



บรรณาธิการ

ธีระวุฒิ คุหะเปรมะ

ผู้ช่วยบรรณาธิการ

ชนินทร์ อภิวานิชย์

นงพางา สุวัฒน์นันท์

เพ็ญศรี แซ่หลี่

ศุภสิพร แสงกระจ่าง

สุนันทา จริยาเลิศศักดิ์

คณะบรรณาธิการ

กนกพร ใจสถาพร

กิติ จินดาวิจักษณ์

กวิญ ลีละวัฒน์

दनัย ทิวาเวช

ฉันทนา หมอกเจริญพงศ์

ผ่องพรรณ ศิริพงษ์

เพชรินทร์ ศรีวัฒนกุล

ธิดา ปัญจพันธ์พงศ์

วีระวุฒิ อิมสำราญ

วิจิต อาภรณ์วิรัตน์

วิโรจน์ เหล่าสุนทรศิริ

วุฒิ สุเมธโชติเมธา

วสันต์ ลีนะสมิต

วรรณเพ็ญ เบ็ญจชัย

สมจินต์ จินดาวิจักษณ์

สายพิน ตั้งครีษต์

สุพล มโนรมณ์

สุเมธ รินสุรวงศ์

สุวัฒน์ จริยาเลิศศักดิ์

อนงค์ เทพสุวรรณ

อมรรัตน์ วิจิตรลีลา

อรุณลักษณ์ โคมินทร์

อัศรียา สมรรคบุตร

อนันต์ กรลักษ์ณ์

อารยะ อดุลยพันธ์

อารีย์ ประสิทธิพงษ์

อรสา อัศวราชกูร

อรชร เอี่ยมอารีรัตน์

ผู้จัดการ

อาคม ชัยวีระวัฒน์

ผู้ช่วยผู้จัดการ

ปรียาดา จินตศิริกุล

พรนภา จันทรวีระกุล

มลณี สนธิไชย

วาริพร ศักดิ์สมบูรณ์

เสาวคนธ์ ศุภกรโยธิน



วารสารโรคมะเร็ง
THAI CANCER JOURNAL



ISSN 0125-2038

The National Cancer Institute Foundation

Editor-in-Chief

Thiravud Khuhaprema

Assistant Editors

Chanin Apiwanich

Nongpanga Suwattananand

Pensri Saelee

Suleeporn Sangrajang

Sunanta Chariyalertsak

Editorial Board

Kanokporn Jaisathaporn

Kiti Chindavijak

Kawin Leelawat

Danai Tiwawech

Chantana Morkchareonpong

Pongpun Siripong

Petcharin Srivatanakul

Thida Panchaphanpong

Weerawut Imsamran

Vichit Arpornwirat

Wirote Lausoontornsiri

Wutthi Sumetchotimaytha

Vasant Linasmita

Wanpen Benjachai

Somjin Chindavijak

Saipin Tangkarat

Suphon Manoromana

Sumate Rinsurongkawong

Suwat Chariyalertsak

Anong Tepsuan

Amornrat Vijitleela

Arunluck Komindr

Akariya Samakhaputra

Anant Karalak

Araya Adulbhan

Aree Prasitthipayong

Orasa Akkarawacharangkul

Orachorn Aimarreerat

Managing Editor

Arkorn Chaiwerawattana

Assistant Managers

Preyada Jintasirikul

Pornnapa Jantaraweragul

Malinee Sontichai

Wareeporn Saksomboon

Saowakon Sukarayodhin

KOSIT PRESS COMPANY LIMITED

373 Charansanitwong Rd., Bang-ow, Bangplad, Bangkok 10700 Tel. 0-2424-8715, 0-2433-3011



วารสารโรคมะเร็ง
THAI CANCER JOURNAL



- วัตถุประสงค์** เพื่อเผยแพร่ความรู้ทางวิชาการ ผลงานวิจัยเกี่ยวกับโรคมะเร็ง และอื่นๆ ที่เกี่ยวข้อง
- สำนักงาน** สำนักงานวารสารโรคมะเร็ง กลุ่มงานสนับสนุนวิชาการ สถาบันมะเร็งแห่งชาติ
268/1 ถนนพระราม 6 เขตราชเทวี กรุงเทพฯ 10400
โทร. 0-2354-7025 ต่อ 2205
โทรสาร 0-2644-9097
- เว็บไซต์เผยแพร่** www.kmnci.com
- กำหนดการตีพิมพ์** กำหนดออกทุก 3 เดือน ปีละ 4 ฉบับ
- การส่งต้นฉบับ** บรรณาธิการวารสารโรคมะเร็ง
สถาบันมะเร็งแห่งชาติ 268/1 ถนนพระราม 6 เขตราชเทวี กรุงเทพฯ 10400
โทร. 0-2354-7025 ต่อ 2205
โทรสาร 0-2644-9097
E - mail : nci_journal@hotmail.com
- การบอกรับเป็นสมาชิก**
- ห้องสมุดและหน่วยงานราชการแจ้งความจำนงได้ที่สำนักงานวารสารโรคมะเร็งโดยไม่เสียค่าใช้จ่าย
 - หน่วยงานเอกชน อัตราค่าสมาชิก 200 บาท ต่อปี (4 ฉบับ) รวมค่าจัดส่ง โดยสมัครสมาชิกผ่านเว็บไซต์ www.kmnci.com และโอนเงินผ่านบัญชีออมทรัพย์ ธนาคารไทยพาณิชย์ จำกัด (มหาชน) สาขารามาริบดี เลขที่บัญชี 026-2-27518-2
ชื่อบัญชี มูลนิธิสถาบันมะเร็งแห่งชาติ



สารบัญ Content

ปีที่ 28 ฉบับที่ 4

ตุลาคม-ธันวาคม 2551

	หน้า
บทบรรณาธิการ	159
ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยส่วนบุคคล ความพึงพอใจในงาน ลักษณะงาน และการปฏิบัติงานต่อความยึดมั่นผูกพันต่อองค์กร ของพยาบาลวิชาชีพ สถาบันมะเร็งแห่งชาติ จิราพรรณ เวศานนทเวช, บุปผาชาติ ชุนอินทร์, พัชรี เจริญพร, รัชชฎาพร สีดาตาษา	161
Detection of <i>GSTT1</i> Polymorphisms in Cancer Patients by Real-Time PCR Danai Tiwawech, Somjin Chindavijak, Adisak Sornprom, Wutthi Sumetchotimaytha, Yaninee Jarratwisarutporn, Takafumi Ishida	172
ความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายของยีน <i>GSTO1</i> กับลักษณะทางพยาธิคลินิกในผู้ป่วยมะเร็งเต้านม วิชัย ปุริสา, สุนันทา จริยาเลิศศักดิ์, ศุภิพร แสงกระจ่าง	184
ความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายของยีน <i>GSTO2</i> กับการอยู่รอดของผู้ป่วยมะเร็งลำไส้ใหญ่และไส้ตรง สุนันทา จริยาเลิศศักดิ์, วิชัย ปุริสา, นารีรัตน์ เพ็ชรพิรุณ ธเนศ พงศ์ธีรรัตน์	190
ลักษณะของยีน <i>Glutathione S-transferase</i> กับการเกิดโรคมะเร็ง ธเนศ พงศ์ธีรรัตน์	197

บทบรรณาธิการ

เมลามีนกับการเกิดโรคมะเร็ง

ข้อมูลจาก International Agency for Research on Cancer (IARC) ล่าสุด พบว่า สารเมลามีน (Melamine; 2, 4, 6-triamino-s-triazine) ถูกจัดให้อยู่ในกลุ่มที่ไม่ก่อให้เกิดโรคมะเร็งในมนุษย์ (Group 4: The agent is probably not carcinogenic to humans)¹ แต่จะทำให้เกิดเนื้องอกซึ่งเป็นอันตรายกับการทำงานของระบบไตและกระเพาะปัสสาวะ² และยังมีรายงานพบการเกิดเนื้องอกที่กระเพาะปัสสาวะ (bladder tumor) ในหนูทดลองที่ให้สารเมลามีนติดต่อกันเป็นเวลานาน³

ภาชนะที่ทำจากเมลามีน ซึ่งเป็นพลาสติกชนิดหนึ่ง มีสารฟอร์มาลดีไฮด์ (formaldehyde) เป็นส่วนประกอบและยังมีการนำมาทำเป็นถุงพลาสติกพลาสติกสำหรับห่ออาหาร⁴ จากผลการวิจัยของ ศศิธร หอมदारวงค์⁵ ในการศึกษาการแพร่กระจายของฟอร์มาลดีไฮด์ออกจากถ้วยกาแฟเมลามีนภายใต้ภาวะต่างๆ พบว่า เมื่อใส่น้ำกั้นอุณหภูมิ 60 และ 100 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที ทดสอบซ้ำ 20 ครั้ง ฟอร์มาลดีไฮด์ที่แพร่กระจายออกมาอยู่ในช่วง 0.1-0.2 และ 2.2-4.2 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ เมื่อใส่น้ำกั้นอุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที

โดยคงอุณหภูมิไว้ตลอดเวลา และทดสอบซ้ำ 20 ครั้ง ฟอร์มาลดีไฮด์ที่แพร่กระจายออกมาอยู่ในช่วง 2.4-14.4 มิลลิกรัม/ลิตร เมื่อนำถ้วยกาแฟเมลามีนไปใช้งานกับเตาไมโครเวฟ โดยการต้มน้ำในระยะเวลา 1, 2, 3, 4, และ 5 นาที ที่กำลังไฟ 900 วัตต์ แล้ววางทิ้งไว้ 30 นาทีที่อุณหภูมิห้อง ทดสอบซ้ำ 20 ครั้ง ปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์ที่แพร่กระจายออกมาเป็นดังนี้ 0.1-0.2, 0.5-2.5, 1.9-5.7, 1.8-12.6, และ 2.5-12.7 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ เมื่อนำภาชนะเมลามีนสำหรับอาหาร ที่วางจำหน่ายในตลาดและห้างสรรพสินค้า จำนวน 15 ตัวอย่าง มาทดสอบตามข้อกำหนดของภาชนะที่สามารถใช้งานที่อุณหภูมิสูงเกิน 100 องศาเซลเซียส โดยทดสอบที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส คงอุณหภูมิไว้ 30 นาที พบว่าการแพร่กระจายของฟอร์มาลดีไฮด์ อยู่ในช่วง 8.7-26.9 มิลลิกรัม/ลิตร เกินค่ามาตรฐาน 2 มิลลิกรัม/ลิตร ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 111 (พ.ศ. 2531) ทุกตัวอย่าง ดังนั้นการนำภาชนะที่มีส่วนประกอบของอะมิโนเรซินที่เป็นโพลีเมอร์ของเมลามีนกับฟอร์มาลดีไฮด์ ไปใช้อย่างไม่ถูกต้องจะทำให้ผู้บริโภคได้รับอันตรายจากสารฟอร์มาลดีไฮด์ที่แพร่กระจายออกมาจากภาชนะ และที่สำคัญสารชนิดนี้

เป็นสารที่ก่อให้เกิดโรคมะเร็งในมนุษย์ (Group 1: The agent is carcinogenic to humans)⁶

ข้อแนะนำสำหรับการใช้ภาชนะเมลามีนให้ปลอดภัย คือ เมื่อซื้อภาชนะเมลามีนมาใช้ใหม่ควรล้างด้วยน้ำเดือดก่อนการใช้งาน เพื่อเป็นการชะล้างสิ่งสกปรกและกำจัดฟอร์มาลดีไฮด์ออกไปก่อน บางส่วน ไม่ควรใช้ภาชนะเมลามีนในการปรุง หรืออุ่นอาหารด้วยเตาไมโครเวฟเป็นเวลานาน และไม่ควรรนำภาชนะเมลามีนใส่อาหารหลังปรุงด้วยความร้อนเสร็จใหม่ ซึ่งเป็นการช่วยเพิ่มปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์ที่ จะแพร่กระจายออกมาจากภาชนะได้ รวมทั้งควรใช้ ฟองน้ำอ่อนนุ่มในการล้างทำความสะอาดภาชนะ เมลามีน ไม่ควรใช้อุปกรณ์การล้างทำความสะอาดที่มีลักษณะแข็งกับภาชนะเมลามีน เช่น ใยเหล็ก, แปรงขัด, และแผ่นขัด เพราะภาชนะเมลามีนจะเกิดรอยขีดข่วนและทำให้สารฟอร์มาลดีไฮด์ออกมาปนเปื้อนในอาหารได้⁷

เอกสารอ้างอิง

- 1 International Agency for Research on Cancer World Health Organization. Melamine In: IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans Volume 73: Some Chemicals that Cause Tumours of the Kidney or Urinary Bladder in Rodents and Some Other Substances; 1999. p. 329-338.
- 2 Melamine. Available at: <http://en.wikipedia.org/wiki/Melamine>. Accessed October 2, 2008.
- 3 Heck HD & Tyl RW. The induction of bladder stones by terephthalic acid, dimethyl terephthalate, and melamine (2,4,6-triamino-s-triazine) and its relevance to risk assessment. Regul Toxicol Pharmacol 1985; 5: 294-313.
- 4 ยาวมาลย์ คำเจริญ. รอบรู้เรื่องเมลามีน. Available at: <http://www.ahathai.com/images/1189580671/Melamine%20-%20Jaowaman.doc>. Accessed October 2, 2008.
- 5 ศศิธร หอมดำรงวงศ์. การแพร่กระจายของฟอร์มาลดีไฮด์ออกมาจากภาชนะเมลามีนสำหรับอาหาร. ว.วิชาการสาธารณสุข 2547; 13: 404-13.
- 6 International Agency for Research on Cancer World Health Organization. Formaldehyde In : IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans Volume 88: Formaldehyde, 2-Butoxyethanol and 1-tert-Butoxypropan-2-ol; 2006. p. 39-81.
- 7 ภาชนะเมลามีนคืออะไร?. Available at: http://th.merial.com/pdf/LA/LA_Melamine_Copperware_13-10-08.pdf. Accessed October 2, 2008.

