข้าพเจ้ายินยอมเข้าร่วมการวิจัยโดยสมัครใจ

ข้าพเจ้าได้รับสำเนาเอกสารแสดงความยินยอมร่วมในโครงงานวิจัยที่ข้าพเจ้าได้ลงนามและ วันที่ พร้อมด้วยเอกสารข้อมูลสำหรับผู้เข้าร่วมโครงการวิจัย ทั้งนี้ก่อนที่จะลงนามในใบยินยอมให้ทำการวิจัยนี้ ข้าพเจ้าได้รับการอธิบายจากผู้วิจัยถึงวัตถุประสงค์ ระยะเวลาของการทำวิจัย วิธีการวิจัย อันตราย หรืออาการที่อาจเกิดขึ้นจากการวิจัย รวมทั้งประโยชน์ที่จะเกิดขึ้นจากการวิจัย และแนวทางรักษาโดยวิธีอื่นอย่างละเอียด ข้าพเจ้ามีเวลาในการซักถามข้อสงสัยจนมีเข้าใจอย่างดีแล้ว โดยผู้วิจัยได้ตอบคำถามต่าง ๆ ด้วยความเต็มใจไม่ปิดบังข้อมูลจนข้าพเจ้าพอใจ

ข้าพเจ้ารับทราบจากผู้วิจัยว่าหากเกิดอันตรายใด ๆ จากการวิจัยดังกล่าว ข้าพเจ้าจะได้รับการรักษาพยาบาลโดยไม่มีค่าใช้จ่ายเพิ่มเติม และไม่ได้รับเงินตอบแทนจากผู้สนับสนุนการวิจัย

ข้าพเจ้ามีสิทธิที่จะบอกเลิกเข้าร่วมในโครงการวิจัยเมื่อใดก็ได้ โดยไม่จำเป็นต้องแจ้งเหตุผล และการบอกเลิกการเข้าร่วมการวิจัยนี้ จะไม่มีผลต่อการรักษาโรคหรือสิทธิอื่น ๆ ที่ข้าพเจ้าจะพึงได้รับต่อไป

ผู้วิจัยรับประกันว่าจะเก็บข้อมูลส่วนตัวของข้าพเจ้าเป็นความลับ และจะเปิดเผยได้เฉพาะเมื่อได้รับการอนุญาติจากข้าพเจ้าเท่านั้น บุคคลอื่นในนามของบริษัทผู้สนับสนุนการวิจัย คณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัยในคน อาจได้รับอนุญาตให้เข้ามาตรวจสอบ วิเคราะห์ข้อมูลของข้าพเจ้า ทั้งนี้จะต้องกระทำไปเพื่อวัตถุประสงค์เพื่อตรวจทานความถูกต้องของข้อมูลเท่านั้น โดยการตกลงที่จะเข้าร่วมการศึกษานี้ข้าพเจ้าได้ให้คำยินยอมที่จะให้มีการตรวจสอบข้อมูลประวัติทางการแพทย์ของข้าพเจ้าได้

ผู้วิจัยรับรองว่าจะไม่มีการเก็บข้อมูลอื่นๆของข้าพเจ้า เพิ่มเติม หลังจากที่ข้าพเจ้าขอยกเลิกการเข้าร่วมงานวิจัยและต้องการให้ทำลายเอกสาร หรือตัวอย่างที่ใช้ตรวจสอบทั้งหมดที่สามารถแสดงตัวตนของข้าพเจ้าได้

หลังจากเสร็จสิ้นงานวิจัย จะมีการเก็บตัวอย่างเลือดและ DNA ไว้ที่หน่วยโรคระบบทางเดินอาหาร เลขที่ 1873 ตึกพร้อมพันธุ์ ชั้น 1 สาขาวิชาโรคทางเดินอาหาร โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ถนนพระรามสี่ ปทุมวัน กรุงเทพ 10330 เพื่อใช้ในการตรวจการกลายพันธุ์ของยีนตัวอื่นที่อาจเกี่ยวข้องกับการหายของไวรัสตับอักเสบซีในอนาคต โดยจะเก็บไว้นาน 15 ปีจึงจะทำลาย ถ้ามีการนำตัวอย่างเหล่านี้มาใช้จะมีการเขียนเพื่อขอคำอนุญาตจากคณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัยก่อน

