# ความสัมพันธ์ระหว่าง *APE1* (T1349G) polymorphism กับความเสี่ยงต่อการเกิดโรคมะเร็งลำไส้ใหญ่และไส้ตรง

**ดนัย ทิวาเวช[1] วุฒิ สุเมธโชติเมธา[2] ญานิณี จรัสวิศรุตพร[3]กุลธิดา มงคลวงค์สกุล[4] Takafumi Ishida[5]**

[1]กลุ่มงานวิจัย [2]กลุ่มงานศัลยกรรม และ[3]กลุ่มงานพยาธิวิทยา สถาบันมะเร็งแห่งชาติ กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข
[4]ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

[5]Unit of Human Biology and Genetics, Department of Biological Sciences, School of Science, University of Tokyo, Tokyo, Japan.

**บทคัดย่อ**

โรคมะเร็งลำไส้ใหญ่และไส้ตรง (colorectal cancer, CRC) เป็นโรคที่มีอุบัติการณ์สูงและทำให้เกิดความสูญเสียมากมายอย่างต่อเนื่องในประเทศไทยปัจจัยเสี่ยงสำคัญที่ทำให้เกิด CRC ได้แก่พฤติกรรมในการรับประทานอาหาร โดยเฉพาะอาหารปิ้งย่างที่มีสารก่อมะเร็งชนิดโพลีไซคลิกเอมีน อาหารที่มีไขมันสูงแต่มีเส้นใยอาหารต่ำ อาหารเนื้อสัตว์ที่มีสีแดง รวมทั้งการสูบบุหรี่ การดื่มสุรา การติดเชื้อ และการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรม ปัจจุบันมีรายงานว่ายีน apurinic/apyrimidinic endonuclease 1 (*APE1*) ซึ่งทำหน้าที่ผลิตเอนไซม์ที่ใช้ในกระบวนการ base excision repair (BER) เพื่อการซ่อมแซม DNA ที่เสียหายจากปฏิกิริยา oxidation และ alkylation มีความหลากหลายทางพันธุกรรม (polymorphism) เกิดขึ้นที่นิวคลีโอไทด์ตำแหน่ง 1349 บน exon ที่ 5 โดยมีเบส guanine (G) เข้าไปแทนที่เบส thymine (T) (T1349G) ซึ่งทำให้ *APE1* มี genotype เป็น 3 แบบคือ TT (wild type), TG (heterozygous type) และ GG (mutant type) genotype และทำให้เอนไซม์ endonuclease ที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงนั้น มีการสื่อสารกับโปรตีน BER อื่นๆลดลง ซึ่งต่อมาพบว่า *APE1* (T1349G) polymorphism นี้มีความสัมพันธ์กับความเสี่ยงต่อการเกิดโรคมะเร็งหลายชนิดรวมทั้ง CRC ด้วย ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่าง *APE1* (T1349G) polymorphism กับความเสี่ยงต่อการเกิด CRC ในประชากรไทย การศึกษานี้เป็นแบบ case-control study โดยทำการศึกษา *APE1* (T1349G) polymorphism ในกลุ่มคนปกติ และผู้ป่วย CRC กลุ่มละจำนวน 120 ราย (age matched) โดยใช้วิธี real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) ร่วมกับเทคนิค TaqMan Probe ผลของการศึกษาพบว่าตรวจพบความถี่ของ TT, TG และ GG genotype ในกลุ่มคนปกติ 30 ราย (25.0%), 64 ราย (53.3%) และ26 ราย (21.7%) ตามลำดับ ในขณะที่ตรวจพบในกลุ่มผู้ป่วย CRC 21 ราย (17.5%), 59 ราย (49.2%) และ40 ราย (33.3%) ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าผู้ที่มี GG genotype ของ *APE1* (T1349G) polymorphism มีความเสี่ยงต่อการเกิด CRC เพิ่มขึ้น 2.20 เท่าเมื่อเปรียบเทียบกับผู้ที่มี TT genotype [ค่า Oods Ratio = 2.20, 95% Confidence Interval = 1.04-4.63 และ $P < 0.05$)] นอกจากนี้ยังพบว่าการเกิด CRC ความสัมพันธ์ระหว่างกับปัจจัยเสี่ยงอื่นๆ เช่น ประวัติการเจ็บป่วยด้วยโรคมะเร็งในครอบครัว การเจ็บป่วยด้วยโรคอักเสบของลำไส้ใหญ่และไส้ตรง การขาดการออกกำลังกาย การกินผักและผลไม้น้อย การกินอาหารมีเส้นใยน้อยและมีไขมันสูง การเป็นโรคอ้วน การดื่มสุรา และการสูบบุหรี่อีกด้วย จากผลของการศึกษาครั้งนี้สรุปได้ว่า *APE1* (T1349G) polymorphism มีความสัมพันธ์กับความเสี่ยงต่อการเกิด CRC ในประชากรไทย และอาจใช้เป็นตัวบ่งชี้ทางพันธุกรรมในการติดตามค้นหากลุ่มคนไทยที่มีความเสี่ยงต่อการเกิด CRC ในอนาคตได้

**คำสำคัญ**: *APE1* (T1349G), polymorphism, colorectal cancer

# Association between *APE1* (T1349G) Polymorphism and Risk of Colorectal Cancer

**Danai Tiwawech[1], Wutthi Sumetchotimaytha[2], Yaninee Jarratwisarutporn[3], Kultida Mongkolwongsakul[4] and Takafumi Ishida[5]**

[1]Research, [2]Surgery and [3]Pathology Division, National Cancer Institute, Bangkok, Thailand.
[4]Department of Botany, Faculty of Sciences, Chulalongkhorn University, Bangkok, Thailand.
[5]Unit of Human Biology and Genetics, Department of Biological Sciences, School of Science, University of Tokyo, Tokyo, Japan.