บรรณาธิการ



ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยส่วนบุคคล ความพึงพอใจในงาน ลักษณะงาน และการปฏิบัติงานกับความยึดมั่นผูกพันต่อองค์กร ของพยาบาลวิชาชีพ สถาบันมะเร็งแห่งชาติ

จิราพรรณ เวศานนท์
บุปผชาติ ชุนอินทร์
พัชรี เจริญพร
รัชชฎาพร สีตาดาษ

บทคัดย่อ การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยส่วนบุคคล ความพึงพอใจในงาน ลักษณะงาน และการปฏิบัติงานกับความยึดมั่นผูกพันต่อองค์กร ของพยาบาลวิชาชีพ สถาบันมะเร็งแห่งชาติ กลุ่มตัวอย่างคือ พยาบาลวิชาชีพ ของกลุ่มภารกิจบริการวิชาการ สถาบันมะเร็งแห่งชาติ ที่มีคุณสมบัติตรงตามเกณฑ์ที่กำหนด จำนวน 141 คน เครื่องมือที่ใช้ในการเก็บรวบรวมข้อมูลประกอบด้วย แบบสอบถามปัจจัยส่วนบุคคล แบบสอบถามความพึงพอใจในงาน แบบสอบถามลักษณะงาน แบบสอบถามการปฏิบัติงานของพยาบาลวิชาชีพ และแบบสอบถามความยึดมั่นผูกพันต่อองค์กร ตรวจสอบความตรงตามเนื้อหา และหาค่าความเที่ยง โดยสูตรสัมประสิทธิ์แอลฟาของครอนบาคได้ 0.945, 0.883, 0.982 และ 0.946 ตามลำดับ วิเคราะห์ข้อมูลโดยการแจกแจงความถี่ ค่าร้อยละ ค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เพียร์สัน และวิเคราะห์การถดถอยพหุคูณแบบขั้นตอน (stepwise multiple regression analysis)

ผลการวิจัยพบว่า ปัจจัยส่วนบุคคลของพยาบาลวิชาชีพ สถาบันมะเร็งแห่งชาติ จำนวน 141 คน ส่วนมากมีอายุ ระหว่าง 41-50 ปี คิดเป็นร้อยละ 35.5 ประสบการณ์การทำงานวิชาชีพพยาบาลมากที่สุด 16 ปี ขึ้นไป คิดเป็นร้อยละ 44.7 และสถานภาพสมรสคู่มากที่สุด คิดเป็นร้อยละ 53.2 ความพึงพอใจในงานของพยาบาลวิชาชีพ สถาบันมะเร็งแห่งชาติ โดยรวมอยู่ในระดับมาก (ค่าเฉลี่ย = 3.50) ลักษณะงานของพยาบาลวิชาชีพ โดยรวมอยู่ในระดับสูง (ค่าเฉลี่ย = 3.84) การปฏิบัติงานของพยาบาลวิชาชีพ โดยรวมอยู่ในระดับสูง (ค่าเฉลี่ย = 3.85) ความยึดมั่นผูกพันต่อองค์กรของพยาบาลวิชาชีพ โดยรวมอยู่ในระดับสูง (ค่าเฉลี่ย = 3.79) อายุ และประสบการณ์การทำงานวิชาชีพพยาบาล กับความยึดมั่นผูกพันต่อองค์กร ($r = 0.23$) ความพึงพอใจในงาน ลักษณะงาน และการปฏิบัติงาน มีความสัมพันธ์กับความยึดมั่นผูกพันต่อองค์กร ($r = 0.56, 0.50$ และ 0.43 ตามลำดับ) และตัวแปรที่ร่วมกันพยากรณ์ความยึดมั่นผูกพันต่อองค์กรของพยาบาลวิชาชีพได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 คือ ความพึงพอใจในงานและลักษณะงาน โดยร่วมกันพยากรณ์ความยึดมั่นผูกพันต่อองค์กรของพยาบาลวิชาชีพได้ร้อยละ 36.1 ($R^2 = 0.361$) (วารสารโรคมะเร็ง 2551; 28: 161-171.)

Abstract Relationship between Personal Factors, Job Satisfaction, Job Characteristic and Job Performance with Organization Commitment of Registered Nurse in National Cancer Institute

by Jirapun Vesanontavech, Bubpachat Kunin, Patcharee Chareonporn, Ratchadaporn Seedadard.

Inpatient Service Division, National Cancer Institute, Bangkok 10400.

The purpose of this research was to examine the relationship between personal factors, job satisfaction, job characteristic, and job performance with organization commitment of registered nurse at the National Cancer Institute. Research subjects consisted of 141 nurses. The instruments were job satisfaction, job characteristic, and job performance and organization commitment of registered nurse questionnaires. The questionnaires were tested for content validity and reliability. The reliability instruments calculated by Cronbach alpha coefficient were 0.945, 0.883, 0.982, and 0.946 respectively. Statistical techniques were used for data analysis, which were analyzed by percentage, mean, standard deviation, Pearson's product moment correlation coefficient and stepwise multiple regression.

Our findings revealed that the majority of 141 nurses enrolled in this study aged ranging between 41-50 years (35.5%). The maximum of work experience is more than 16 years (44.7%) and most of them are married (53.2%). Mean score of job satisfaction, job characteristic, and job performance and organization commitment of registered nurse were at the high level (\bar{X} = 3.50, 3.84, 3.85, 3.79, respectively). Age and work experience were correlated to organization commitment ($r=0.23$). Job satisfaction, job characteristic, and job performance were correlated with organization commitment of registered nurse ($r= 0.56, 0.50, 0.43$ respectively). The variables that could significantly predict organization commitment of registered nurse at the 0.05 level, were job satisfaction and job characteristic which were accounted for 36.1 percents ($R^2 =0.361$). (*Thai Cancer J 2008; 28: 161-171.*)

บทนำ

จากกระแสการเปลี่ยนแปลงด้านการเมืองและการบริหารประเทศในปัจจุบัน กระแสเรียกร้องคุณภาพบริการสุขภาพ ความคาดหวังของประชาชนที่มีต่อคุณภาพบริการสุขภาพ ประกอบกับภาวะวิกฤตเศรษฐกิจที่เกิดขึ้น ทำให้รัฐขาดแคลนงบประมาณสำหรับบริหารประเทศ รัฐจึงได้ปรับเปลี่ยนระบบการบริหารงบประมาณ โดยใช้มาตรการปรับลดงบประมาณของกระทรวงสาธารณสุข ปรับลดอัตราค่าจ้างบุคลากรพยาบาล ปรับเปลี่ยนระบบการจัดทำงบประมาณ รวมทั้งปรับเปลี่ยนระบบการประเมินผลการปฏิบัติงาน จากการเปลี่ยนแปลงดังกล่าว

กระทรวงสาธารณสุขจะต้องให้บริการพยาบาลที่มีคุณภาพภายใต้ต้นทุนต่ำสุด จัดบริการสุขภาพให้แก่ประชาชนอย่างทั่วถึง มีคุณภาพ บริหารอัตรากำลังพยาบาลอย่างมีประสิทธิภาพ บริหารงบประมาณแบบใหม่ ได้แก่ ระบบงบประมาณแบบมุ่งผลงานตามยุทธศาสตร์ (Strategic Performance Based Budgeting=SPBB) ร่วมกับการบริหารแบบมุ่งผลสัมฤทธิ์ (Result Based Management=RBM) เพื่อให้การบริหารทรัพยากรขององค์กรพยาบาลเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ¹ ซึ่งการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นทำให้พยาบาลมีภาระงานเพิ่มขึ้น ต้องทำงานหนัก ทำงานผลัดเปลี่ยนเวรบ่อย-ดึก ไม่ได้พักผ่อนตามเวลาเช่น

เดียวกับบุคคลทั่วไป มีภาวะเครียดจากการทำงาน ก่อให้เกิดความไม่พอใจในสถานการณ์ที่เป็นอยู่ ส่งผลให้พยาบาลไม่มีความผูกพันต่อองค์กร ซึ่งความยึดมั่นผูกพันต่อองค์กรเป็นความรู้สึกของผู้ปฏิบัติงานในองค์กรที่มีต่อองค์กรในด้านบวก มีเจตคติที่ดีต่อองค์กร ยอมรับเป้าหมายและค่านิยมขององค์กร รักษาผลประโยชน์ขององค์กร มีความพร้อมและเต็มใจที่จะทุ่มเทการปฏิบัติงานอย่างเต็มกำลังความสามารถ เพื่อให้องค์กรประสบความสำเร็จตามเป้าหมาย ซึ่งความยึดมั่นผูกพันต่อองค์กรประกอบด้วย การยอมรับเป้าหมาย ความเต็มใจ และความต้องการที่จะรักษาองค์กร² สำหรับสถาบันมะเร็งแห่งชาติเป็นสถานบริการด้านสุขภาพเฉพาะทางด้านโรคมะเร็ง มีจำนวนเตียงรับผู้ป่วย 200 เตียง โครงสร้างองค์กรได้แบ่งเป็นกลุ่มภารกิจต่างๆ งานในความรับผิดชอบของกลุ่มภารกิจบริการวิชาการ ประกอบด้วย กลุ่มงานวิชาการพยาบาล กลุ่มงานการบริการผู้ป่วยนอก และ กลุ่มงานการบริการผู้ป่วยใน ซึ่งการให้บริการพยาบาลเป็นหน้าที่หลักของพยาบาล รวมทั้งต้องให้บริการพยาบาลที่มีคุณภาพ สนองตามนโยบายกรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข รวมทั้งการปฏิบัติงานตามพันธกิจของสถาบันมะเร็งแห่งชาติ แต่สถานการณ์ในปัจจุบันพบว่า สถาบันมะเร็งแห่งชาติ มีพยาบาลจำนวนจำกัด เนื่องจากมีการโอน ย้าย ลาออก ของพยาบาลวิชาชีพ ตั้งแต่ พ.ศ. 2547-2550 จำนวน 22 คน และยังสรรหาพยาบาลวิชาชีพทดแทนได้ไม่เพียงพอกับภาระงาน ทำให้พยาบาลวิชาชีพที่คงเหลือมีปริมาณงานเพิ่มขึ้น เกิดความท้อแท้ เหนื่อยล้า มีความเครียดสะสม คิดจะลาออก โอน ย้าย หรือเปลี่ยนงาน

ด้วยเหตุนี้คณะผู้วิจัย จึงสนใจศึกษาปัจจัยต่างๆ ที่มีความสัมพันธ์กับความยึดมั่นผูกพันต่อองค์กร ได้แก่ ปัจจัยส่วนบุคคล ความพึงพอใจใน

งาน ลักษณะงาน และการปฏิบัติงาน ของพยาบาลวิชาชีพ สถาบันมะเร็งแห่งชาติ เพื่อที่ผู้บริหารองค์กรพยาบาลจะได้นำข้อมูลไปปรับนโยบายและกลยุทธ์ เพื่อรักษาบุคลากรพยาบาลไว้ในองค์กรให้นานที่สุด

วัตถุประสงค์การวิจัย

1. เพื่อประเมินความพึงพอใจในงาน ลักษณะงาน การปฏิบัติงาน และความยึดมั่นผูกพันต่อองค์กรของพยาบาลวิชาชีพ สถาบันมะเร็งแห่งชาติ
2. เพื่ออธิบายความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยส่วนบุคคล ความพึงพอใจในงาน ลักษณะงาน และการปฏิบัติงานกับความยึดมั่นผูกพันต่อองค์กรของพยาบาลวิชาชีพ สถาบันมะเร็งแห่งชาติ และสร้างสมการพยากรณ์ที่สามารถร่วมกันพยากรณ์ความยึดมั่นผูกพันในองค์กรของพยาบาลวิชาชีพ สถาบันมะเร็งแห่งชาติ

สมมติฐานการวิจัย

ปัจจัยส่วนบุคคล ความพึงพอใจในงาน ลักษณะงาน และการปฏิบัติงานมีความสัมพันธ์ทางบวกกับความยึดมั่นผูกพันต่อองค์กร

วัตถุประสงค์และวิธีการ

การวิจัยนี้เป็นการศึกษาเชิงบรรยาย เพื่ออธิบายความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยส่วนบุคคล ความพึงพอใจในงาน ลักษณะงาน และการปฏิบัติงานกับความยึดมั่นผูกพันต่อองค์กร ของพยาบาลวิชาชีพ สถาบันมะเร็งแห่งชาติ

ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง

ประชากรคือ พยาบาลวิชาชีพ กลุ่มภารกิจบริการวิชาการ สถาบันมะเร็งแห่งชาติ ที่มีคุณสมบัติตามเกณฑ์ที่กำหนด คือ

1. เป็นพยาบาลวิชาชีพ ที่ไม่ได้ปฏิบัติงาน

ในตำแหน่งรองผู้อำนวยการกลุ่มภารกิจการบริการวิชาการ หัวหน้ากลุ่มงานวิชาการพยาบาล หัวหน้ากลุ่มงานการบริการผู้ป่วยนอก และหัวหน้ากลุ่มงานการบริการผู้ป่วยใน

2. มีประสบการณ์การทำงานวิชาชีพพยาบาลมาแล้วไม่น้อยกว่า 1 ปี

3. ยินดีให้ความร่วมมือในการศึกษาวิจัยครั้งนี้

ประชากรทั้งหมดตามคุณสมบัติดังกล่าวมีจำนวน 141 คน ทำการเก็บรวบรวมข้อมูลประชากรทุกคน

เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัยเป็นแบบสอบถามที่ดัดแปลงและสร้างขึ้นตามความเหมาะสมของแนวคิดและกลุ่มตัวอย่าง ประกอบด้วยแบบสอบถามจำนวน 5 ส่วน ดังนี้

1. **ปัจจัยส่วนบุคคล** ได้แก่ อายุ ประสบการณ์การทำงานวิชาชีพพยาบาล และสถานภาพสมรส

2. **ความพึงพอใจในงานของพยาบาลวิชาชีพ** สร้างตามกรอบแนวคิดของเฮิร์ทเบิร์ก³ มีข้อความทั้งหมด 24 ข้อ ลักษณะแบบสอบถามเป็นแบบมาตราส่วนประมาณค่า 5 ระดับ (rating scale) เกณฑ์การประเมินตั้งแต่ พึงพอใจมากที่สุด เท่ากับ 5 และ พึงพอใจน้อยที่สุด เท่ากับ 1

3. **ลักษณะงาน** สร้างโดยยึดหลักการของแฮคแมนและโอลแมน⁴ มีข้อความทั้งหมด 18 ข้อ ลักษณะแบบสอบถามเป็นแบบมาตราส่วนประมาณค่า 5 ระดับ (rating scale) โดยเห็นด้วยที่สุด เท่ากับ 5 และไม่เห็นด้วยที่สุดเท่ากับ 1

4. **การปฏิบัติงานของพยาบาลวิชาชีพ** ใช้หลักการและแนวคิดของชวีเรียน⁵ มี 50 ข้อ ลักษณะแบบสอบถามเป็นมาตราส่วนประมาณค่า 5 ระดับ (rating scale) เกณฑ์การประเมิน คือ ปฏิบัติ

งานนั้นได้ดี มีประสิทธิภาพ มีความแม่นยำในการปฏิบัติ และตัดสินใจดี เท่ากับ 5 และปฏิบัติงานนั้นไม่ได้เลยหรือไม่สามารถตัดสินใจเกี่ยวกับการปฏิบัติงานนั้นได้ ต้องการคำแนะนำตลอดเวลา เท่ากับ 1

5. **ความยึดมั่นผูกพันต่อองค์กร** อาศัยหลักการของพอร์เตอร์และคณะ² มีจำนวน 16 ข้อ ลักษณะแบบสอบถามเป็นแบบมาตราส่วนประมาณค่า 5 ระดับ (rating scale) มีเกณฑ์การประเมินคือ เห็นด้วยที่สุด เท่ากับ 5 และไม่เห็นด้วยที่สุดเท่ากับ 1