ข้าพเจ้าจะ ☐ ยินยอม ☐ ไม่ยินยอม

ข้าพเจ้าเข้าใจว่า ข้าพเจ้ามีสิทธิ์ที่จะตรวจสอบ แก้ไขข้อมูลของข้าพเจ้าและสามารถยกเลิกการให้สิทธิในการใช้ข้อมูลของข้าพเจ้าได้ โดยต้องแจ้งให้ผู้วิจัยรับทราบ

ข้าพเจ้าได้รับทราบข้อมูลในการวิจัยของข้าพเจ้าที่ไม่มีการเปิดเผยชื่อ จะผ่านกระบวนการต่าง ๆ เช่น การเก็บข้อมูล การบันทึกข้อมูล การตรวจสอบ การวิเคราะห์ และการรายงานข้อมูลเพื่องานทางวิชาการ รวมทั้งการใช้ข้อมูลทางการแพทย์ในอนาคตหรือการวิจัยทางด้านเภสัชภัณฑ์ เท่านั้น

ข้าพเจ้าได้อ่านข้อความข้างต้นและมีความเข้าใจดีทุกประการแล้ว ยินดีเข้าร่วมในการวิจัยด้วยความเต็มใจ จึงได้ลงนามในเอกสารแสดงความยินยอมนี้

.....ลงนามผู้ให้ความยินยอม

(.....) ชื่อผู้ยินยอมตัวบรรจง

วันที่ .....เดือน.....พ.ศ.....

ข้าพเจ้าได้อธิบายถึงวัตถุประสงค์ของการวิจัย วิธีการวิจัย อันตราย หรืออาการไม่พึงประสงค์หรือความเสี่ยงที่อาจเกิดขึ้นจากการวิจัย หรือจากยาที่ใช้ รวมทั้งประโยชน์ที่จะเกิดขึ้นจากการวิจัย ให้ข้าพเจ้าได้ทราบและมีความเข้าใจ พร้อมลงนามลงในเอกสารแสดงความยินยอมด้วยความสมัครใจ

.....ลงนามผู้ทำวิจัย

(.....) ชื่อผู้ทำวิจัย ตัวบรรจง

วันที่ .....เดือน.....พ.ศ.....

.....ลงนามพยาน

(.....) ชื่อพยาน ตัวบรรจง

วันที่ .....เดือน.....พ.ศ.....

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ภาคผนวก ค

แบบบันทึกข้อมูล

<table>
<tr><td>โครงการ : ความแตกต่างของการเกิดพอลีมอร์ฟิซึมของยีนไอพีเทนในกลุ่มผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีสายพันธุ์ที่ 1 ที่ตอบสนองและไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาเพ็กกีเลตเต็ดอินเตอร์เฟียรอนและไรบาวิริน

Case record form</td><td>Patient code : ☐☐☐
Date of data record : (Day-Month-Year)
☐☐-☐☐-☐☐☐☐
sticker</td></tr>
<tr><td colspan="2">Part A : ข้อมูลทั่วไป</td></tr>
<tr><td>1. อายุ ☐☐ ปี</td><td>2. เพศ ☐1. ชาย ☐ 2.หญิง</td></tr>
<tr><td>3.วันเกิด ☐☐/☐☐/☐☐☐☐</td><td></td></tr>
<tr><td>4. ภูมิลำเนาจังหวัด _____</td><td>5. โทรศัพท์_____</td></tr>
<tr><td colspan="2">6. เชื้อชาติ ☐ 1. ไทย ☐ 2. จีน ☐ 3. อื่นๆ (ระบุ)_____☐9.ไม่มีข้อมูล</td></tr>
<tr><td colspan="2">7. สิทธิ์การรักษา ☐ 1.ประกันสุขภาพถ้วนหน้า ☐ 2.ข้าราชการ ☐ 3. ประกันสังคม ☐ 4. เงินสด ☐ 5. อื่นๆ (ระบุ)_____</td></tr>
<tr><td colspan="2">8. ประวัติโรคประจำตัว (ตอบได้มากกว่า 1ข้อ)
☐ 1.ไม่ทราบ/ไม่มีข้อมูล ☐ 2.ไม่มีโรคประจำตัว
☐ 3. มีโรคประจำตัว (ระบุ)
☐ 3.1. หลอดเลือดหัวใจ ☐ 3.2 โรคไต ☐ 3.3 ไขมันโลหิตสูง
☐ 3.4 เบาหวาน ☐ 3.5 อื่นๆ (ระบุ)_____</td></tr>
<tr><td colspan="2">9. ประวัติการดื่มสุรา
☐ 1.ไม่ดื่ม ☐ 2. เคยดื่ม (หยุดมาแล้วมากกว่า 1 ปี)
☐ 3.ดื่ม ปริมาณ _____ กรัม/วัน ☐ 4. ไม่มีข้อมูล</td></tr>
</table>