## Abstract

Colorectal cancer (CRC) is a serious malignant disease that has high incidence and causes a great economic lost in Thailand every year. Several risk factors are involved in CRC development such as behavior of eating grilled-meat that contained polycyclic amines, food with high fat and low fiber, red meat, tobacco smoking, alcohol drinking, chronic infection and genetics background. To date, it has reported that apurinic/apyrimidinic endonuclease 1 gene (*APE1*) which encodes for enzymes used in the base excision repair (BER) for repairing of DNA damaged by oxidation and alkylation reactions, has a single nucleotide polymorphism. This polymorphism occurs at nucleotide position 1349 in exon 5 by thymine base (T) to guanine base (G) transversion (T1349G) and provided 3 genotypes of *APE1*; TT (wild type), TG (heterozygous type) and GG (mutant type) genotype. The altered enzyme endonuclease resulting from the genetic changes decreased its interaction with other BER proteins, which was later found that *APE1* (T1349G) polymorphism is associated with increased risk of several cancers including the CRC. The aim of present study was to investigate the association between *APE1* (T1349G) polymorphism and CRC risk in Thai population. This case-control study was conducted for *APE1* (T1349G) polymorphism analysis in control and patients with CRC group (120 samples for each group) (age matched) by using real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) with TaqMan probe technique. The frequencies of TT, TG and GG genotype in the control group were 30 persons (25.0%), 64 persons (53.3%) and 26 persons (21.7%), while in the CRC group were 21 patients (17.5%), 59 patients (49.2%) and 40 patients (33.3%), respectively. We also found that individuals with GG genotype had a 2.20-fold increased risk for CRC development as compared with those with TT genotype [Odds Ratio = 2.20, 95% Confidence Interval = 1.04 - 4.63 and $P < 0.05$)]. In addition, the association between CRC development and other risk factors such as history of cancer in family, history of inflammatory bowel, lack of regular physical activity, low fruit and vegetable intake, low fiber and high-fat diet, obesity, and alcohol and tobacco consumption was observed. The results from this study suggest that *APE1* (T1349G) polymorphism is associated with CRC risk in Thai population and it may be a useful genetic risk marker for screening of CRC high risk people in Thailand in the future.

**Keywords**: *APE1* (T1349G), polymorphism, colorectal cancer

***Corresponding author**
Danai Tiwawech
Research Division, National Cancer Institute
E-mail : tdnai@hotmail.com

**บทนำ**

โรคมะเร็งลำไส้ใหญ่และไส้ตรง (colorectal cancer, CRC) เป็นปัญหาสำคัญทางด้านสาธารณสุขของประเทศไทย เนื่องจากมีอุบัติการณ์สูงเป็นอันดับที่ 4 (21,395 ราย) ของโรคมะเร็งทั้งหมด (296,556 ราย) โดยพบว่าอุบัติการณ์ของ CRC ในเพศชายและหญิงไทยสูงเป็นอันดับที่ 3 (11,711 ราย) และอันดับที่ 4 (9,684 ราย) ของโรคมะเร็งทั้งหมดในแต่ละเพศตามลำดับ[1] ในปีพ.ศ. 2554 กระทรวงสาธารณสุขรายงานว่ามีประชากรไทยเสียชีวิตด้วย CRC 2,647 ราย (เป็นชาย 1,501 และหญิง 1,146 ราย)[2] ซึ่งในอนาคตคาดว่า CRC จะยังคงเป็นปัญหาสาธารณสุขที่สำคัญและทำให้เกิดความสูญเสียมากมายอย่างต่อเนื่องในประเทศไทยต่อไป ด้วยเหตุนี้การวิจัยเพื่อค้นหาวิธีควบคุม CRC จึงนับว่าเป็นเรื่องที่สำคัญและต้องมีการดำเนินการอย่างจริงจังและรีบด่วน

จากข้อมูลด้านระบาดวิทยาพบว่าปัจจัยเสี่ยงที่ทำให้เกิด CRC ส่วนใหญ่เกิดจากพฤติกรรมในการรับประทานอาหารประเภทปิ้งย่างที่มีสารก่อมะเร็งชนิดโพลีไซคลิกเอมีนปนอยู่[3] อาหารที่มีไขมันสูงและมีเส้นใยอาหารต่ำ[4] อาหารประเภทเนื้อสัตว์ที่มีสีแดง[5] (เช่นเนื้อวัว และเนื้อหมู) รวมทั้งการสูบบุหรี่[6] การติดเชื้อ[7] และการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรม[8] สำหรับการรักษา CRC นั้น การใช้วิธีผ่าตัดก้อนมะเร็งที่อยู่ในระยะเริ่มแรกซึ่งมีขนาดเล็กและยังอยู่เฉพาะที่ (localized cancer) ออกจากผู้ป่วยให้หมดเป็นการรักษาที่ดีที่สุดและมีโอกาสหายขาดได้ ส่วนในผู้ป่วยที่มีการกระจายของมะเร็งไปแล้ว (metastasized cancer) จำเป็นต้องใช้การรักษาด้วยวิธีเคมีบำบัดร่วมกับการผ่าตัด หรือ ใช้การรักษาด้วยวิธีเคมีบำบัดร่วมกับการฉายรังสี[9] ซึ่งผลการรักษาของผู้ป่วยในกลุ่มหลังนี้มักจะไม่ได้ผลดีเท่าที่ควร ดังนั้นจะเห็นได้ว่าการเฝ้าระวัง และการป้องกันการเกิดโรค รวมถึงการตรวจคัดกรองค้นหาผู้ป่วยมะเร็งระยะเริ่มแรกเพื่อให้การรักษาที่รวดเร็วและมีประสิทธิภาพให้หายขาดจากโรคนั้นน่าจะเป็นยุทธศาสตร์ที่มีความสำคัญในการต่อสู้เพื่อควบคุม CRC ในอนาคต