แบบสอบถามทุกส่วน ผ่านการตรวจสอบความตรงตามเนื้อหา (content validity) จากผู้ทรงคุณวุฒิ 3 ท่าน ได้ค่าดัชนีความตรงตามเนื้อหา⁶ ของแบบสอบถามปัจจัยส่วนบุคคล ความพึงพอใจในงานของพยาบาลวิชาชีพ ลักษณะงาน การปฏิบัติงานของพยาบาลวิชาชีพ และความยึดมั่นผูกพันต่อองค์กร เท่ากับ 1.00, 0.85, 0.94, 0.96 และ 0.98 ตามลำดับ และหาความเที่ยงของเครื่องมือ (reliability) โดยใช้สัมประสิทธิ์แอลฟาของครอนบาค (Cronbach's coefficient) ได้ค่าความเที่ยงของแบบสอบถามความพึงพอใจในงานของพยาบาลวิชาชีพเท่ากับ 0.945 แบบสอบถามลักษณะงานเท่ากับ 0.883 การปฏิบัติงานของพยาบาลวิชาชีพเท่ากับ 0.982 และความยึดมั่นผูกพันต่อองค์กรเท่ากับ 0.946

การเก็บรวบรวมข้อมูล

ผู้ช่วยนักวิจัยแจกแบบสอบถามแก่ประชากรทุกคน จำนวน 141 ฉบับ และได้รับแบบสอบถามคืนมาทั้งหมด สามารถที่จะนำมาวิเคราะห์ได้ทุกชุด

การวิเคราะห์ข้อมูล

1. วิเคราะห์ปัจจัยส่วนบุคคล โดยการแจกแจงความถี่ และค่าร้อยละ

2. วิเคราะห์ความพึงพอใจในงาน ลักษณะงาน การปฏิบัติงาน และความยึดมั่นผูกพันต่อองค์กรของพยาบาลวิชาชีพด้วยการหาค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

3. วิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยส่วนบุคคล ความพึงพอใจในงาน ลักษณะงาน และการปฏิบัติงานกับความยึดมั่นผูกพันต่อองค์กร ด้วยการหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์แบบเพียร์สัน (Pearson's product moment correlation coefficient)

4. สร้างสมการพยากรณ์ความยึดมั่นผูกพันต่อองค์กรของพยาบาลวิชาชีพ จากตัวแปรพยากรณ์กับปัจจัยส่วนบุคคล ความพึงพอใจในงาน ลักษณะงาน การปฏิบัติงาน โดยการวิเคราะห์ถดถอยพหุคูณแบบเป็นขั้นตอน (stepwise multiple regression analysis)

ผลการศึกษา

1. พยาบาลวิชาชีพ จำนวน 141 คน ร้อยละ 35.5 มีอายุระหว่าง 41-50 ปี ร้อยละ 44.7 มีประสบการณ์การทำงานวิชาชีพพยาบาล อย่างน้อย

16 ปี และมีสถานภาพสมรสคู่ คิดเป็นร้อยละ 53.2

2. ความพึงพอใจในงาน โดยรวมอยู่ในระดับมาก (ค่าเฉลี่ย = 3.50) เมื่อพิจารณาเป็นรายด้านพบว่า ด้านที่มีค่าเฉลี่ยมากที่สุด คือ ด้านความสำเร็จในหน้าที่การงาน (ค่าเฉลี่ย = 3.89) รองลงมา คือ ด้านความสัมพันธ์กับเพื่อนร่วมงาน (ค่าเฉลี่ย = 3.79) ส่วนด้านที่มีค่าเฉลี่ยน้อยที่สุด คือ ด้านเงินเดือนและผลตอบแทน (ค่าเฉลี่ย = 3.07) (ตารางที่ 1)

3. ลักษณะงาน โดยรวมอยู่ในระดับสูง (ค่าเฉลี่ย = 3.84) เมื่อพิจารณารายด้านพบว่า ทุกด้านมีค่าเฉลี่ยอยู่ในระดับสูงและด้านที่มีค่าเฉลี่ยสูงสุด คือ ด้านความสำคัญของงาน (ค่าเฉลี่ย = 3.95) รองลงมาคือด้านความมีเอกลักษณ์ของงาน (ค่าเฉลี่ย = 3.92) ส่วนด้านที่มีค่าเฉลี่ยน้อยที่สุด คือ ด้านผลป้อนกลับของงาน (ค่าเฉลี่ย = 3.60) (ตารางที่ 2)

4. การปฏิบัติงาน โดยรวมอยู่ในระดับสูง (ค่าเฉลี่ย = 3.85) เมื่อพิจารณารายด้านพบว่า ทุกด้านมีค่าเฉลี่ยอยู่ในระดับสูงและด้านที่มีค่าเฉลี่ยสูงสุด คือ ด้านการติดต่อสื่อสารและการสร้าง

ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ของความพึงพอใจในงานของพยาบาลวิชาชีพ สถาบันมะเร็งแห่งชาติ จำแนกตามรายด้าน (n=141)

ความพึงพอใจในงาน	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน
1.ด้านความสำเร็จในหน้าที่การงาน	3.89	0.65
2.ด้านความสัมพันธ์กับเพื่อนร่วมงาน	3.79	0.78
3.ด้านการยอมรับนับถือ	3.72	0.68
4.ด้านความมั่นคงในหน้าที่การงาน	3.59	0.90
5.ด้านความก้าวหน้าในหน้าที่การงาน	3.31	0.91
6.ด้านนโยบายและการบริหาร	3.15	0.78
7.ด้านเงินเดือนและผลตอบแทน	3.07	0.94
โดยรวม	3.50	0.80

ตารางที่ 2 ค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ของลักษณะงานของพยาบาลวิชาชีพ สถาบันมะเร็งแห่งชาติ จำแนกตามรายด้าน (n=141)

ลักษณะงาน	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน
1. ด้านความสำคัญของงาน	3.95	0.78
2. ด้านความมีเอกลักษณ์ของงาน	3.92	0.83
3. ด้านความมีอิสระในการทำงาน	3.91	0.68
4. ด้านความหลากหลายของงาน	3.83	0.77
5. ด้านผลป้อนกลับของงาน	3.60	0.84
โดยรวม	3.84	0.78

ตารางที่ 3 ค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ของการปฏิบัติงานของพยาบาลวิชาชีพ สถาบันมะเร็งแห่งชาติ จำแนกตามรายด้าน (n=141)

การปฏิบัติงานของพยาบาลวิชาชีพ	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน
1.ด้านการติดต่อสื่อสารและการสร้างสัมพันธภาพ	4.04	0.69
2.ด้านการเป็นผู้นำ	3.93	0.73
3.ด้านการวางแผนและประเมินผลการพยาบาล	3.85	0.67
4.ด้านการสอนและการให้ความร่วมมือ	3.82	0.74
5.ด้านการดูแลผู้ป่วยในภาวะวิกฤต	3.77	0.75
6.ด้านการพัฒนาตนเองด้านวิชาชีพ	3.70	0.74
โดยรวม	3.85	0.72

สัมพันธภาพ (ค่าเฉลี่ย = 4.04) รองลงมาคือด้านการเป็นผู้นำ (ค่าเฉลี่ย = 3.93) ส่วนด้านที่มีค่าเฉลี่ยน้อยที่สุด คือ ด้านการพัฒนาตนเองด้านวิชาชีพ (ค่าเฉลี่ย = 3.70) (ตารางที่ 3)

5. ความยึดมั่นผูกพันต่อองค์กร โดยรวมอยู่ในระดับสูง (ค่าเฉลี่ย = 3.79) เมื่อพิจารณารายด้านพบว่า ทุกด้านมีค่าเฉลี่ยอยู่ในระดับสูงและด้านที่มีค่าเฉลี่ยสูงสุด คือ ด้านความต้องการที่จะรักษา

องค์กร (ค่าเฉลี่ย = 3.95) รองลงมาคือด้านการยอมรับเป้าหมาย (ค่าเฉลี่ย = 3.72) ส่วนด้านที่มีค่าเฉลี่ยน้อยที่สุด คือ ด้านความเต็มใจ (ค่าเฉลี่ย = 3.71) (ตารางที่ 4)

6. ปัจจัยส่วนบุคคล ได้แก่ อายุ และประสบการณ์การทำงานของพยาบาลวิชาชีพ มีความสัมพันธ์ทางบวกในระดับต่ำ กับความยึดมั่นผูกพันต่อองค์กร ความพึงพอใจในงาน ลักษณะงาน

ตารางที่ 4 ค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ของความยึดมั่นผูกพันต่อองค์กรของพยาบาลวิชาชีพ สถาบันมะเร็งแห่งชาติ จำแนกตามรายด้าน (n=141)

ความยึดมั่นผูกพันต่อองค์กร	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน
ด้านความต้องการที่จะรักษาองค์กร	3.95	0.80
ด้านการยอมรับเป้าหมาย	3.72	0.80
ด้านความเต็มใจ	3.71	0.82
โดยรวม	3.79	0.80

ตารางที่ 5 ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยส่วนบุคคล ความพึงพอใจในงาน ลักษณะงาน และการปฏิบัติงานต่อความยึดมั่นผูกพันต่อองค์กรของพยาบาลวิชาชีพ สถาบันมะเร็งแห่งชาติ (n=141)

ตัวแปร	ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r)
ปัจจัยส่วนบุคคล	
- อายุ	0.231*
- ประสบการณ์การทำงานวิชาชีพพยาบาล	0.234*
ความพึงพอใจในงาน	0.561*
ลักษณะงาน	0.503*
การปฏิบัติงาน	0.432*

* p < 0.01

และการปฏิบัติงานมีความสัมพันธ์ทางบวกในระดับปานกลางกับความยึดมั่นผูกพันต่อองค์กร (ตารางที่ 5)

7. ปัจจัยที่มีความสำคัญต่อความยึดมั่นผูกพันต่อองค์กร เมื่อทำการคัดเลือกปัจจัยที่มีความสำคัญต่อความยึดมั่นผูกพันต่อองค์กร โดยใช้ stepwise multiple regression analysis พบว่าความพึงพอใจในงานเข้าสมการเป็นตัวแปรแรก ต่อจากนั้นตัวแปรที่เข้าคือ ลักษณะงาน โดยความพึงพอใจในงาน สามารถอธิบายความแปรปรวนความยึดมั่นผูกพันต่อองค์กรได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 โดยมีค่าสัมประสิทธิ์การพยากรณ์เท่ากับ 0.315

($R^2 = 0.315$) และเมื่อเพิ่มตัวแปรพยากรณ์ลักษณะงานเข้าไปมีค่าสัมประสิทธิ์การพยากรณ์เพิ่มขึ้นเป็น 0.361 ($R^2 = 0.361$) ซึ่งสามารถเพิ่มอำนาจการพยากรณ์ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 และอธิบายความแปรปรวนความยึดมั่นผูกพันต่อองค์กรได้เพิ่มขึ้นร้อยละ 5.5 (R^2 change = 0.055) (ตารางที่ 6)

8. สมการที่ค้นพบคือ ความยึดมั่นผูกพันต่อองค์กร = $1.510 + 0.652$ ความพึงพอใจในงาน + 0.320 ลักษณะงาน (ตารางที่ 7)

ตารางที่ 6 ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์พหุคูณ (R) ระหว่างตัวแปรที่ได้รับเลือกเข้าสู่สมการถดถอย อำนาจในการพยากรณ์ (R^2) และการทดสอบความมีนัยสำคัญของอำนาจในการพยากรณ์ที่เพิ่มขึ้น (R^2 change) ในการพยากรณ์ความยืดหยุ่นผูกพันต่อองค์กรของพยาบาลวิชาชีพ สถาบันมะเร็งแห่งชาติ เมื่อใช้วิธีการแบบเพิ่มตัวแปรเป็นขั้นตอน

ลำดับขั้นของการคัดเลือก ตัวพยากรณ์	R	R^2	R^2 change	F	P-value
ความพึงพอใจในงาน	0.561	0.315	0.315	63.958	0.000
ลักษณะงาน	0.608	0.361	0.055	11.946	0.001

ตารางที่ 7 ค่าสัมประสิทธิ์ถดถอยของตัวพยากรณ์ความยืดหยุ่นผูกพันต่อองค์กรในรูปคะแนนดิบ(b) และคะแนนมาตรฐาน(Beta) ทดสอบความมีนัยสำคัญทางสถิติของ(b) แสดงสมการถดถอยพหุคูณที่ใช้พยากรณ์ความยืดหยุ่นผูกพันต่อองค์กร ที่ได้จากการคัดเลือกตัวแปรด้วยวิธีแบบเพิ่มตัวแปรเป็นขั้นตอน

ลำดับขั้นของการคัดเลือก ตัวพยากรณ์	b	SE.b	Beta	t	P-value
ความพึงพอใจในงาน	0.652	0.082	0.561	7.997	0.000
ลักษณะงาน	0.320	0.993	0.280	3.456	0.000

R=0.608 Overall F=11.946
 $R^2=0.361$ Constant =1.510

อภิปรายผล

พยาบาลวิชาชีพส่วนใหญ่ มีอายุระหว่าง 41-50 ปี คิดเป็นร้อยละ 35.5 ประสบการณ์การทำงานวิชาชีพพยาบาล 16 ปีขึ้นไป มากที่สุดคิดเป็นร้อยละ 44.7 และมีสถานภาพสมรสคู่มากที่สุดคิดเป็นร้อยละ 53.2 และความยืดหยุ่นผูกพันต่อองค์กรของพยาบาลวิชาชีพ โดยรวมอยู่ในระดับสูง (ค่าเฉลี่ย = 3.79)

ปัจจัยส่วนบุคคล ได้แก่ อายุ และประสบการณ์การทำงานวิชาชีพพยาบาล พบว่ามีความสัมพันธ์ทางบวกในระดับต่ำกับความยืดหยุ่นผูกพันต่อองค์กร ($r = 0.23$) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.01 ซึ่งอาจเป็นเพราะว่าพยาบาลวิชาชีพมีอายุมากตระหนักได้ว่าโอกาสหรือทางเลือกในการทำงานของตนเองลดลง และคนที่มีอายุมากมักมีตำแหน่งหน้าที่การงานสูง ดังนั้นการย้ายที่ทำงานของบุคคลจาก

องค์กรจะลดลงเมื่ออายุมากขึ้น สอดคล้องกับการศึกษาของ ศศิพันธ์ หล้านามวงศ์⁷ พบว่าอายุมีความสัมพันธ์ทางบวกกับความยึดมั่นผูกพันต่อองค์กร ส่วนประสพการณ์การทำงานวิชาชีพ มีความสัมพันธ์กับความยึดมั่นผูกพันต่อองค์กรอาจเป็นเพราะว่า พยาบาลวิชาชีพที่ปฏิบัติงานในองค์กรมาระยะหนึ่งจะเกิดความสุขสบายในสิ่งแวดล้อมขององค์กร มีผู้ร่วมงานปฏิบัติงานด้วยกัน เป็นที่ยอมรับของผู้ร่วมงานทำให้ผูกพันต่อองค์กรเช่นเดียวกับการศึกษาของ รัมภาพรณ ประมวลทรัพย์⁸ และ สุกานดา ศุภคดีสันต์⁹ ที่พบว่าประสพการณ์ในการทำงานมีความสัมพันธ์ทางบวกกับความยึดมั่นผูกพันต่อองค์กร