10. ประวัติสูบบุหรี่

☐ 1.ไม่สูบ ☐ 2. เคยสูบ (หยุดมาแล้วมากกว่า 1 ปี)

☐ 3.สูบ ปริมาณ _____ ซอง/วัน ☐ 4. ไม่มีข้อมูล

11. น้ำหนัก_____ กิโลกรัม	12. ส่วนสูง_____ เซนติเมตร
13. ประวัติการได้รับเลือด ☐ 1. มี ระบุเมื่อปี พ.ศ._____ ☐ 2. ไม่มี ☐9.ไม่มีข้อมูล	14. ประวัติการใช้เข็มฉีดยาเข้าเส้น ☐ 1. มี ระบุเมื่อปี พ.ศ. _____ ☐ 2. ไม่มี ☐9.ไม่มีข้อมูล

15. ข้อมูลการวินิจฉัยโรคไวรัสตับอักเสบ ซี

15.1genotype (G) ☐ 1. G 1 ☐ 2. G 2 ☐ 3. G 3 ☐ 4. G 4 ☐9.ไม่มีข้อมูล

15.2 stage ☐ 1. Chronic hepatitis ☐ 2. Cirrhosis ☐ 3. Not assess

15.3 ปีที่ได้รับการวินิจฉัย ☐☐☐☐

16. สถานะภาพรักษาไวรัสตับอักเสบซี ณ. ปัจจุบัน

☐ 1.ก่อนรักษา ☐ 2. ระหว่างรักษา

☐ 3.หลังรักษาและหายจากโรค ☐ 4. หลังรักษาและไม่หายจากโรค

Part B Pre-treatment

17. Lab virology Date of collected specimen ☐☐ - ☐☐ - ☐☐☐☐

1. Anti-HCV ☐1. Positive ☐ 2. Negative ☐ 9.ไม่มีข้อมูล

2. HCV-viral load ☐ 1. ทำ (ระบุ) ☐☐ , ☐☐☐ , ☐☐☐ (IU/ml)

☐☐ , ☐☐☐ , ☐☐☐ (copies/ml)