โดยทั่วไปการเปลี่ยนแปลงที่สารพันธุกรรม (DNA) หรือที่เรียกว่าการกลายพันธุ์ในมนุษย์มีสองแบบคือ การกลายพันธุ์ของเซลล์ร่างกาย (somatic mutation) และการกลายพันธุ์ของเซลล์สืบพันธุ์ หรือ ความหลากหลายทางพันธุกรรม (germ-line mutation หรือ polymorphism) ซึ่งการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมทั้งสองแบบนี้ต่อมาพบว่ามีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคมะเร็งหลายชนิด มีรายงานว่าความเสียหายของ DNA โดยสารก่อมะเร็งจากภายนอกหรือโดยกระบวนการเผาผลาญภายในร่างกายสามารถทำให้เกิดการกลายพันธุ์ของยีนซึ่งนำไปสู่ความไม่มีเสถียรของจีโนมและการเกิดโรคมะเร็งในลำดับต่อไปได้[10] พบว่าการเปลี่ยนแปลงบนพันธุกรรมในยีนซ่อมแซม DNA ของเซลล์สืบพันธุ์ของพ่อแม่จะส่งผลทำให้ความสามารถในการซ่อมแซม DNA ในตัวของบุตรที่เกิดมาลดลง และมีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคมะเร็งมากขึ้นเมื่อได้รับสารก่อมะเร็งเข้าสู่ร่างกาย ในปัจจุบันมีการค้นพบยีนซ่อมแซม DNA ของมนุษย์ประมาณ 150 ยีน[11] ที่ทำงานร่วมกันใน pathways ต่างๆเพื่อซ่อมแซม DNA ที่เกิดความเสียหายแตกต่างกัน[12,13] และในบรรดา pathways เหล่านี้ base excision repair (BER) ซึ่งทำหน้าที่ซ่อมแซม DNA ที่เสียหายจากสารพิษและสารก่อ

มะเร็งเป็นส่วนใหญ่จะมีความสัมพันธ์กับความเสี่ยงต่อการเกิดโรคมะเร็งเป็นอย่างมาก[14]

ยีน apurinic/apyrimidinic endonuclease 1 ของมนุษย์ (*APE1*) ซึ่งมีส่วนเกี่ยวข้องใน BER pathway[15] นั้น อยู่บนโครโมโซม 14q11.2-q12 ประกอบด้วย 5 exons และมีขนาด 2.21 กิโลไบต์[16,17] ยีนนี้มี polymorphisms ทั้งหมด 18 แห่ง[18] แต่ polymorphism ที่มีการศึกษามากที่สุดคือ ตำแหน่งที่มี T ถูกเปลี่ยนเป็น G (T1349G) หรือเป็นที่รู้จักกันในชื่อ Asp148Glu หรือ rs3136820 ในปี ค.ศ. 2009 Gu และคณะ ได้ทำการวิเคราะห์แบบ meta-analysis จากผลของการศึกษา case-control studies เพื่อประเมินว่า *APE1* (T1349G) polymorphism มีความสัมพันธ์กับความเสี่ยงต่อการเกิดโรคมะเร็งชนิดต่างๆ คือ มะเร็งของปอด กระเพาะปัสสาวะ ลำไส้ใหญ่ เต้านม ตับอ่อน ศีรษะและลำคอ เม็ดเลือดขาว หลอดอาหาร ทางเดินน้ำดี ต่อมไทรอยด์ และต่อมลูกหมากหรือไม่ และพบว่า variant genotypes (GG และGT genotype) ของ *APE1* (T1349G) polymorphism มีความสัมพันธ์กับความเสี่ยงต่อการเกิดโรคมะเร็งทุกชนิดดังกล่าวเพิ่มขึ้นในระดับปานกลาง (OR = 1.08, 95% CI = 1.00-1.18) ซึ่งคณะผู้วิจัยกลุ่มนี้ได้เสนอแนะว่า polymorphism นี้เป็นปัจจัยที่มีความเสี่ยงต่ำ (low-penetrance) ต่อการเกิดโรคมะเร็ง[19] ปัจจุบันนี้มีรายงานว่า *APE1* (T1349G) polymorphism มีความสัมพันธ์กับความเสี่ยงต่อการเกิด CRC มากขึ้น[20,23] แต่ผลของการศึกษาเหล่านี้ยังคงมีข้อขัดแย้งและหาข้อสรุปที่ชัดเจนไม่ได้ อีกทั้งยังไม่มีข้อมูลการศึกษาเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่าง *APE1* (T1349G) polymorphism กับความเสี่ยงต่อการเกิด CRC ในประเทศไทยมาก่อน ดังนั้นในการศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่าง *APE1* (T1349G) polymorphism กับความเสี่ยงต่อการเกิด CRC โดยทำการศึกษาแบบ case-control study ด้วยการตรวจหา genotypes ของ *APE1* (T1349G) polymorphism และประเมินผลความสัมพันธ์ระหว่าง *APE1* (T1349G) polymorphism กับความเสี่ยงต่อการเกิด CRC ในประชากรไทย

**วัสดุและวิธีการ**

***กลุ่มประชากรที่ศึกษา***

การเลือกกลุ่มประชากรที่ศึกษาทำโดยคัดเลือกกลุ่มผู้ป่วย CRC จากผู้ป่วยที่มารับการรักษาที่สถาบันมะเร็งแห่งชาติและได้รับการวินิจฉัยโดยพยาธิแพทย์ว่าเป็น CRC จำนวน 120 ราย และคัดเลือกกลุ่มควบคุมจากคนปกติที่ไม่ได้เป็นโรคใดๆจำนวน 120 ราย โดยเลือกประชากรในกลุ่มควบคุมให้มีอายุ ใกล้เคียงกับกลุ่มผู้ป่วย CRC (age matched) และมีการเก็บข้อมูลเกี่ยวกับประวัติการเจ็บป่วยด้วยโรคมะเร็งในครอบครัว การเจ็บป่วยด้วยโรคอักเสบของลำไส้ใหญ่และไส้ตรง การออกกำลังกาย การกินผักและผลไม้ การกินอาหารมีเส้นใยและไขมัน การเป็นโรคอ้วน การดื่มสุรา และการสูบบุหรี่ การศึกษานี้ได้รับการอนุมัติจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน สถาบันมะเร็งแห่งชาติ ตามหนังสือรับรองเลขที่ 052/2554