ด้านความพึงพอใจ ลักษณะงาน และการปฏิบัติงานของพยาบาลวิชาชีพ พบว่ามีความสัมพันธ์ทางบวกในระดับปานกลาง ($r = 0.56, 0.50$ และ 0.43 ตามลำดับ) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.01 จากผลการศึกษาเป็นเช่นนี้อาจเนื่องจากความพึงพอใจในงานของพยาบาลวิชาชีพเกิดจากเจตคติที่ดีของพยาบาลที่มีต่องาน ปฏิบัติงานเต็มกำลังความสามารถ เพื่อพัฒนาองค์กรให้เกิดความก้าวหน้า เป็นไปตามเป้าหมายขององค์กร¹⁰ มีส่วนร่วมในการปฏิบัติงาน และได้รับการสนับสนุน ช่วยเหลือซึ่งกันและกันของพยาบาลในหน่วยงาน¹¹ ก่อให้เกิดความรู้สึกเป็นสุขในการทำงาน รู้สึกมีคุณค่าในตนเอง ภาคภูมิใจและพึงพอใจในงานเกิดความยึดมั่นผูกพันต่อองค์กร สอดคล้องกับการศึกษาของ แจ่มจันทร์ คล้ายวงศ์¹² และ รัมภาพรณ ประมวลทรัพย์⁸ ส่วนของลักษณะงานพบว่า มีความสัมพันธ์กับความยึดมั่นผูกพันต่อองค์กรเช่นกัน อาจเป็นเพราะว่า พยาบาลพึงพอใจกับลักษณะงานที่ปฏิบัติและส่งผลให้ต้องการอยู่ปฏิบัติงานในสถาบันมะเร็งแห่งชาติตลอดไป สอดคล้องกับการศึกษาของ แจ่มจันทร์ คล้ายวงศ์¹² มณี ถาวรทิวังษ์¹³ Nijhof

et al.¹⁴ ที่พบว่าลักษณะงานมีความสัมพันธ์กับความยึดมั่นผูกพันต่อองค์กร และจากการศึกษาพบว่า การปฏิบัติงานก็มีความสัมพันธ์กับความยึดมั่นผูกพันต่อองค์กร อาจเกิดจากการปฏิบัติงานของพยาบาลเป็นองค์ประกอบหลักของบริการสุขภาพที่ผู้รับบริการได้รับ ซึ่งการปฏิบัติงานอย่างมีคุณภาพจะส่งผลต่อภาพรวมของบริการสุขภาพขององค์กร ก่อให้เกิดความภาคภูมิใจในสถานที่ทำงาน เป็นแรงจูงใจในการปฏิบัติงาน เสริมสร้างความรู้สึกรักผูกพันในงานและองค์กร เช่นเดียวกับการศึกษาของ แจ่มจันทร์ คล้ายวงศ์¹² ที่พบว่า การปฏิบัติงานของพยาบาลวิชาชีพและความยึดมั่นผูกพันต่อองค์กรมีความสัมพันธ์กัน

สำหรับความพึงพอใจในงานพบว่า เป็นตัวแปรพยากรณ์อันดับแรกที่ยธิบายความแปรปรวนได้ร้อยละ 31.5 ($R^2 = 0.315$) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 แสดงว่าพยาบาลวิชาชีพยินดีที่จะทำงานในองค์กรและพร้อมเสียสละเวลาเพื่อการทำงาน เต็มใจทำงานแม้ภาระงานมาก การที่พยาบาลปฏิบัติงานด้วยความตั้งใจและเต็มกำลังสามารถ ปฏิบัติงานอย่างมีคุณภาพตามมาตรฐาน มีความพึงพอใจที่ได้รับจากองค์กร การคงอยู่ในวิชาชีพก็จะสูงขึ้น ส่งผลให้เกิดความยึดมั่นผูกพันต่อองค์กรต่อไป และเมื่อเพิ่มตัวแปรลักษณะงานเป็นตัวแปรระดับสอง อำนาจในการพยากรณ์เพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 36.1 ($R^2 = 0.361$) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 แสดงว่าความยึดมั่นผูกพันจะเพิ่มขึ้นอีกร้อยละ 5.5 (R^2 change = 0.055) เนื่องจากลักษณะงานของพยาบาล เป็นวิชาชีพเฉพาะต้องใช้ความรู้ทางศาสตร์การพยาบาลและศาสตร์ที่เกี่ยวข้อง เป็นปัจจัยที่มีผลต่อแรงจูงใจในการทำงานของบุคคล ถ้าผู้ปฏิบัติงานรับรู้ได้ว่า ลักษณะงานที่ทำงานที่มีคุณค่า ต้องใช้ความคิดอย่างมีเหตุผล มีความสำคัญ มีเกียรติและศักดิ์ศรี เป็นงานที่ทำหาย มีความหลากหลายทำให้มีโอกาสได้ใช้ความสามารถ

มีอิสระในการทำงานและมีส่วนร่วมในการตัดสินใจ ซึ่งจะช่วยสร้างแรงบันดาลใจในการทำงาน ทำให้เกิดความรู้สึกอยากทำงาน มีความสุขและสนุกกับงานที่ทำ ก่อให้เกิดความผูกพันในงานและต้องการที่จะทำงานในองค์กรต่อไป

สรุป

ผลการวิจัยนี้พบว่า ปัจจัยส่วนบุคคลด้านอายุและประสบการณ์การทำงานวิชาชีพพยาบาล มีความสัมพันธ์ทางบวกในระดับต่ำกับความยึดมั่นผูกพันต่อองค์กรอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ความพึงพอใจในงาน ลักษณะงาน และการปฏิบัติงานมีความสัมพันธ์ทางบวกในระดับปานกลาง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และความพึงพอใจในงานกับลักษณะงาน สามารถร่วมกันทำนายความยึดมั่นผูกพันต่อองค์กรได้ร้อยละ 36.1

ข้อเสนอแนะ

1. ผู้บริหารทางการแพทย์ควรมีการจัดดำเนินการ เพื่อยกระดับความยึดมั่นผูกพันต่อองค์กรให้สูงมากกว่าที่เป็นอยู่ ด้วยการจัดการให้พยาบาลวิชาชีพมีความพึงพอใจในงาน คือ บริหารจัดการด้านความก้าวหน้าในหน้าที่การงาน ค่าตอบแทนสวัสดิการ รวมถึงสิทธิประโยชน์ต่างๆ ที่พยาบาลวิชาชีพควรได้รับตามความเหมาะสม และสอดคล้องกับสถานการณ์ทางด้านเศรษฐกิจ และสังคมในปัจจุบัน ตลอดจนสร้างสรรคงานให้มีความโดดเด่น มีลักษณะเฉพาะในความเป็นพยาบาลที่ดูแลผู้ป่วยโรคมะเร็ง เพื่อเป็นการเพิ่มคุณค่าให้กับงาน ส่งผลให้พยาบาลมีความภาคภูมิใจพร้อมที่จะปฏิบัติงานให้ประสบผลสำเร็จ เนื่องจากผลการวิจัยในครั้งนี้พบว่า ความพึงพอใจในงาน และลักษณะงานเป็นปัจจัยสำคัญที่ร่วมกันทำนายความยึดมั่นผูกพันต่อองค์กรได้
2. ควรศึกษาว่าองค์กรประกอบใดของความ

พึงพอใจในงาน และลักษณะงานที่สามารถร่วมกันทำนายความยึดมั่นผูกพันต่อองค์กร

3. ควรทำการศึกษาตัวแปรอื่นเพิ่มเติมที่น่าจะมีความสัมพันธ์ หรือมีผลกระทบต่อความยึดมั่นผูกพันต่อองค์กร และสามารถร่วมกันพยากรณ์ความยึดมั่นผูกพันต่อองค์กรได้ ทั้งสภาพแวดล้อมภายในองค์กรและภายนอกองค์กร เช่น ความสัมพันธ์ระหว่างเจตคติ ค่านิยมในงาน และบรรยากาศการสื่อสารในองค์กร หรือสภาพแวดล้อมภายนอกองค์กร เช่น สภาวะเศรษฐกิจ สังคมและการเมือง เป็นต้น

เอกสารอ้างอิง

1. บุญใจ ศรีสถิตยัณราภรณ์. ภาวะผู้นำและกลยุทธ์การจัดการองค์การพยาบาลในศตวรรษที่ 21. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย; 2550.
2. Porter LW, Strees RM, Mowday RT, Boulian PV. Organization Commitment, job satisfaction, and turnover among psychiatric technicians. J Appl Psychol 1974; 59 : 603-9.
3. Herzberg F, Mausner B, Synderman BB. The motivation to work. (2 nd ed.) New York : John Wiley & Sons; 1959.
4. Hackman JR, Oldham GR. Work Redesign. Massachusetts : Addison - Wesley Publishing Company ;1980.
5. Schwirian PM. Evaluating the Performance of Nurse. A Multidimensional Approach. Nurs Res 1978; 27: 347-51.
6. บุญใจ ศรีสถิตยัณราภรณ์. ระเบียบวิธีวิจัยทางพยาบาลศาสตร์. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย; 2545.
7. ศศิรินทร์ หล้านามวงศ์. ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยส่วนบุคคล บรรยากาศองค์การและการมีส่วนร่วมในงานกับความยึดมั่นผูกพันในองค์การของพยาบาลวิชาชีพโรงพยาบาลรัฐ กรุงเทพมหานคร. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท สาขาวิชาการบริหารการพยาบาล คณะพยาบาลศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย; 2545.
8. รัมภาพรณ ประมวลทรัพย์. ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยส่วนบุคคล ความไว้วางใจหัวหน้าหรือผู้ช่วย ความ

- พึงพอใจในงาน กับความยึดมั่นผูกพันต่อองค์กรของพยาบาลประจำการโรงพยาบาลศูนย์. วิทยานิพนธ์ปริญญาพยาบาลศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาการบริหารการพยาบาล คณะพยาบาลศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย; 2549.
9. สุกานดา ศุภคติสันต์. ลักษณะส่วนบุคคลและสภาพแวดล้อมองค์กรที่มีผลต่อความผูกพันต่อองค์กรของพนักงาน : กรณีศึกษาบริษัทเงินทุนในเขตกรุงเทพมหานคร. วิทยานิพนธ์ปริญญาพยาบาลศาสตรบัณฑิต โครงการบัณฑิตศึกษาการพัฒนาศาสตร์พยาบาลมนุษยศาสตร์ สถาบันบัณฑิตพัฒนบริหารศาสตร์; 2540.
 10. ปรียาพร วงศ์อนุตรโรจน์. จิตวิทยาการบริหารงานบุคคล. กรุงเทพมหานคร: สหมิตรออฟเซต; 2544.
 11. Misener TR, Haddock KS, Gleaton JU, Abu Ajamich AR. Towardan International Measure of Job Satisfaction. Nurs Res 1996; 45: 87-91.
 12. แจ่มจันทร์ คล้ายวงศ์. ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยส่วนบุคคล ความพึงพอใจในงาน ลักษณะงาน และความยึดมั่นผูกพันต่อองค์กรกับการปฏิบัติงานของพยาบาลวิชาชีพโรงพยาบาลในเครือสมิติเวช. วิทยานิพนธ์ปริญญาพยาบาลศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาการพยาบาล บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย; 2540.
 13. มณี ถาวรทวิวงศ์. ความผูกพันต่อองค์กรของเจ้าหน้าที่รับผิดชอบงานบริการสาธารณสุข ในศูนย์บริหารสาธารณสุขเขตกรุงเทพมหานคร. วิทยานิพนธ์ปริญญาพยาบาลศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเอกบริหารสาธารณสุข บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยมหิดล; 2537.
 14. Nijhof WJ, Jong MJ, Beukhof G. Employee commitment in changing Organizations : an exploration. J Eur Indus Training 1998; 22 : 1-9.





Detection of *GSTT1* Polymorphisms in Cancer Patients by Real–Time PCR

Danai Tiwawech*
Somjin Chindavijak**
Adisak Sornprom***
Wutthi Sumetchotimaytha†
Aree Prasitthipayong ††
Yaninee Jarratwisarutporn†††
Takafumi Ishida††††

Abstract Cancer is a huge public health problem in Thailand. Glutathione S-transferase T1 gene (*GSTT1*) plays a crucial role in prevention of cancer by encoding *GSTT1* enzyme to detoxify the electrophiles form of carcinogens. *GSTT1* polymorphism has been reported to be associated with several malignancies and able to be used as a potential genetic risk marker for cancer. However, *GSTT1* polymorphism detection using the conventional polymerase chain reaction (C-PCR) assay is not suitable for a mass screening since it is time consuming and not safe since it uses a carcinogen in the post PCR. To date, real-time PCR (R-PCR) assay has been proposed as a quicker and safer method to solve these problems. This study aims to establish the R-PCR assay by using SYBR green I fluorescence and melting curve analysis for *GSTT1* polymorphism detection in cancer patients by confirming the results of this assay with the results of the C-PCR assay. Two-hundred DNA samples, extracted from peripheral blood leukocyte of Thai patients with cancers of nasopharynx, lung, breast, colon and liver (40 cases in each group) were examined for *GSTT1* polymorphism, *GSTT1* normal genotype (*GSTT1+*) and *GSTT1* null genotype (*GSTT1-*) by using the R-PCR assay with SYBR green I and melting curve analysis and the C-PCR assay. The results of *GSTT1* polymorphism detection by the R-PCR assay were in concordance with the C-PCR assay (Kappa value, $\kappa = 1.0$). One hundred-forty-one individuals with *GSTT1+* in the R-PCR assay showed 2 peaks of melting point at 91.0°C and 88.5°C that correlated with the appearance of 2 DNA bands of *GSTT1* [480 base pair (bp)] and β -globulin (268 bp) in the C-PCR assay, respectively. By contrast, fifty-nine

*Research, **Otolaryngology, ***Surgery, †Out-patient, †† Pathology Divisions,

National Cancer Institute, Bangkok 10400, Thailand.

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

individuals with *GSTT1*- in the R-PCR assay showed a peak of melting point at 88.5°C that associated with the appearance of 1 DNA band of β -globulin (268 bp) in the C-PCR assay. In addition, it has been found that the R-PCR assay was a faster method for *GSTT1* polymorphism detection than the C-PCR assay. The present study suggests that the R-PCR with SYBR Green I and melting curve analysis may be a useful screening tool for more convenient, rapid, reliable and safer detection of *GSTT1* polymorphism in patients with cancer as compared to the C-PCR assay. (*Thai Cancer J* 2008; 28: 172-183.)

Key words: Glutathione S-transferase T1, Polymorphism, Cancer, Real-Time PCR.