☐ 2. ไม่ทำ ☐ 9. ไม่มีข้อมูล

3. HCV Genotype ☐1.ทำ ☐ 2.ไม่ทำ ☐ 9.ไม่มีข้อมูล

3.1 ☐ 1. G1 ☐ 2. G 2 ☐ 3. G 3 ☐ 4. G 4 ☐9.ไม่มีข้อมูล

4. HBsAg ☐1. Positive ☐ 2. Negative ☐ 9.ไม่มีข้อมูล

5. Anti-HIV ☐1. Positive ☐ 2. Negative ☐ 9.ไม่มีข้อมูล

18. Liver pathology Date of collected specimen ☐☐ - ☐☐ - ☐☐☐☐ ☐ 1.ทำ ☐ 2.ไม่ทำ ☐ 9.ไม่มีข้อมูล	
18.1 HAI _____+_____+_____+__ ____ = _____ /22	Fibrosis stage ☐ 0 ☐ 1 ☐ 2 ☐ 3 ☐ 4
18.2 Metavir = ...	Fibrosis stage ☐ 0 ☐ 1 ☐ 2 ☐ 3 ☐ 4
18.3 RAI score ..... (PI ☐, BI ☐, EI ☐)	
Other:	
18.5 Cirrhosis ☐ 1.มี ☐ 2.ไม่มี ☐ 9.ไม่มีข้อมูล	
18.6 Hepatoma ☐ 1.มี ☐ 2.ไม่มี ☐ 9.ไม่มีข้อมูล	
19. Liver stiffness (fibroscan) ☐ 1.ทำ ผล =..... Kpa ☐ 2.ไม่ทำ ☐ 9.ไม่มีข้อมูล	
Part C : Treatment Period	
20. Peg-IFN ☐ 1. ได้ Peg-IFN alpha-2a ขนาด ☐☐☐ mcg/wk เริ่มยาวันที่ ☐☐ - ☐☐ - ☐☐☐☐ หยุดยาวันที่ ☐☐ - ☐☐ - ☐☐☐☐ รวมเวลาที่ได้ยา ☐☐ สัปดาห์ ☐ 2. ได้ Peg-IFN alpha-2b ขนาด ☐☐☐ mcg/wk เริ่มยาวันที่ ☐☐ - ☐☐ - ☐☐☐☐ หยุดยาวันที่ ☐☐ - ☐☐ - ☐☐☐☐ รวมเวลาที่ได้ยา ☐☐ สัปดาห์ ☐ 3. ไม่ได้ Peg-IFN	

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

21. Ribavarin ☐ 1. ได้ Ribavarin ขนาด ☐☐☐ mg/day เริ่มยาวันที่ ☐☐ - ☐☐ - ☐☐☐☐ หยุดยาวันที่ ☐☐ - ☐☐ - ☐☐☐☐ รวมเวลาที่ได้ยา ☐☐ สัปดาห์ ☐ 2. ไม่ได้ Ribavarin
22. Complication ☐ 1.มี (ระบุ) ☐ 2.ไม่มี 22.1 ☐ 1. Anemia ☐ 2. Thrombocytopenia ☐ 3. Leucopenia
Part D : Results of treatment
23.Rapid virologic response ☐ 1.มี ☐ 2.ไม่มี ☐ 9.ไม่มีข้อมูล
24.Early virologic response ☐ 1.มี ☐ 2.ไม่มี ☐ 9.ไม่มีข้อมูล
25.Extended virologic response ☐ 1.มี ☐ 2.ไม่มี ☐ 9.ไม่มีข้อมูล
26.End-of-treatment virologic response ☐ 1.มี ☐ 2.ไม่มี ☐ 9.ไม่มีข้อมูล
27.Sustained virologic response ☐ 1.มี ☐ 2.ไม่มี ☐ 9.ไม่มีข้อมูล
Part E : SNP results
28. SNP rs 56061981 of IP-10 gene (G-201A) ☐ 1. G/G ☐ 2. G/A ☐ 3. A/A
29. SNP rs 13015258 of DPP4 gene (c.-234 A>C) ☐ 1. A/A ☐ 2. A/C ☐ 3. C/C
30. SNP rs 17848916 of DPP4 gene (c.24 T>G) ☐ 1. T/T ☐ 2. T/G ☐ 3. C/C
31. SNP rs 4126649 (c.1926 G>A) ☐ 1. G/G ☐ 2. G/A ☐ 3. A/A

CHULALONGKORN UNIVERSITY

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

ชื่อ พญ. เกศรินทร์ ถานะภิรมย์

วัน เดือน ปี เกิด 19 พฤษภาคม พ.ศ. 2525

ประวัติการศึกษา

พ.ศ. 2542-2547 แพทยศาสตร์ศึกษา (เกียรตินิยมอันดับ1) จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. 2551-2554 วุฒิบัตรแพทย์ผู้เชี่ยวชาญสาขาอายุรศาสตร์

พ.ศ. 2555 - ปัจจุบันกำลังฝึกอบรมหลักสูตรแพทย์ประจำบ้านต่อยอด สาขาอายุรศาสตร์ โรคระบบทางเดินอาหาร ที่หน่วยทางเดินอาหาร ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปริญญาและประกาศนียบัตร

พ.ศ. 2547 แพทยศาสตร์ศึกษา (เกียรตินิยมอันดับ1) จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. 2553 วุฒิบัตรแพทย์ผู้เชี่ยวชาญสาขาอายุรศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University