***การเก็บตัวอย่าง***

เก็บตัวอย่างเลือด (EDTA blood 3 ml) ที่เหลือจากการส่งไปตรวจเลือดตามปกติของกลุ่มผู้ป่วย CRC และกลุ่มควบคุม กลุ่มละ 120 ราย ที่มารับการรักษา และมาตรวจสุขภาพประจำปีที่สถาบันมะเร็งแห่งชาติ จากนั้นนำเลือดไปปั่นที่ 2,500 rpm นาน 20 นาที เพื่อแยกเม็ดเลือดขาว (buffy coat)

ไปใช้ในการสกัดจีโนมิก DNA โดยใช้ชุดสกัด QuickGene DNA whole blood kit S (DB-S) (บริษัท Fujifilm, ประเทศญี่ปุ่น)

***การสกัด DNA***

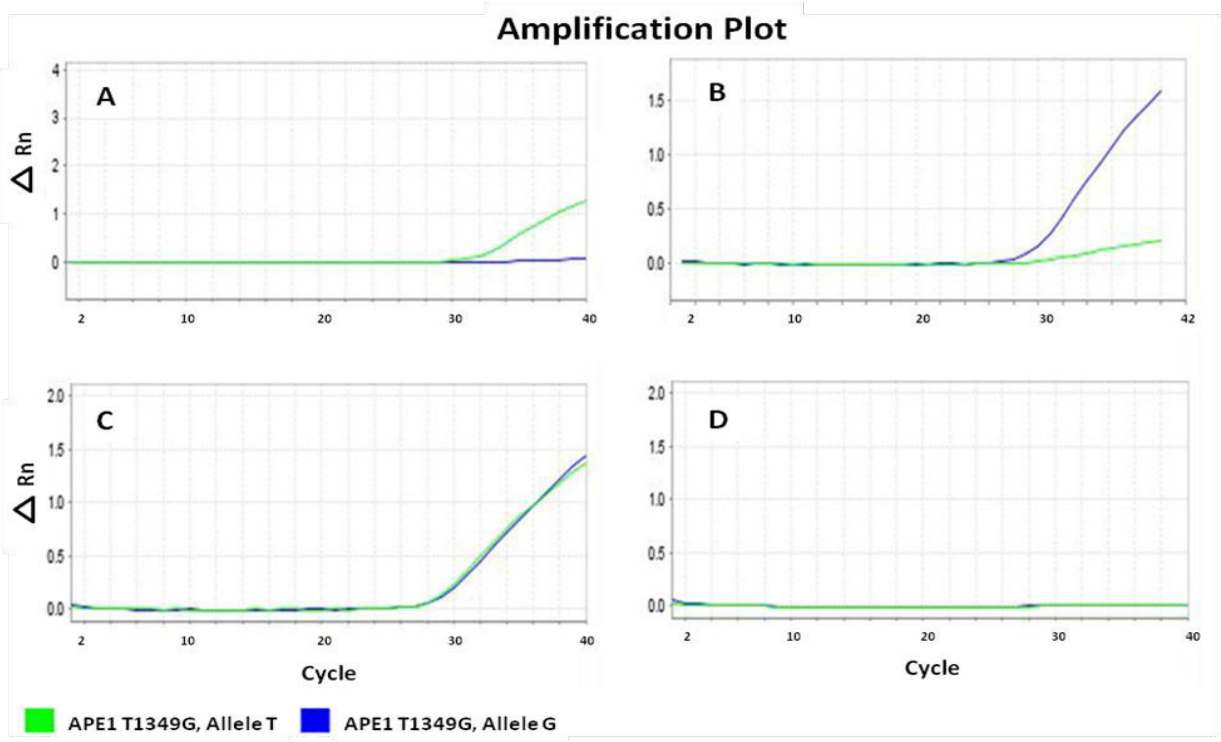
ดูด buffy coat 50 µl ใส่ใน sterilized Eppendorf tube ขนาด 1.5 ml ที่มีสารละลาย Protein kinase 30 µl แล้วผสมให้เข้ากัน ต่อมาเติมสารละลาย PBS 150 µl และ lysis buffer 250 µl แล้วนำไปบ่มที่ 56°C นาน2 นาที จากนั้นเติมสารละลาย ethyl alcohol 250 µl และย้ายสารละลายทั้งหมดไปใส่ใน column ของเครื่องสกัด DNA รุ่น QuickGene-810 (บริษัท Fujifilm ประทศญี่ปุ่น) แล้วทำการสกัด DNA ตามขั้นตอนของบริษัทอย่างเคร่งคัด เมื่อเสร็จทุกขั้นตอนแล้วทำการเท DNA ที่ได้ใส่ใน sterilized Eppendorf tube ขนาด 1.5 ml หลอดใหม่แล้วนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -40°C จนกว่าจะนำไปใช้งาน