บทคัดย่อ การตรวจหา *GSTT1* polymorphism ในผู้ป่วยโรคมะเร็งด้วยวิธี real-time PCR

โดย ดนัย ทิวาเวช* สมจินต์ จินดาวิจักษณ์** อติศักดิ์ ศรพรหม***

วุฒิ สุขเมธโชติเมธา† อาวรีย์ ประสิทธิ์พยงค์†† ญานินณี จรัสวิศรุตพร††† Takafumi Ishida††††

*กลุ่มงานวิจัย, **กลุ่มงานโสต คอ นาสิก, ***กลุ่มงานศัลยกรรม, †กลุ่มงานผู้ป่วยนอก,

†† กลุ่มงานพยาธิวิทยา สถาบันมะเร็งแห่งชาติ กรมการแพทย์

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

โรคมะเร็งเป็นปัญหาสำคัญทางด้านสาธารณสุขของประเทศไทย มีรายงานว่าความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน glutathione S-transferase Theta 1 (*GSTT1* polymorphism) ซึ่งเกี่ยวข้องกับการผลิตเอ็นไซม์ในการทำลายพิษของสารก่อมะเร็งเป็นปัจจัยเสี่ยงอย่างหนึ่งของการเกิดโรคมะเร็ง และสามารถนำ *GSTT1* polymorphism นี้ไปประยุกต์ใช้เป็นตัวบ่งชี้ทางพันธุกรรมของโรคมะเร็งได้ แต่การตรวจหา *GSTT1* polymorphism ด้วยวิธี PCR แบบธรรมดา (conventional PCR : C-PCR) ใช้เวลาในการตรวจมาก และเสี่ยงกับการได้รับสารก่อมะเร็ง จึงไม่เหมาะกับการใช้ตรวจตัวอย่างครั้งละหลายๆได้ ในปัจจุบันวิธีการตรวจแบบ real-time PCR (R-PCR) ซึ่งมีความรวดเร็ว และมีความปลอดภัยในการตรวจมากกว่าได้ถูกนำไปใช้แก้ปัญหานี้ วัตถุประสงค์ของการวิจัยนี้ เพื่อพัฒนาวิธีการตรวจแบบ R-PCR ซึ่งใช้สาร SYBR green I ตามด้วยการวิเคราะห์ melting curve สำหรับใช้ตรวจหา *GSTT1* polymorphism ในผู้ป่วยมะเร็งโดยเปรียบเทียบผลของการตรวจด้วยวิธีดังกล่าวกับผลของการตรวจด้วยวิธี C-PCR ในการศึกษาครั้งนี้ใช้ DNA ซึ่งสกัดได้จาก peripheral blood leukocyte ของผู้ป่วยโรคมะเร็งโพรงหลังจมูก ปอด เต้านม ลำไส้ใหญ่ และตับจำนวน 200 ราย (กลุ่มละ 40 ราย) เพื่อตรวจหา *GSTT1* polymorphism [*GSTT1* normal genotype (*GSTT1*+) และ *GSTT1* null genotype (*GSTT1*-)] ด้วยวิธี R-PCR ซึ่งใช้สาร SYBR green I ตามด้วยการวิเคราะห์ melting curve และวิธี C-PCR ในการศึกษาครั้งนี้พบว่าผลของการตรวจหา *GSTT1* polymorphism ด้วยวิธี R-PCR ตรงกับวิธี C-PCR (Kappa value, $\kappa = 1.0$) โดยพบว่าในผู้ป่วยโรคมะเร็ง 141 รายที่ตรวจพบลักษณะพันธุกรรมเป็น *GSTT1*+ ด้วยวิธี R-PCR มีจุดสูงสุดของ melting point 2 จุด ที่ 91.0°C และ 88.5°C ซึ่งตรงกับการตรวจพบแถบ DNA จำนวน 2 แถบของ *GSTT1* [480 base pair (bp)] และ β -globin (268 bp) ตามลำดับ จากการตรวจด้วยวิธี C-PCR และพบว่าในผู้ป่วยโรคมะเร็ง 59 รายที่ตรวจพบลักษณะพันธุกรรมเป็น *GSTT1*- ด้วยวิธี R-PCR มีจุดสูงสุดของ melting point เพียง 1 จุด ที่ 88.5°C ซึ่งตรงกับการตรวจพบแถบ DNA จำนวน 1 แถบของ β -globin (268 bp) จากการตรวจด้วยวิธี C-PCR นอกจากนี้ยังพบว่าในการตรวจหา *GSTT1* polymorphism ด้วยวิธี R-PCR นั้นทำได้รวดเร็วและมีความปลอดภัยมากกว่าวิธี C-PCR อีกด้วย จากผลของการศึกษานี้แสดงว่าวิธี R-PCR ซึ่งใช้สาร SYBR green I ตามด้วยการวิเคราะห์ melting curve น่าจะนำไปใช้ในการตรวจคัดกรองหา *GSTT1* polymorphism ในผู้ป่วยมะเร็งได้สะดวก รวดเร็ว เชื่อถือได้ และปลอดภัยมากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับวิธี C-PCR (*วารสารโรคมะเร็ง* 2551; 28: 172-183.)

Introduction

Cancer is a greatly harmful disease in the world and is the first leading cause of death in Thailand¹. Epidemiologically, cancer is a complex disease caused by infectious agents^{2,5}, environmental carcinogens⁶ and genetic susceptibility⁷⁻⁹. Clinically, the early stages of cancer are treatable; but most of cancer patients are detected at the incurable later stages, such as nasopharyngeal carcinoma (NPC)¹⁰. Thus, early detection can lead to an effective treatment and the management of cancer. To date, early detection of certain cancers relies on screening for anti-viral antigens, or for other molecular biomarkers such as viral-DNA copy and individual cancer-susceptibility gene polymorphisms^{11,12}. Among these, the studies on the role of individual cancer-susceptibility gene polymorphisms result in the discovery of diagnostic tools for early detection and monitoring of Thai cancer patients and may contribute to a potential genetic risk marker to predict the non-symptomatic risk persons who will have more chances to develop cancer¹³. This may contribute to a faster detection of early stages of cancer for curative treatment and counseling for cancer prevention that will provide the reduction of the morbidity and mortality rate of cancer worldwide in the future.

With respect to individual cancer-susceptibility gene, the *GSTT1* gene (*GSTT1*) that located on chromosome 22q11.2 (about 8.1 kilobase long)¹⁴⁻¹⁶ is an important gene involved in the protection cells against tumorigenesis. The function of *GSTT1* is to encode GSTT1 enzyme

(about 25,300 Dalton)¹⁷ for detoxifying the ultimate carcinogens that derived from various procarcinogens. GSTT1 enzyme is highly detected in human adult liver¹⁸ and is also found in kidney, erythrocytes, spleen, heart, lung, brain, small intestine, and skeletal muscles^{18,19}, as well as in the colon²⁰.

The human *GSTT1* has a genetic polymorphism that consists of a deletion of the whole gene or part of it²¹. The absence of a homozygous allele of *GSTT1* (*GSTT1* null genotype or *GSTT1*-) results in lacking of enzyme activity²² for binding with genotoxic substrates including polycyclic aromatic hydrocarbons found in tobacco smoke, methylating agents, pesticides, and industrial solvents²³. People with the *GSTT1*- may be at increased risk for genotoxic damage from environmental or occupational 1,3-butadiene exposure²⁴ and from environmental or dietary exposures of ethylene oxide²⁵. Thus, individuals with *GSTT1*- are suggested to have more prone to develop cancer than individuals with *GSTT1* normal genotype (*GSTT1*+). Several molecular epidemiological studies have shown that individuals with *GSTT1*- are susceptible to various cancers e.g., cancer of white blood cell (acute lymphoblastic leukemia)²⁶, head and neck²⁷, pharynx²⁸, larynx²⁹, bladder³⁰, colorectal³¹, brain³²⁻³⁴, skin³⁵, stomach³⁶⁻³⁸ and lung³⁹. Recently, *GSTT1*- is therefore proposed to be a potential genetic risk marker for many human cancers. In addition, *GSTT1* polymorphism is a particularly attractive candidate for cancer susceptibility because over half of Asian population carry the *GSTT1*-. It has been reported that the prevalence of the *GSTT1*-

carrier in Asian population is approximately 50–60%, whereas in Caucasians is 10–20%⁴⁰.

Actually, *GSTT1* polymorphism is commonly detected by the conventional polymerase chain reaction (C-PCR) assay⁴¹. However, this assay is not suitable for a mass screening since it is time-consuming and is not safe due to a toxic chemical used in the procedure. Currently, the real-time PCR (R-PCR) assay is suggested to be an advantage method for detection of genetic polymorphism of various cancer-susceptibility genes with a faster and safer performance. Ko and colleagues developed the R-PCR assay using hybridization probes for a rapid detection of *GSTM1*, *GSTT1* and *GSTP1*⁴². Although, this method is highly sensitive and specific, it is not practical for mass screening since the probes are quite expensive. Therefore, an inexpensive R-PCR assay using SYBR green I fluorescence and melting curve analysis is proposed to be an appropriate method for mass screening for cancer high-risk group. The purpose of this study is to develop the R-PCR assay for *GSTT1* polymorphism detection in Thai cancer patients using SYBR green I fluorescence and melting curve analysis and to confirm the results of this assay with the results of the C-PCR assay.

Materials and Methods

Study subjects

DNA samples from peripheral blood leukocytes of 200 ethnic Thai patients with nasopharyngeal carcinoma (NPC), lung cancer

(LUC), breast cancer (BRC), colon cancer (CLC) and liver cancer (LIC) (40 cases in each group) who admitted at the National Cancer Institute of Thailand (NCIT) were used in this study. All patients were histological proven at the Pathology Division, NCIT. DNA extraction was performed using QIA amp[®] DNA Blood Mini Kit (Qiagen). All samples were kept at -20°C prior to be used.

GSTT1 genotyping by C-PCR assay

Genotyping of the *GSTT1* was conducted using a multiplex PCR reaction modified from the method of Abdel-Rahman et al.⁴¹, using primers: 5'-TCT CCT TAC TGG TCC TCA CAT CTC-3' and 5'-TCA CCG GAT CAT GGC CAG CA-3'. Co-amplification of the human β -globin using primers: 5'-AAC TTC ATC CAC GTT CAC C-3' and 5'-GAA GAG CCA AGG ACA GGT AC-3' was performed to confirm the true *GSTT1*- but not a failure in the PCR assay. All samples that showed β -globin PCR positive results were recruited in this study. Briefly, the reaction mixture (50 μ l) was incubated at 95°C for 5 min prior to the PCR and then further processed for 40 cycles at 94°C for 10 sec, 58°C for 20 sec and 72°C for 45 sec, followed by extension at 72°C for 5 min. The amplified products were subjected to electrophoresis on 2.5% agarose gel (Sigma), stained with ethidium bromide, and visualized under ultraviolet light. The PCR products of *GSTT1* and β -globin were 480 and 268 base pairs (bp) in length, respectively (Figure 1). Double distilled water (DDW) was used as the negative control.

***GSTT1* genotyping by R-PCR assay**

The R-PCR assay was performed in a LightCycler[®] model 1.5 machine using the same primer sets for detection of *GSTT1* and human β -globin as used in the C-PCR assay. The LightCycler[®] FastStart DNA MasterPLUS SYBR green I (Roche) was used as the master mix. Briefly, the reaction mixture (20 μ l) was incubated at 95°C for 10 min prior to the PCR and further processed for 40 cycles at 95°C for 10 sec, 58°C for 5 sec and at 72°C for 10 sec. The amplicons were identified using melting curve analysis, by increasing the temperature of the reaction mixtures up to 95°C, by 0.05°C/sec, starting at 68°C for 15 sec. The fluorescent signal of SYBR green I in each reaction was measured at a wavelength of 530 nm. Later, the melting curves were converted to display the first negative derivative ($-dF/dT$) versus the temperature. The amplicons of *GSTT1* and β -globin showed the

melting point at 91.0 and 88.5°C, respectively (Figure 2). DDW was used as the negative control.

Statistical analysis

Kappa statistical analysis was performed to assess the degree of concordance between R-PCR and C-PCR assay. Kappa value (κ) and 95% confidence interval (95% CI) were calculated according to the following equations; $\kappa = (Po - Pe) / (1 - Pe)$ and $95\% \text{ CI} = \kappa \pm [1.96 \times \text{standard error of } \kappa \text{ or } SE(\kappa)]$. Where Po = proportion of observed agreements, Pe = proportion of agreements expected by chance, and $SE(\kappa) = \text{square root of } [Po(1 - Po) / n(1 - Pe)^2]$. Kappa values (κ) of 0-0.4 represent poor to fair agreement, values of 0.41-0.8 represent moderate to substantial agreement and values of 0.81-1.0 represent almost perfect agreement⁴³.

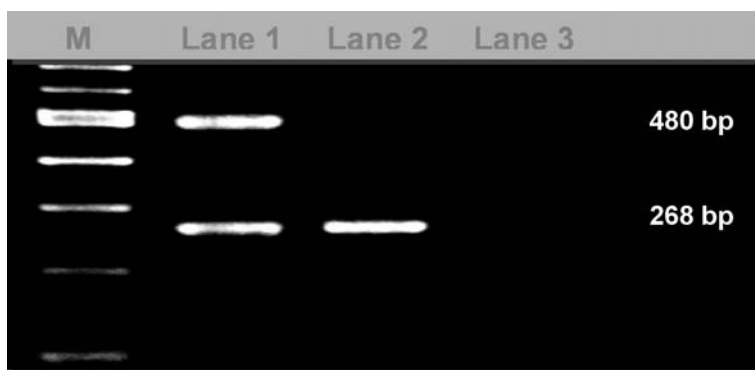


Figure 1 C-PCR assay of *GSTT1* detection. The normal genotype [lane 1: 268 bp (β -globin) + 480 bp (*GSTT1*)] and null genotype [lane 2: 268 bp (β -globin)] were examined on 2.5% agarose gel electrophoresis for the presence and absence of the *GSTT1* band. Lane 3: a negative control. M: a 100 bp size marker.