***การตรวจหา APE1 (T1349G) polymorphism***

นำ DNA ของกลุ่มผู้ป่วย CRC และกลุ่มควบคุม ทั้งหมดจำนวน 240 ตัวอย่างไปตรวจหา genotypes ของ *APE1* (T1349G) polymorphism ด้วยวิธี Real-Time Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) โดยใช้น้ำยาสำเร็จรูป และเครื่องมือ StepOne Plus RT-PCR (บริษัท Applied Biosystems, ประเทศสหรัฐอเมริกา) ในการตรวจ ซึ่งมีขั้นตอนการทำโดยย่อดังนี้ เริ่มต้นด้วยการเตรียมสาร RT-PCR reaction mixture 20.0 µl ซึ่งประกอบด้วย TaqMan Genotyping Master Mix 10.0 µl, TaqMan SNP Genotyping Assay (มี TaqMan probe และ Primers ผสมอยู่ด้วยกัน, Assay ID C__8921503_10) 0.5 µl , น้ำกลั่น 2 ครั้ง ( double distilled water) 7.5 µl และ DNA template 2.0 µl ใส่ลงในแต่ละหลุมบนถาดพลาสติกชนิด 96 หลุม (บริษัท Applied Biosystems, ประเทศสหรัฐอเมริกา) จากนั้นนำถาดพลาสติกที่มี RT-PCR reaction mixture ไปใส่ในเครื่อง StepOne Plus RT-PCR โดยมีขั้นตอนในการทำภายในเครื่องทำดังนี้คือ (1) pre PCR read ที่อุณหภูมิ 60°C นาน 3 วินาที (2) holding stage ที่อุณหภูมิ 95°C นาน 10 นาที (3) 40 รอบของ cycling stage ที่อุณหภูมิ 95°C นาน 15 วินาที และ ที่อุณหภูมิ 60°C นาน 1 นาที และ (4) Post PCR read ที่อุณหภูมิ 60°C นาน 30 วินาที ในการศึกษานี้ใช้น้ำที่ผ่านการกลั่น 2 ครั้ง เป็น negative control เพื่อตรวจสอบการปนเปื้อนในขั้นตอนการทำ RT-PCR ทุกครั้ง ซึ่งผลการตรวจพบ genotypes แต่ละชนิดของ *APE1* (T1349G) polymorphism ด้วยวิธี RT-PCR ของกลุ่มคนปกติและกลุ่มผู้ป่วย CRC ได้แสดงไว้ในรูปที่ 1

***การวิเคราะห์ผลทางสถิติ***

ข้อมูลที่ได้จากการทำ RT-PCR และแฟ้มประวัติทั้งหมดถูกนำไปวิเคราะห์ทางสถิติด้วยโปรแกรม EpiCalc2000[24] ในการหาค่า *P* value ด้วย Chi-square test เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างความถี่ของ genotypes ที่ตรวจพบในประชากรที่ศึกษาทั้ง 2 กลุ่ม และคำนวณค่า Odds Ratio (OR) และค่า 95% Confidence Interval (95% CI) เพื่อเปรียบเทียบความเสี่ยงระหว่าง genotypes ต่าง ๆ ต่อการเกิด CRC โดยกำหนดให้ค่า OR และค่า 95% CI มากกว่า 1 รวมทั้งค่า *P* value $\leq$ 0.05 เป็นค่าที่ยอมรับว่ามีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญ




**รูปที่ 1** แสดง genotypes ชนิดต่างๆของยีน *APE1* ที่ตรวจพบด้วยเครื่อง StepOne Plus RT-PCR ภาพ A, B และ C คือ *APE1* (T1349G) polymorphism แบบ TT, GG และTG genotype ตามลำดับ ส่วนภาพ D คือ negative control (ใช้น้ำที่ผ่านการกลั่น 2 ครั้งแทน DNA เพื่อตรวจสอบการปนเปื้อนในการทำ RT-PCR)

**ผลการศึกษา**

ผลการตรวจหา genotypes ของ *APE1* (T1349G) polymorphism จากกลุ่มคนปกติ และผู้ป่วย CRC กลุ่มละจำนวน 120 ราย ด้วยวิธี RT-PCR ร่วมกับเทคนิค TaqMan Probe สามารถตรวจพบความถี่ของ TT, TG และ GG genotype ในกลุ่มคนปกติเป็นจำนวน 30 ราย (25.0%), 64 ราย (53.3%) และ 26 ราย (21.7%) ตามลำดับ ในขณะที่ตรวจพบความถี่ของ TT, TG และ GG genotype ในกลุ่มผู้ป่วย CRC 21 ราย (17.5%), 59 ราย (49.2%) และ40 ราย (33.3%) ตามลำดับ จากการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า *APE1* (T1349G) polymorphism มีความสัมพันธ์กับความเสี่ยงต่อการเกิด CRC โดยเฉพาะอย่างยิ่งพบว่าผู้ที่มี GG genotype ของ *APE1* (T1349G) polymorphism มีความเสี่ยงต่อการเกิด CRC เพิ่มขึ้น 2.20 เท่าเมื่อเปรียบเทียบกับผู้ที่มี TT genotype (ค่า OR = 2.20, 95% CI = 1.04-4.63 และ $P < 0.05$) (ตารางที่ 1)

เมื่อทำการวิเคราะห์โดยแยกตามเพศ พบว่าความถี่ของ TT, TG และ GG genotype ในเพศชายปกติ [16 ราย (25.0%), 34 ราย (53.1%) และ 14 ราย (21.9%)] และเพศหญิงปกติ [14 ราย (25.0%), 30 ราย (53.6%) และ 12 ราย (21.4%)] เมื่อนำไปเปรียบเทียบกับความถี่ของ TT, TG และ GG genotype ในผู้ป่วยเพศชาย [14 ราย (20.3%), 31 ราย (44.9%) และ 24 ราย (34.8%)] และผู้ป่วยเพศหญิง [7 ราย (13.7%), 28 ราย (54.9%) และ 16 ราย (31.4%)] ปรากฏว่าไม่พบความสัมพันธ์ระหว่าง

*APE1* (T1349G) polymorphism กับความเสี่ยงต่อการเกิด CRC ในทั้งเพศชาย [ค่า OR = 1.96, 95% CI = 074-5.91 และ $P > 0.05$)] และเพศหญิง (ค่า OR = 2.67, 95% CI = 0.82-8.65 และ $P > 0.05$) (ตารางที่ 1)

ในการศึกษานี้ยังพบว่าการเกิด CRC มีความสัมพันธ์กับประวัติการเจ็บป่วยด้วยโรคมะเร็งในครอบครัว การเจ็บป่วยด้วยโรคอักเสบของลำไส้ใหญ่และไส้ตรง การขาดการออกกำลังกาย การกินผักและผลไม้น้อย การกินอาหารมีเส้นใยน้อยและมีไขมันสูง การเป็นโรคอ้วน การดื่มสุรา และการสูบบุหรี่ (ตารางที่ 2)

**ตารางที่ 1** แสดงความถี่ของ *APE1* genotypes ในกลุ่มคนปกติ และกลุ่มผู้ป่วย CRC

| กลุ่ม | จำนวนตัวอย่าง | อายุเฉลี่ย | *APE1* genotypes, *n*(%) | | | OR (95%CI) | *P* value |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | TT | TG | GG | | |
| **คนปกติ** | 120 | 56.45 | 30 (25.0) | 64 (53.3) | 26 (21.7) | 1 | |
| ชาย | 64 | 59.23 | 16 (25.0) | 34 (53.1) | 14 (21.9) | 1 | |
| หญิง | 56 | 54.43 | 14 (25.0) | 30 (53.6) | 12 (21.4) | 1 | |
| **ผู้ป่วย CRC** | 120 | 60.30 | 21 (17.5) | 59 (49.2) | 40 (33.3) | 2.20 (1.04-4.63) | 0.037* |
| ชาย | 69 | 62.45 | 14 (20.3) | 31 (44.9) | 24 (34.8) | 1.96 (0.74-5.19) | 0.174 |
| หญิง | 51 | 59.36 | 7 (13.7) | 28 (54.9) | 16 (31.4) | 2.67 (0.82-8.65) | 0.098 |

*, $p < 0.05$ เปรียบเทียบระหว่าง TT genotype กับ GG genotype ของกลุ่มคนปกติและกลุ่มผู้ป่วย CRC

**ตารางที่ 2** คุณลักษณ์เฉพาะของกลุ่มคนปกติ และกลุ่มผู้ป่วย CRC

| คุณลักษณ์เฉพาะ | คนปกติ, *n* (%) | ผู้ป่วย CRC, *n* (%) | *P* value |
|---|---|---|---|
| **รวม** | 120 (100) | 120 (100) | |
| **โรคมะเร็งในครอบครัว** | | | |
| ไม่ใช่ | 73 (60.8) | 54 (45.0) | |
| ใช่ | 47 (39.2) | 66 (55.0) | 0.01* |
| **โรคอักเสบของลำไส้ใหญ่และไส้ตรง** | | | |
| ไม่ใช่ | 71 (59.1) | 53 (44.2) | |
| ใช่ | 49 (40.9) | 67 (55.8) | 0.02* |

**ตารางที่ 2** คุณลักษณ์เฉพาะของกลุ่มคนปกติ และกลุ่มผู้ป่วย CRC

| คุณลักษณ์เฉพาะ | คนปกติ, *n* (%) | ผู้ป่วย CRC, *n* (%) | *P* value |
|---|---|---|---|
| **ออกกำลังกายสม่ำเสมอ** | | | |
| ไม่ใช่ | 51 (42.5) | 68 (56.7) | |
| ใช่ | 69 (57.5) | 52 (43.3) | 0.03* |
| **กินผักและผลไม้น้อย** | | | |
| ไม่ใช่ | 66 (55.0) | 51 (42.5) | |
| ใช่ | 54 (45.0) | 69 (57.5) | 0.05* |
| **กินอาหารมีเส้นใยน้อยและไขมันมาก** | | | |
| ไม่ใช่ | 67 (55.8) | 50 (41.7) | |
| ใช่ | 53 (44.2) | 70 (58.3) | 0.03* |
| **โรคอ้วน** | | | |
| ไม่ใช่ | 70 (41.7) | 51 (42.5) | |
| ใช่ | | 69 (57.5) | 0.01* |
| **ดื่มสุรา** | | | |
| ไม่ใช่ | 69 (57.5) | 52 (43.3) | |
| ใช่ | 51 (42.5) | 68 (56.7) | 0.03* |
| **สูบุหรี่** | | | |
| ไม่ใช่ | 67 (69.2) | 51 (36.7) | |
| ใช่ | 53 (30.8) | 69 (63.3) | 0.04* |

*, $p < 0.05$

**วิจารณ์และสรุป**

CRC เป็นปัญหาใหญ่ปัญหาหนึ่งทางด้านสาธารณสุขของประเทศไทยที่ควรได้รับการดูแลและแก้ไขอย่างรีบด่วน เนื่องจากการรักษาในปัจจุบันยังไม่ได้ผลดีเท่าที่ควรและอัตราการเกิดของโรคมะเร็งชนิดนี้มีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นอย่างต่อเนื่อง ดังนั้นการป้องกันและควบคุม CRC ด้วยยุทธศาสตร์เดิมๆที่ใช้กันอยู่ในปัจจุบันนี้อาจยังไม่เพียงพอ ด้วยเหตุนี้การใช้ยุทธศาสตร์ใหม่โดยการตรวจหาสารบ่งชี้ทางพันธุกรรมเพื่อช่วยในการตรวจคัดกรองหาผู้ที่มีความเสี่ยงสูงต่อการเกิด CRC และติดตามค้นหาผู้ป่วย CRC ระยะเริ่มแรกที่มีโอกาสรักษาให้หายได้ในกลุ่มของผู้ที่มีความเสี่ยงสูงเหล่านี้ น่าจะเป็นแนวทางหนึ่งที่จะนำไปใช้ช่วยในการป้องกันและควบคุมมะเร็งชนิดนี้ได้อย่างมีประสิทธิภาพในอนาคต