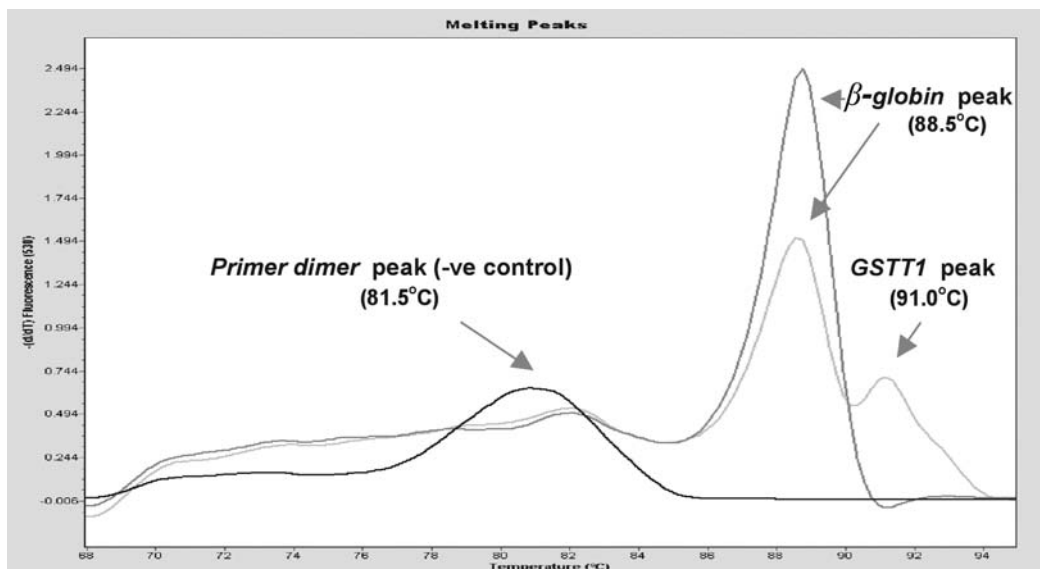


Figure 2 R-PCR assay with SYBR green I and melting curve analysis of *GSTT1*. One peak with a melting point of 88.5°C (*β-globin*) and the other with a melting point of 91.0°C (*GSTT1*) represent as the normal genotype, while only a single melting point peak at 88.5°C (*β-globin*) represents as the null genotype. The *GSTT1+* and *GSTT1-* are easily identified by the presence or absence of the peak at 91.0°C, respectively. The melting point peak of 81.5°C in the negative control arose from occurrence of the primer dimer.

Results

The distribution of the *GSTT1* genotypes, consumption time and the toxic chemical used in the R-PCR and C-PCR assays are shown in Table 1. With respect to the genotype frequencies, the results of *GSTT1* polymorphism detected in 200 cancer samples using R-PCR and C-PCR assays are in complete concordance. Frequencies of the *GSTT1+* and *GSTT1-* in each cancer are demonstrated in Table 1.

An excellent degree of agreement between the *GSTT1* status revealed by R-PCR

and C-PCR was observed ($\kappa = 1.0$, 95% CI = 1.0 to 1.0). All of 141 cases with *GSTT1+* in the R-PCR assay showed 2 peaks of melting point at 91.0°C and 88.5°C that correlated with the characteristics of 2 DNA bands of *GSTT1* [480 base pair (bp)] and *β-globin* (268 bp) found in the C-PCR assay. In addition, other 59 cases with *GSTT1-* in the R-PCR assay showed a single peak of melting point at 88.5°C that correlated with the characteristics of 1 DNA band of *β-globin* (268 bp) presented in the C-PCR assay (Figure 3).

Total time consumption (TC) for R-PCR assay was 60 minutes after DNA extraction,

whereas for C-PCR assay was about 360 minutes. C-PCR assay since ethidium bromide (EB), a carcinogen, was not used in the assay (Table 1). In addition, the R-PCR assay was safer than

Table 1 Frequencies of *GSTT1* genotypes in cancer patients by R-PCR and C-PCR assays

Assays	No. of samples	<i>GSTT1</i> genotypes ^a		κ (95%CI)	TC (Min.)	EB
		<i>GSTT1</i> +	<i>GSTT1</i> -			
R-PCR	200	141	59	1.0 (1.0-1.0)	60	no
- NPC	40	28	12			
- LUC	40	29	11			
- BRC	40	29	11			
- CLC	40	28	12			
- LIC	40	27	13			
C-PCR	200	141	59		360	yes
- NPC	40	28	12			
- LUC	40	29	11			
- BRC	40	29	11			
- CLC	40	28	12			
- LIC	40	27	13			

^a, The *GSTT1* genotypes are detected by R-PCR and C-PCR assays in the same individuals. κ , kappa; CI, confidence interval; TC, time consumption; Min, minute; EB, ethidium bromide used in the assay; NPC, nasopharyngeal carcinoma; LUC, lung cancer; BRC, breast cancer; CLC, colon cancer; LIC, liver cancer.

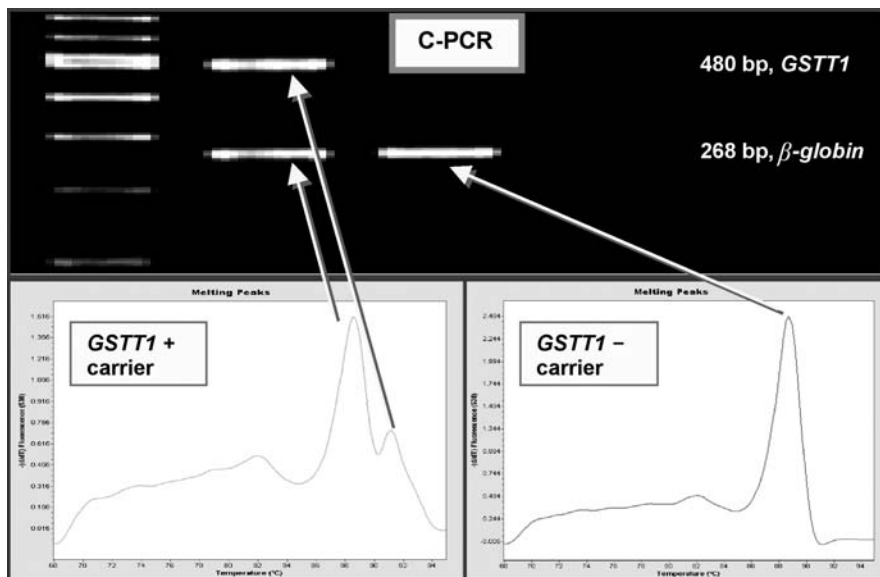


Figure 3 Concordance of R-PCR and C-PCR assay for detection of *GSTT1* in the cancer patients. *GSTT1*+ samples in the R-PCR assay that showed 2 peaks with melting points of 88.5°C and 91.0°C gave 2 corresponding DNA bands in the C-PCR assay, one for β -globin at 268 bp and the other for *GSTT1* at 480 bp. By contrast, *GSTT1*- samples that showed 1 peak with a melting point of 88.5°C in the R-PCR assay gave 1 corresponding DNA band for β -globin at 268 bp in the C-PCR assay.

Discussion

In the present study, we demonstrated a complete concordance between *GSTT1* genotypes detected by SYBR green I R-PCR assay and C-PCR assay. The R-PCR assay consumes less time, does not require toxic chemicals and is amenable highly throughout screening. In addition, the method is cheaper than a previous R-PCR method described by Ko et al.⁴².

We have shown that R-PCR is able to be used successfully for rapid, safe and high-throughout screening for *GSTT1*- individuals. This makes R-PCR feasible to carry out molecular mass screening for individuals at high risk for cancer and for individuals at early stages of cancer when there are no specific warning symptoms. This could allow for timely cancer detection at early curable stages as opposed to late incurable stages when most patients are currently diagnosed. The method would be particularly useful for mass screening of family members and relatives of cancer patients as well as people at aged over 30 with chronic diseases of other organs. In addition to early diagnosis of cancer, *GSTT1*- individuals without symptoms of cancer could be informed of the need to visit a physician at least twice a year for early stages diagnosis. Should any cancer lesions be detected in these visits, immediate effective treatment for such cancers could be initiated. These individuals could also be encouraged to alter their lifestyles to reduce cancer-related risk activities such as smoking. Since approximately 30% of Thai population are

GSTT1- (unpublished data), thus, such a program could have an important impact on the regulation of cancer development in Thailand.

Screening for early stage cancer patients in high-risk population without clinical symptoms followed by an early effective treatment is believed to be an effective strategy to fight against this harmful disease. Several genetic markers are suggested to be a useful tool for screening of cancers in the high-risk group^{6,34,35}. Thus, an application of genetic markers, particularly *GSTT1*- for a mass screening of cancer in the high-risk group, especially in the family members and relatives of cancer patients as well as people with other chronic diseases aged over 30 years old is urgently needed.

GSTT1 is recognized as an important detoxifying enzyme for smoke-derived carcinogens, e.g. polycyclic aromatic hydrocarbon (PAHs) and pesticides^{8,15}, which are risk factors of several cancers. The *GSTT1* encoding cytosolic GST class theta (θ) enzyme includes a deletion polymorphism that, in the homozygous state (*GSTT1*-), results in the total absence of a functional gene product. Several investigators have demonstrated high agreement between the *GSTT1*- and a lack of GST class θ function^{8,16}. The frequency of the *GSTT1*- varies among different ethnic groups and was reported to be 20-30% in African-Americans¹⁷, 50-60% in Asians¹⁸ and 10-20% in Caucasians¹⁹. It is believed that individuals with *GSTT1*- are more prone to develop NPC than those of the *GSTT1*+. Recently, *GSTT1*- is suggested to be a useful predictive marker for

warning of cancer development in the high-risk groups, those without any clinical symptoms (persons who will develop early stages of cancer). By this way, the *GSTT1*- carriers will be informed to visit physicians for early stage cancer detection and immediate effective treatment as well as to prevent themselves from the cancer-related risk factors. Since about 30% of Thai population (unpublished data) was *GSTT1*- carrier and almost of this population still exposed to PAHs and pesticides in their daily life, indicating that at least half of Thais are at risk to develop various kinds of cancers. Thus, *GSTT1*- may play a great impact for the regulation of cancer development in Thais. Hence, a mass screening of cancer in the high-risk persons (family member and relatives of cancer patients with age >30 years old and without symptoms) is reasonably and extremely urgent. To achieve this goal, a rapid, reliable, and safe molecular biological assay for detection of *GSTT1* polymorphism need to be established. We believe that *GSTT1*- is an interesting biomarker for detection of the cancer high-risk group and is a helpful tool for a quick early prevention and detection of cancer in Thais.

The C-PCR assay for *in vitro* amplification of DNA has been used successfully for detecting *GSTT1* polymorphism in the DNA sample from peripheral blood leukocyte of patients with several cancers⁹⁻¹¹. Although the C-PCR assay is a sensitive method, it is limited by the complexity, time consumption and safety. Recently, the R-PCR assay based on the detection and quantitation of a fluorescent

reporter has been shown as an advance method to solve the limitation of C-PCR. Three major fluorescence-monitoring systems for DNA amplification including the hydrolysis probes, the hybridising probes and DNA-binding agents are well established. Among these, the cheapest system is the double-stranded DNA binding dye chemistry, which detects the amplicon production by the use of a non-sequence specific fluorescent intercalating agent e.g., SYBR green I. SYBR green I is a fluorogenic minor groove binding dye that exhibits little fluorescence when suspended in solution but emits a strong fluorescent signal (1,000-fold greater fluorescence) upon binding to double-stranded DNA²⁰. Actually, SYBR green I was used in singleplex reactions, but when coupled with melting point analysis, it can be used for multiplex reactions. However, SYBR green-based R-PCR has some disadvantages including the requirement for extensive optimisation and the non-specific amplifications that required follow-up assay (melting point or dissociation curve analysis) for amplicon identification.

In this study, we found a considerable concordance between *GSTT1* genotypes ($\kappa = 1.00$) as detected by R-PCR and C-PCR assay, indicating similar sensitivity and specificity. However, R-PCR assay consumed lesser time and does not require toxic chemicals. This implied that our R-PCR assay has more advantages in terms of time consumption and safety as compared to the C-PCR assay. In addition, this new established R-PCR assay is cheaper than the previous one that

established by Ko et al. In conclusion, we suggest that R-PCR assay based on SYBR green I fluorescence and melting curve analysis may be a useful screening tool for more convenient, rapid, reliable and safer detection of *GSTT1* polymorphism in cancer patients in Thailand. Nevertheless, the validation of the results obtained from the present study using a large scale is needed. Future studies on the association of *GSTT1* polymorphism with cancer of nasopharynx, lung, breast, colon and liver in Thai patients is underway.

Acknowledgement

This study was supported by grants from the Thai National Cancer Institute.

References

1. Public Health Statistics A.D.2006, Ministry of Public Health of Thailand, p. 77.
2. zur Hausen H. Papillomaviruses and cancer: from basic studies to clinical application. *Nat Rev Cancer* 2002; 2: 342-50.
3. International Agency for Research on Cancer. Epstein-Barr virus and Kaposi's sarcoma herpesvirus/human herpesvirus 8. IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, Vol. 70. Lyon, France: WHO, 1997.
4. Matysiak-Budnik T, Megraud F. *Helicobacter pylori* infection and gastric cancer. *Eur J Cancer* 2006; 42: 708-16.
5. Banchob Sripa. Concerted Action Is Needed to Tackle Liver Fluke Infections in Asia. *PLoS Negl Trop Dis* 2008; 2: e232.
6. Wogan GN, Hecht SS, Felton JS, Conney AH, Loeb LA. Environmental and chemical carcinogenesis. *Semin Cancer Biol* 2004; 14: 473-86.
7. Thier R, Brning T, Roos PH, Rihs HP, Golka K, Ko Y, Bolt HM. Markers of genetic susceptibility in human environmental hygiene and toxicology: the role of selected CYP, NAT and GST genes. *Int J Hyg Environ Health* 2003; 206: 149-71.
8. Olshan A, Weissler M, Watson M, Bell D. GSTM1, GSTT1, GSTP1, CYP1A1, and NAT1 polymorphisms, tobacco use, and the risk of head and neck cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2000; 9: 185-91.
9. Sato M, Sato T, Izumo T, Amagasa T. Genetic polymorphism of drug-metabolizing enzymes and susceptibility to oral cancer. *Carcinogenesis* 1999; 20: 1927-31.
10. Tune CE, Liavaag PG, Freeman JL, van den Brekel MW, Shpitzer T, Kerrebijn JD, et al. Nasopharyngeal brush biopsies and detection of nasopharyngeal cancer in a high-risk population. *J Natl Cancer Inst* 1999; 91: 796-800.
11. Tiwawech D, Srivatanakul P, Karaluk A, Ishida T. Significance of plasma IgA and IgG antibodies to Epstein-Barr virus early and viral capsid antigens in Thai nasopharyngeal carcinoma. *Asian Pacific J Cancer Prev* 2003; 4: 113-8.
12. Mutirangura A. Serum/plasma viral DNA: mechanisms and diagnostic applications to nasopharyngeal and cervical carcinoma. *Ann N Y Acad Sci* 2001; 945: 59-67.
13. Tiwawech D, Srivatanakul, Kalalak A, Ishida T. Glutathione S-transferase M1 gene polymorphism in Thai nasopharyngeal carcinoma. *Asian Pacific J Cancer Prev* 2005; 6: 270-5.
14. Coggan M, Whitbread L, Whittington A, Board P. Structure and organization of the human theta-class glutathione S-transferase and D-dopachrome tautomerase gene complex. *Biochem J* 1998; 334: 617-23.
15. Tan KL, Webb GC, Baker RT, Board PG et al. Molecular cloning of a cDNA and chromosomal localization of a human theta-class glutathione S-transferase gene (GSTT2) to chromosome 22. *Genomics* 1995; 25: 381-7.
16. Webb G, Vaska V, Coggan M, Board P. Chromosomal localization of the gene for the human theta class glutathione transferase (GSTT1). *Genomics* 1996; 33: 121-3.
17. Juronen E, Tasa G, Uuskula M, Pooga M, Mikelsaar AV, et al. Purification, characterization and tissue distribution