APE1 เป็นเอนไซม์สำคัญใน BER pathway ซึ่งเป็นกลไกหลักในการซ่อมแซมความเสียหายของ DNA ที่เกิดจากการ oxidation และ alkylation[13] ตามปกติเอนไซม์นี้ถูกสร้างโดยยีน APE1 *(APE1)* แต่มีรายงานว่า *APE1* เกิด polymorphism ขึ้นได้หลายตำแหน่ง และต่อมา

พบว่า *APE1 (T1394G)* polymorphism ซึ่งเกิดจากการแทนที่ของกรดอะมิโนคือ G แทนที่ T ในตำแหน่งเบสที่ 1349 บน exon 5 นั้นเป็น polymorphism ที่พบได้บ่อยที่สุดในประชากรทั่วไป[18] ปัจจุบันยังไม่มีการรายงานว่าหลังจาก G แทนที่ T แล้วมีผลกระทบต่อตัวเอนไซม์ endonuclease และความสามารถเข้าเกาะกับ DNA เป็นอย่างไร[25]

ในการศึกษาครั้งนี้พบว่าความถี่ของการตรวจพบ *APE1 (T1394T)* polymorphism ในกลุ่มผู้ป่วย CRC มีความแตกต่างจากกลุ่มคนปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยพบว่าความถี่ของ GG genotype ในกลุ่มผู้ป่วย CRC สูงกว่ากลุ่มคนปกติ และพบว่าผู้ที่มี GG genotype ของ *APE1* นั้นมีความเสี่ยงต่อการเกิด CRC เพิ่มขึ้น 2.20 เท่าเมื่อเปรียบเทียบกับผู้ที่มี TT genotype (OR = 2.20, 95%CI = 1.04-4.63, $P<0.05$) ซึ่งมีความสอดคล้องกับผลของการศึกษาอื่นๆก่อนหน้านี้[19-23] ด้วยเหตุนี้จึงเชื่อว่าการตรวจหา *APE1* (T1394G) polymorphism น่าจะนำไปประยุกต์ใช้เป็น genetic risk factor ช่วยในการคัดกรองกลุ่มบุคคลที่มีความเสี่ยงต่อการเกิด CRC และค้นหาผู้ป่วย CRC ระยะเริ่มแรกในคนไทยที่เป็นกลุ่มเสี่ยงเหล่านี้ได้ อย่างไรก็ตามเมื่อทำการวิเคราะห์ข้อมูลโดยแยกตามเพศกลับไม่พบความสัมพันธ์ระหว่าง *APE1* (T1349G) polymorphism กับความเสี่ยงต่อการเกิด CRC ในทั้งเพศชาย (ค่า OR = 1.96, 95% CI = 074-5.91 และ $P > 0.05$) และเพศหญิง (ค่า OR = 2.67, 95% CI = 0.82-8.65 และ $P > 0.05$) ซึ่งน่าจะมีสาเหตุมาจากจำนวนของตัวอย่างมีขนาดเล็ก เช่นเดียวกับผลการศึกษาของ Brevik และคณะ[26] ซึ่งรายงานว่าไม่พบความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญของ *APE1* (T1394G) polymorphism กับ CRC จะสังเกตเห็นว่าผลการศึกษาต่างๆที่ผ่านมายังมีข้อขัดแย้งกันอยู่ และเหตุผลสำหรับการค้นพบที่แตกต่างกันเหล่านี้ยังไม่ชัดเจน จึงทำให้คาดว่าน่าจะมีสาเหตุมาจากขนาดของตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษาไม่เท่ากันหรือมีการศึกษาในตัวอย่างที่มีเชื้อชาติที่แตกต่างกัน

สำหรับกลไกที่ GG genotype ของ *APE1* (T1394G) ทำให้เกิดความเสี่ยงต่อการเกิด CRC มากกว่า TT genotype ยังไม่ทราบแน่ชัด แต่คาดว่า GG genotype อาจมีผลทำให้เวลาของระยะ G2 ใน cell cycle ยาวนานกว่าปกติซึ่งส่งผลให้เซลล์มีความไวต่อสารก่อมะเร็งมากขึ้น เช่น รังสี หรือทำให้ APE1 เอนไซม์มีการทำงานร่วมกับเอนไซม์อื่นๆใน BER pathway ลดลง จึงทำให้เซลล์มีการซ่อมแซม DNA ได้น้อยลง ดังนั้นเซลล์ที่มี *APE1* (T1394G) polymorphism เป็น GG genotype มีโอกาสเป็นมะเร็งได้ง่ายกว่า GT และ TT genotype เมื่อเปรียบเทียบ genotype frequency ที่ตรวจพบในกลุ่มผู้ป่วย CRC ของการวิจัยนี้กับงานวิจัยอื่นในประเทศจีน[20]พบว่ามีความสอดคล้องกัน นอกจากนี้ยังพบความสัมพันธ์ระหว่างการเกิด CRC กับปัจจัยเสี่ยงอื่นๆ เช่น ประวัติการเจ็บป่วยด้วยโรคมะเร็งในครอบครัว การเจ็บป่วยด้วยโรคอักเสบของลำไส้ใหญ่และไส้ตรง การขาดการออกกำลังกาย การกินผักและผลไม้น้อย การกินอาหารมีเส้นใยน้อยและมีไขมันสูง การเป็นโรคอ้วน การดื่มสุรา และการสูบบุหรี่ ซึ่งตรงกับรายงานต่างๆที่มีมาก่อนหน้านี้อีกด้วย

โดยภาพรวมจากผลของการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าผู้ที่มี GG genotype ของ *APE1* (T1394G) polymorphism มีความเสี่ยงต่อการเกิด CRC

เพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับผู้ที่มี TT genotype จึงสรุปได้ว่า *APE1* (T1394G) polymorphism มีความสัมพันธ์กับความเสี่ยงต่อการเกิด CRC และการตรวจหา *APE1* (T1394G) polymorphism น่าจะนำไปใช้ประโยชน์เป็นตัวช่วยบ่งชี้ในการตรวจคัดกรองหาผู้ที่มีความเสี่ยงสูงต่อการเกิด CRCในประชากรไทยได้

## เอกสารอ้างอิง


1. Khuhaprema T, Attasala P, Sriplung H, Wiangnon S, Sumitsawan Y, Sangrajrang S. Cancer in Thailand. 2012, volumeVI (2004-2006), page 8-9.
2. Public Health Statitics A.D. 2011. Ministry of Public Health, Thailand. Page 108.
3. Ignatenko NA, Gerner EW, Besselsen DG. Defining the role of polyamines in colon carcinogenesis using mouse models. J Carcinog 2011;10:10.
4. Giovannucci E, Rimm EB, Stampfer MJ, Colditz GA, Ascherio A, Willet WC. Intake of fat, meat and fiber in relation to risk of colon cancer in men. Cancer Res 1994;54:2390-7.
5. Chan DSM, Lau R, Aune D, Vieira R, Greenwood DC, Kampman E and Norat T. Red and processed meat and colorectal cancer incidence: Meta-analysis of prospective studies. PLoS One 2011;6:e20456.
6. Watson AJ, Collins, PD. Colon cancer: a civilization disorder. Digestive diseases (Basel, Switzerland) 2011;29:222-8.
7. Infection with Helicobacter pylori. IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum1994;61:177-240.
8. Berndt SI, Huang WY, Fallin MD, et al. Genetic variation in base excision repair genes and the prevalence of advanced colorectal adenoma. Cancer Res.2007;67:1395-404.
9. Cunningham D, Atkin W, Lenz HJ, Lynch HT, Minsky B, Nordlinger B, Starling N. "Colorectal cancer". Lancet 2010;375:1030-47.
10. Friedberg EC. How nucleotide excision repair protects against cancer. Nat Rev Cancer 2001;1: 22-33.
11. Wood RD, Mitchell M, Lindahl T. Human DNA repair genes. Mutat Res 2005;577:275-83.
12. Christmann M, Tomicic MT, Roos WP, Kaina B. Mechanisms of human DNA repair: an update. Toxicology 2003;193:3-34.
13. Hoeijmakers JH. Genome maintenance mechanisms for preventing cancer. Nature 2001;411: 366-74.
14. Wilson DM 3rd, Bohr VA. The mechanics of base excision repair, and its relationship to aging and disease. DNA Repair (Amst) 2007;6:544-59.
15. Wood RD, Mitchell M, Sgouros J, Lindahl T (2001) Human DNA repair genes. Science 2001;291:1284-9.
16. Izumi T, Hazra TK, Boldogh I, Tomkinson AE, Park MS, et al. Requirement for human

AP endonuclease 1 for repair of 3′-blocking damage at DNA single-strand breaks induced by reactive oxygen species. Carcinogenesis 2000;21:1329-34.

17. Kelley MR, Cheng L, Foster R, Tritt R, Jiang J, et al. Elevated and altered expression of the multifunctional DNA base excision repair and redox enzyme Ape1/ref-1 in prostate cancer. Clin Cancer Res 2001;7:824-30.
18. Xi T, Jones IM, Mohrenweiser HW. Many amino acid substitution variants identified in DNA repair genes during human population screenings are predicted to impact protein function. Genomics 2004;83:970-9.
19. Gu D, Wang M, Wang M, Zhang Z and Chen J. The DNA repair gene APE1 T1349G polymorphism and cancer risk: a meta-analysis of 27 case-control studies. Mutagenesis 2009;24:507-12.
20. Li Y, Li S, Wu Z, Hu F, Zhu L, Zhao X, et al. Polymorphisms in genes of APE1, PARP1, and XRCC1: risk and prognosis of colorectal cancer in a Northeast Chinese population. Medical Oncology 2013;30:505.
21. Canbay E, Cakmakoglu B, Zeybek U, Sozen S, Cacina C, Gulluoglu M, et al. Association of APE1 and hOGG1 polymorphisms with colorectal cancer risk in a Turkish population. Curr Med Res Opin 2011;27:1295-302.
22. Jelonek K, Gdowicz-Klosok A, Pietrowska M, Borkowska M, Korfanty J, Rzeszowska-Wolny J, et al. Association between single-nucleotide polymorphisms of selected genes involved in the response to DNA damage and risk of colon, head and neck, and breast cancers in a Polish population. J Appl Genet 2010;51:343-52.
23. Kasahara M, Osawa K, Yoshida K, Miyaishi A, Osawa Y, Inoue N, et al. Association of MUTYH Gln324His and APEX1 Asp148Glu with colorectal cancer and smoking in a Japanese population. J Exp Clin Cancer Res 2008;27:49.
24. EpiCalc2000. Aviable at http://www.brixtonhealth.com/epicalc.html. Accessed June 28, 2013.
25. Hadi MZ, Coleman MA, Fidelis K, Mohrenweiser HW, Wilson DM 3rd.Functional characterization of Ape1 variants identified in the human population. Nucleic Acids Res 2000;28: 3871-9.
26. Brevik A, Joshi AD, Corral R, Onland-Moret NC, Siegmund KD, Le Marchand L, et al. Polymorphisms in base excision repair genes as colorectal cancer risk factors and modifiers of the effect of diets high in red meat. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2010;19(12):3167 - 73.