- of human class theta glutathione S-transferase T1-1. *Biochem Mol Biol Int* 1996; 39: 21-9.
18. Juronen E, Tasa G, Uuskula M, Pooga M and Mikelsaar AV. Production and characterization of monoclonal antibodies against class theta glutathione S-transferase T1-1. *Hybridoma* 1996; 15: 77-82.
 19. Juronen E, Tasa G, Uuskula M, Pooga M and Mikelsaar AV. Purification, characterization and tissue distribution of human class theta glutathione S-transferase T1-1. *Biochem. Mol. Biol Int* 1996; 39: 21-9.
 20. Lin D, Meyer DJ, Ketterer B, Lang NP and Kadlubar FF. Effects of human and rat glutathione S-transferases on the covalent DNA binding of the N-acetoxy derivatives of heterocyclic amine carcinogens in vitro: a possible mechanism of organ specificity in their carcinogenesis. *Cancer Res* 1994; 54: 4920-6.
 21. Pemble S, Schroeder KR, Spencer RS, Meyer DJ, Hallier E, Bolt HM, Ketterer B and Taylor JB. Human glutathione S-transferase theta (GSTT1): cDNA cloning and the characterization of a genetic polymorphism. *Biochem J* 1994; 300: 271-6.
 22. Sprenger R, Schlagenhauer R, Kerb R, Characterization of the glutathione-S-transferase GSTT1 deletion : discrimination of all genotypes by polymerase chain reaction indicates a trimodular genotype-phenotype correlation. *Pharmacogenetics* 2000; 10: 557-65.
 23. Landi S. Mammalian class theta GST and differential susceptibility to carcinogens: a review. *Mutat Res* 2000; 463: 247-83.
 24. Wiencke JK, Pemble S, Ketterer B, Kelsey KT Gene deletion of glutathione S-transferase q: correlation with induced genetic damage and potential role in endogenous mutagenesis. *Cancer Epidemiol Biomark Prev* 1995; 4: 253-9.
 25. Yong LC, Schulte PA, Wiencke JK, Boeniger MF, Connally LB, Walker JT, et al. Hemoglobin adducts and sister chromatid exchanges in hospital workers exposed to ethylene oxide: effects of glutathione S-transferase T1 and M1 genotypes . *Cancer Epidemiol Biomark Prev* 2001; 10: 539-50.
 26. Rollinson S, Roddam P, Kane E, Roman E, Cartwright R, Jack A and Morgan GJ. Polymorphic variation within the glutathione S-transferase genes and risk of adult acute leukaemia. *Carcinogenesis* 2000; 21: 43-7.
 27. Oude Ouphis MB, van Lieshout EM, Roelofs HM, Peters WH and Manni JJ. Glutathione S-transferase M1 and T1 and cytochrome P4501A1 polymorphisms in relation to the risk for benign and malignant head and neck lesions. *Cancer* 1998; 82: 936-43.
 28. Jourenkova-Mironova N, Voho A, Bouchardy C, Wikman H, Dayer P, Benhamou S and Hirvonen A. Glutathione S-transferase GSTM1, GSTM3, GSTP1 and *GSTT1* genotypes and the risk of smoking-related oral and pharyngeal cancers. *Int J Cancer* 1999; 81: 44-8.
 29. Jourenkova-Mironova N, Voho A, Bouchardy C, Wikman H, Dayer P, Benhamou S and Hirvonen A. Glutathione S-transferase GSTM3 and GSTP1 genotypes and larynx cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1999; 8: 185-8.
 30. Abdel-Rahman SZ, Anwar WA, Abdel-Aal WE, Mostafa HM and Au WW. GSTM1 and GSTT1 genes are potential risk modifiers for bladder cancer. *Cancer Detect* 1998 ; 22: 129-38.
 31. Zhang H, Ahmadi A, Arbman G, Zdolsek J, Carstensen J, Nordenskjold B, Soderkvist P and Sun XF. Glutathione S-transferase T1 and M1 genotypes in normal mucosa, transitional mucosa and colorectal adenocarcinoma. *Int J Cancer* 1999; 84: 135-8.
 32. Elexpuru-Camiruaga J, Buxton N, Kandula V, Dias PS, Campbell D, McIntosh J, et al. Susceptibility to astrocytoma and meningioma: influence of allelism at glutathione S-transferase (GSTT1 and GSTM1) and cytochrome P-450 (CYP2D6) loci. *Cancer Res* 1995; 55: 4237-9.
 33. Hand PA, Inskip A, Gilford J, Alldersea J, Elexpuru-Camiruaga J, Hayes JD, et al. Allelism at the glutathione S-transferase GSTM3 locus: interactions with GSTM1 and GSTT1 as risk factors for astrocytoma. *Carcinogenesis* 1996; 17: 1919-2222.
 34. Kelsey KT, Wrensch M, Zuo ZF, Miike R and Wiencke JK. A population-based case-control study of the CYP2D6 and GSTT1 polymorphisms and malignant brain tumors. *Pharmacogenetics* 1997; 7: 463-8.
 35. Heagerty A, Smith A, English J, Lear J, Perkins W,

- Bowers B, et al. Susceptibility to multiple cutaneous basal cell carcinomas: significant interactions between glutathione S-transferase GSTM1 genotypes, skin type and male gender. *Br J Cancer* 1996; 73: 44-8.
36. Setiawan VW, Zhang ZF, Yu GP, Li YL, Lu ML, Tsai CJ, et al. GSTT1 and GSTM1 null genotypes and the risk of gastric cancer: a case-control study in a Chinese population. *Cancer Epidemiol Biomark Prev* 2000; 9: 73-80 .
37. Cai L, Yu SZ, Zhang ZF. Glutathione S-transferases M1, T1 genotypes and the risk of gastric cancer: a case-control study. *World J Gastroenterol* 2001; 7: 506-9 .
38. Tamer L, Ates NA, Ates C, Ercan B, Elipek T, Yildirim H, et al. Glutathione S-transferase M1, T1 and P1 genetic polymorphisms, cigarette smoking and gastric cancer risk. *Cell Biochem Funct* 2005; 23: 267-72 .
39. Raimondi S, Paracchini V, Autrup H, Barros-Dios JM, Benhamou S, Boffetta P, et al. Meta- and pooled analysis of GSTT1 and lung cancer: a HuGE-GSEC review. *Am J Epidemiol* 2007; 165: 1462-3.
40. Nelson HH, Wiencke JK, Christiani DC, et al. Ethnic differences in the prevalence of the homozygous deleted genotype of glutathione S-transferase theta. *Carcinogenesis* 1995; 16: 1243-5.
41. Abdel-Rahman SZ, el-Zein RA, Anwar WA, Au WW. A multiplex PCR procedure for polymorphic analysis of GSTM1 and GSTT1 genes in population studies. *Cancer Lett* 1996; 107: 229-33.
42. Ko Y, Koch B, Harth V, Sachinidis A, Their R, Vetter H, et al. Rapid analysis of GSTM1, GSTT1 and GSTP1 polymorphisms using real-time polymerase chain reaction. *Pharmacogenetics* 2000; 10: 271-4.
43. Quick Cales online calculators for scientists. Available at : <http://graphpad.com/quickcalcs/kappa1.cfm>. Accessed November 15, 2008.



ความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายของยีน *GSTO1* กับลักษณะทางพยาธิคลินิกในผู้ป่วยมะเร็ง เต้านม

วิชัย ปรุริสา*

สุนันทา จรียาเลิศศักดิ์*

ศุสิทธิ์ แสงกระจ่าง**

บทคัดย่อ จากการศึกษาที่ผ่านมา มีเพียงสองรายงานที่ศึกษาเกี่ยวกับความหลากหลายของยีน *GSTO1* กับ การเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งเต้านม แต่ยังไม่มียางานที่ศึกษาถึงความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายของ ยีน *GSTO1* กับผลทางพยาธิคลินิกของผู้ป่วยมะเร็งเต้านม ในการวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความ สัมพันธ์ดังกล่าวโดยการสกัดดีเอ็นเอจากเม็ดเลือดขาวของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมที่มารับการตรวจวินิจฉัยและ รักษาที่สถาบันมะเร็งแห่งชาติจำนวน 101 ราย แล้วนำดีเอ็นเอมาตรวจหาความหลากหลายของยีน *GSTO1* ด้วยวิธี polymerase chain reaction-restriction-fragment length polymorphism (PCR-RFLP) จาก ผลการศึกษาพบยีน *GSTO1* ชนิด wild-type (A140/A140) สูงในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมระยะรุนแรง ($P=0.008$) เนื่องจากมีการศึกษาพบว่าเอ็นไซม์ *GSTO1* เกี่ยวข้องกับกลไกของยา ดังนั้นสิ่งที่น่าจะศึกษาต่อคือ วิเคราะห์ดูว่าผู้ป่วยมะเร็งเต้านมที่มียีน *GSTO1* ชนิด wild-type โดยเฉพาะผู้ป่วยที่มีระยะโรครุนแรงจะติด ต่อการรักษาด้วยรังสีหรือยาเคมีหรือไม่ เพื่อประโยชน์ในการวางแผนการรักษาผู้ป่วยเหล่านี้ให้ดียิ่งขึ้น (วารสารโรคมะเร็ง 2551; 28: 184-189.)

Abstract Association Between *GSTO1* Polymorphism and Clinicopathological Features of Patients with Breast Cancer

by Wichai Purisa*, Sunanta Chariyalertsak*, Suleeporn Sangrajrang**

*Genetics, **Molecular Epidemiology Sections, Research Division, National Cancer Institute, Bangkok 10400, Thailand.

To our knowledge, only two reports concerning association between *GSTO1* polymorphism and breast cancer risk have been revealed, but no association between *GSTO1* polymorphism and clinicopathological features of patients with breast cancer have previously been reported. Therefore, in this study, the association of *GSTO1* genotypes with a number of clinical parameters was investigated in 101 patients with breast cancer diagnosed and

* งานพันธุศาสตร์, ** งานระบาดวิทยาโมเลกุล, กลุ่มงานวิจัย สถาบันมะเร็งแห่งชาติ กรุงเทพฯ 10400

treated at the National Cancer Institute. DNA extracted from buffy coats of the cases was used to determine the genotypes by polymerase chain reaction-restriction-fragment length polymorphism. Our findings revealed that wild-type GSTO1 gene (A140/A140) significantly correlated with advanced-stage breast cancer ($P=0.008$). From the literature, GSTO1 appears to be involved in drug and xenobiotic metabolism, it would be of great interest to investigate further whether resistance to radiation or chemotherapy occurs in carriers of wild-type GSTO1 gene, particularly those with advanced-stage breast cancer. Elucidating this relationship should lead to the improved clinical management of these patients. (Thai Cancer J 2008; 28: 184-189.)

บทนำ

จากข้อมูลสถิติโรคมะเร็งของประเทศไทยในปี พ.ศ. 2542 พบอัตราการเกิดมะเร็งเต้านมในสตรีสูงเป็นอันดับสองรองจากมะเร็งปากมดลูก โดยมีผู้ป่วยใหม่จำนวน 5854 ราย และมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องโดยพบมากที่สุดในกรุงเทพมหานคร ซึ่งพบผู้ป่วยมะเร็งรายใหม่ 2430 ราย คิดเป็นร้อยละ 42 ของจำนวนผู้ป่วยมะเร็งเต้านมรายใหม่ พบในประเทศไทย¹ สาเหตุของการเกิดมะเร็งเต้านมยังไม่ทราบแน่ชัดแม้ว่าจะมีการพบปัจจัยเสี่ยงหลายชนิดที่ส่งผลต่อการเกิดมะเร็งเต้านม เช่น การมีระดับฮอร์โมนเอสโตรเจนสูง การรับประทานอาหารที่มีโปรตีนและไขมันสูง การมีประวัติครอบครัวเป็นมะเร็งเป็นต้น² นอกจากนี้ปัจจัยจากสิ่งแวดล้อมแล้ว พบว่าปัจจัยจากสารพันธุกรรมก็มีบทบาทสำคัญร่วมในการก่อให้เกิดมะเร็งเต้านม³

Glutathione S-transferase (GSTs) เป็นเอนไซม์อยู่ใน phase II ช่วยในการทำลายพิษ (detoxification) เพื่อป้องกันเซลล์จากสารก่อมะเร็งจากสิ่งแวดล้อม ปัจจุบันพบ GSTs ในมนุษย์ 8 กลุ่มด้วยกันคือ กลุ่ม Alpha, Mu, Pi, Theta, Zeta, Sigma และ Omega อยู่ใน cytoplasm ของเซลล์^{4,5} และกลุ่ม Kappa อยู่ใน mitochondria⁶ และ peroxisomes⁷ สำหรับ GSTO เป็นเอนไซม์ที่ช่วยเร่งการทำงานของเอนไซม์ glutathione-dependent thiol transferase และ dehydroascorbate reductase นอกจากนั้นยังทำหน้าที่

ลดการเกิด monomethylarsenic acid ซึ่งเป็นการเปลี่ยนแปลง (biotransformation) ของ inorganic arsenic ที่เป็นสารก่อมะเร็ง⁸ เมื่อเร็วๆ นี้มีรายงานพบเอนไซม์ GSTO1 ใน lymphoma cell line ของหนู mouse ที่ดื้อต่อรังสีและยาเคมีบำบัด⁹

จากการศึกษาที่ผ่านมายังไม่มียารายงานเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายของยีน GSTO1 กับผลทางพยาธิคลินิกของผู้ป่วยมะเร็งเต้านม การวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ที่จะศึกษาความสัมพันธ์ดังกล่าวเพื่อประโยชน์ในการวางแผนการรักษาผู้ป่วยมะเร็งเต้านมต่อไปในอนาคต

วัตถุประสงค์และวิธีการ

ผู้ป่วย

ผู้ป่วยมะเร็งเต้านมที่ได้รับการตรวจวินิจฉัยและรักษาที่สถาบันมะเร็งแห่งชาติ จำนวน 101 ราย ผู้ป่วยทุกรายได้ให้ความยินยอมในการเข้าร่วมการศึกษารั้งนี้ ซึ่งการแบ่งระยะของโรค (clinical stage) ในผู้ป่วยได้ดำเนินการโดยใช้ American Joint Committee on Cancer TNM staging system

การสกัดดีเอ็นเอ

เก็บตัวอย่างเลือดจากผู้ป่วยรายละ ประมาณ 7 มล. แยกดีเอ็นเอออกจาก buffy coat โดยใช้ QIA amp DNA extract kit (Qiagen, Hilden,

Germany) ตามวิธีการที่แนบมากับชุดน้ำยา หาปริมาณ ดีเอ็นเอที่ได้โดยใช้เครื่อง spectrophotometer แล้วนำ ดีเอ็นเอไปเก็บที่ตู้อุณหภูมิต่ำ -80 °ซ

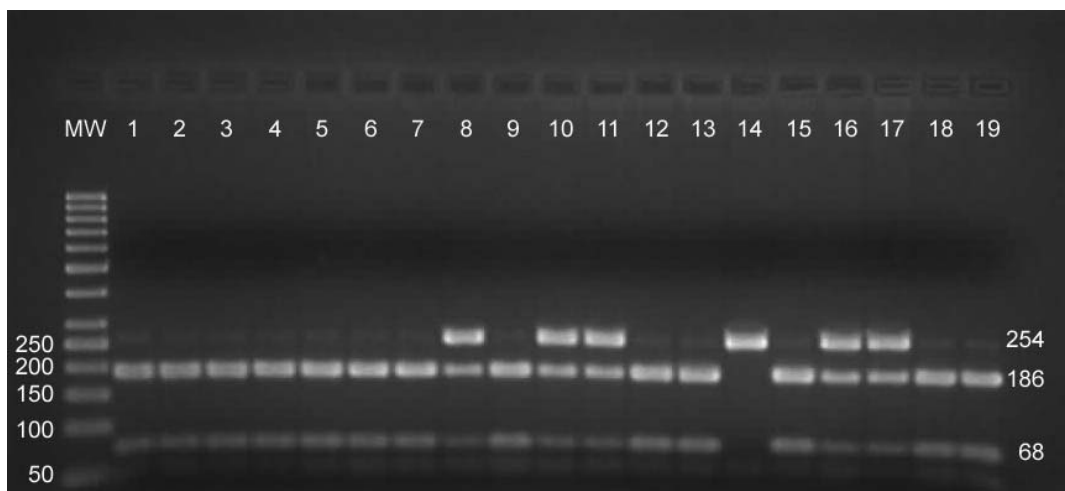
การตรวจหาความหลากหลายของยีน *GSTO1** **A140D**

ความหลากหลายของยีน *GSTO1* เกิดจากเบส C เปลี่ยนไปเป็น A ที่ตำแหน่งใน exon 4 สามารถตรวจหาได้ด้วยวิธี PCR-RFLP โดยการขยายยีนด้วยไพรเมอร์ดังนี้ 5' GAA CTT GAT GCA CCC TTG GT 3' และ 5' TGA TAG CTA GGA GAA ATA ATT AC 3' ปริมาตรสุดท้ายที่จะนำไปขยายยีนคือ 50 μ l ประกอบด้วย DNA 100 ng, 10mM Tris-Cl pH 9.0, 50mM KCl, 4 mM MgCl₂, 200 μ M ของแต่ละ dNTP, 1 μ M ของแต่ละไพรเมอร์, และ 2 U ของ Taq DNA polymerase การขยายยีนจะเริ่มต้นด้วยอุณหภูมิ 94 °ซ 5 นาที และตามด้วยขั้นตอนต่างๆ ในแต่ละรอบ (cycle) ประกอบด้วย denaturation ที่ 94 °ซ 1 นาที annealing ที่อุณหภูมิ

60 °ซ 1 นาที และ extension ที่ 72 °ซ 1 นาทีจำนวนทั้งหมดรวม 40 รอบ และขั้นตอนสุดท้ายคือ final extension ที่ 72 °ซ อีก 5 นาที นำ PCR product ที่ได้มา digest ด้วยเอนไซม์ *Cac8I* ที่อุณหภูมิ 37 °ซ นาน 18 ชั่วโมง จากนั้นนำมา run ใน 2% agarose gel ดูแถบของ product ที่ถูกตัดโดยย้อมด้วย ethidium bromide จะพบลักษณะต่างกันอยู่ 3 แบบ คือ C/C wild type homozygote จะเห็นแถบ 2 ท่อน ขนาด 186 และ 68 bp A/A homozygote พบมีท่อนเดียว ขนาด 254 bp และ C/A heterozygote มี 3 ท่อน ขนาด 254, 186 และ 68 bp (รูปที่ 1)

การวิเคราะห์ทางสถิติ

ใช้ chi-square ทดสอบความสมดุลในการกระจายความถี่ของ *GSTO1* genotype ในผู้ป่วยที่นำมาศึกษาเห็นว่ามีความสอดคล้องกับหลักของ Hardy-Weinberg หรือไม่ และเปรียบเทียบความหลากหลายของยีน *GSTO1* กับผลทางพยาธิคลินิกของผู้ป่วย



รูปที่ 1 2% agarose gel ที่ย้อมด้วย ethidium bromide แถวแรกเป็น 50 bp marker; แถวหมายเลข 1-7, 9, 12, 13, 15, 18 และ 19 เป็น *GSTO1* แบบ C/C wild-type homozygote; แถวหมายเลข 14 เป็น *GSTO1* แบบ A/A homozygote; แถวที่เหลือเป็น C/A heterozygote

ได้แก่ อายุของผู้ป่วยขณะวินิจฉัย สภาวะการมีประจำเดือน ขนาดของก้อนมะเร็ง การลุกลามของเซลล์มะเร็งไปยังต่อมน้ำเหลือง ระยะของโรค และผลการตรวจเอสโตรเจน รีเซพเตอร์ (ER) ซึ่งตรวจโดยวิธี immunohistochemistry

ผลการศึกษา

ความถี่ของความหลากหลายของยีน GSTO1 ในผู้ป่วยที่นำมาศึกษาครั้งนี้ พบว่าเป็น A140 allele 0.89 และ D140 allele 0.11 ซึ่งมีความ

สอดคล้องกับ Hardy-Weinberg equilibrium เมื่อเปรียบเทียบผลของความหลากหลายของยีน GSTO1 กับผลทางพยาธิคลินิกของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมจำนวน 101 ราย พบว่าผู้ป่วยที่มีระยะของโรครุนแรงคือระยะ III + ระยะ IV มียีน GSTO1 ชนิด wild-type (A140/A140) สูงกว่า ระยะ I + ระยะ II อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P=0.008$) แต่ไม่พบความสัมพันธ์กับอายุของผู้ป่วยขณะวินิจฉัย สภาวะการมีประจำเดือน ขนาดก้อนมะเร็ง การกระจายของเซลล์มะเร็งไปยังต่อมน้ำเหลือง และผลการตรวจเอสโตรเจนรีเซพเตอร์ (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายของยีน GSTO1 กับผลทางพยาธิคลินิกของผู้ป่วยมะเร็งเต้านม

ผลพยาธิคลินิก	A140/A140	A140/D140+D140/D140	P
อายุ (ปี)			
<40	12(66.7)	6(33.3)	0.348
40-60	58(81.7)	13(18.3)	
>60	10(83.3)	2(16.7)	
สภาวะการหมดประจำเดือน			
ก่อน	41(78.8)	11(21.2)	0.926
หลัง	39(79.6)	10(20.4)	
ขนาดก้อนมะเร็ง (ซม.)			
<2	25(73.5)	9(26.5)	0.316
≥2	55(82.1)	12(17.9)	
การลุกลามของเซลล์มะเร็งไปต่อมน้ำเหลือง			
Negative	34(85)	6(15)	0.245
Positive	46(75.4)	15(24.6)	
ระยะของโรค			
I + II	53(72.6)	20(27.4)	0.008
III + IV	27(96.4)	1(3.6)	
ER			
Positive	36(80)	9(20)	0.906
Negative	30(78.9)	8(21.1)	

วิจารณ์

การกระจายความถี่ของความหลากหลายของยีน *GSTO1* มีความแตกต่างกันตามเชื้อชาติ ความถี่ของยีน *GSTO1* ชนิด variant (D140 allele) พบมากในประชากรยุโรปในออสเตรเลีย คือพบ 0.34 และพบน้อยในชาวจีน (0.17) ชาวบราซิล (0.16) ชาวแมกซิกกัน (0.12) ชาวญี่ปุ่น (0.12) และชาวอัฟริกัน (0.08)¹⁰⁻¹⁴ สำหรับในการศึกษานี้พบความถี่ของ *GSTO1* ชนิด variant 0.11 ซึ่งใกล้เคียงกับที่พบในประชากรชาวเอเชีย

เนื่องจากยีน *GSTO* เป็นยีน *GST* กลุ่มใหม่ที่พบในมนุษย์เมื่อเร็วๆ นี้^{5,15} จึงมีรายงานเกี่ยวกับยีน *GSTO* น้อยมาก รายงานที่ผ่านมามีการศึกษาความหลากหลายของยีน *GSTO1* กับการเกิดมะเร็งต่อมไทรอยด์ พบว่า *GSTO1* ชนิด variant ไม่เกี่ยวข้องกับการเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งต่อมไทรอยด์ และไม่มีความสัมพันธ์กับผลทางพยาธิคลินิกของผู้ป่วยด้วย¹³ และมีเพียงสองรายงานที่ศึกษาเกี่ยวกับความหลากหลายของยีน *GSTO1* กับการเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งเต้านม^{11,16} แต่ยังไม่มียางานที่ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายของยีน *GSTO1* กับลักษณะทางพยาธิคลินิกของผู้ป่วยมะเร็งเต้านม ในการศึกษาครั้งนี้คณะผู้วิจัยได้วิเคราะห์หาความสัมพันธ์ดังกล่าว และพบว่ายีน *GSTO1* ชนิด wild-type (A140/A140) พบมากในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมที่มีระยะของโรครุนแรง เมื่อเร็วๆ นี้มีรายงานพบว่าอาจใช้เอ็นไซม์ *GSTO1* เป็นตัวบ่งชี้การตอบสนองยาเคมีในเซลล์มะเร็งได้⁹ ดังนั้นจึงเป็นเรื่องน่าสนใจที่จะศึกษาต่อเพื่อดูว่าผู้ป่วยมะเร็งเต้านมที่มีระยะของโรครุนแรงและตรวจพบ *GSTO1* ชนิด wild-type จะตอบสนองยาเคมีหรือไม่เพื่อประโยชน์ต่อการวางแผนการรักษาผู้ป่วยมะเร็งเต้านมในอนาคต

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสมาคมโรคมะเร็งแห่งประเทศไทยในพระบรมราชูปถัมภ์ที่ให้ทุนสนับสนุนงานวิจัยนี้จากกองทุนเทอริฟอกซ์

เอกสารอ้างอิง

1. Kuhuaprema T, Srivatanakul P, Sriplung H, Wiangnon S, Sumitsawan Y, Attasara P, editors. Cancer in Thailand. Vol IV, 1998-2000. Bangkok; 2007.
2. Dumitrescu RG, Cotarla I. Understanding breast cancer risk – where do we stand in 2005? *J Cell Mol Med* 2005; 9: 208-21.
3. Rothman N, Wacholder S, Caporaso NE, Garcia-Closas M, Buetow K, Fraumeni Jr JF. The use of common genetic polymorphisms to enhance the epidemiologic study of environmental carcinogens. *Biochim Biophys Acta* 2001; 1471: C1-10.
4. Hayes JD, McLellan LI. Glutathione and glutathione-dependent enzymes represent a co-ordinately regulated defence against oxidative stress. *Free Radical Res* 1999; 31: 273-300.
5. Board PG, Goggan M, Chelvanayagam G, Eastale S, Jermiin LS, Schulte GK, et al. Identification, characterization and crystal structure of Omega class glutathione transferase. *J Biol Chem* 2000; 275: 24798-806.
6. Ladner JE, Parsons JF, Rife CL, Gilliland GL, Armstrong RN. Parallel evolutionary pathways for glutathione transferases: structure and mechanism of the mitochondrial class kappa enzyme rGSTK1-1. *Biochemistry* 2004; 43: 352-61.
7. Morel F, Rauch C, Petit E, Piton A, Theret N, Coles B, Guillouzo A. Gene and protein characterization of the human glutathione S-transferase kappa and evidence for a peroxisomal localization. *J Biol Chem* 2004; 279: 16246-53.
8. Zakharyan RA, Sampayo-Reyes A, Healy SM, Tsapralis G, Board PG, Liebler DC, et al. Human monomethylarsonic acid (MMA(V)) reductase is

- a member of the glutathione S-transferase superfamily. *Chem Res Toxicol* 2001; 14: 1051-7.
9. Giri U, Terry NHA, Kala SV, Lieberman MW, Story MD. Elimination of the differential chemoresistance between the murine B-cell lymphoma LY-ar and LY-as cell lines after arsenic (As_2O_3) exposure via the overexpression of *gsto1* (p28). *Cancer Chemother Pharmacol* 2005; 55: 511-21.
 10. Whitbread AK, Tetlow N, Eyre HJ, Sutherland GR, Board PG. Characterization of the human Omega class glutathione transferase genes and associated polymorphisms. *Pharmacogenetics* 2003; 13: 131-44.
 11. Marahatta SB, Punyarit P, Bhudisawasdi V, Paupairoj A, Wongkham S, Petmitr S. Polymorphism of glutathione S-transferase Omega gene and risk of cancer. *Cancer Letts* 2006; 236: 276-81.
 12. Hirakawa M, Tanaka T, Hashimoto Y, Kuroda M, Takagi T, Nakamura Y. JSNP: a database of common gene variations in the Japanese population. *Nucleic Acids Res* 2002; 30: 158-62.
 13. Granja F, Morari J, Morari EC, Correa LA, Assumpco LV, Ward LS. GST profiling may be useful in the screening for thyroid nodule malignancy. *Cancer Letts* 2004; 209: 129-37.
 14. Cerda-Flores RM, Budowle B, Jin L, Barton SA, Deka R, Chakraborty R. Maximum likelihood estimates of admixture in Northeastern Mexico using 13 short tandem repeat loci. *Am J Human Biol* 2002; 14: 429-39.
 15. Yin ZL, Dahlstrom JE, Le Couteur DG, Board PG. Immunohistochemistry of omega class glutathione S-transferase in human tissues. *J Histochem Cytochem* 2001; 49: 983-7.
 16. Oslen A, Autrup H, Sorensen M, Overvad K, Tjonneland A. Polymorphisms of glutathione S-transferase A1 and O1 and breast cancer among postmenopausal Danish women. *Eur J Cancer Prev* 2008; 17: 225-9.



ความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายของยีน *GSTO2* กับการอยู่รอดของผู้ป่วยมะเร็งลำไส้ใหญ่ และไส้ตรง

สุนันทา จรียาเลิศศักดิ์*

วิชัย ปุริสา*

นารีรัตน์ เพ็ชรพิรุณ**

ธเนศ พงศ์ธีรรัตน์**

บทคัดย่อ รายงานการศึกษาเกี่ยวกับความหลากหลายของยีน *GSTO2* ยังมีน้อยมาก ในการศึกษาที่มีวัตถุประสงค์เพื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายของยีน *GSTO2* กับการอยู่รอดของผู้ป่วยมะเร็งลำไส้ใหญ่และไส้ตรงโดยการสกัดดีเอ็นเอจากชิ้นเนื้อมะเร็งที่ฝังพาราฟินจากผู้ป่วยจำนวน 26 ราย ที่มีผลการติดตามการรักษาอย่างต่อเนื่อง นำดีเอ็นเอมาตรวจหาความหลากหลายของยีน *GSTO2* ด้วยวิธี polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) ผลการศึกษาพบว่าผู้ป่วยที่มียีน *GSTO2* ชนิด wild-type (N142/N142) มีอัตราการตายสูงเมื่อเทียบกับกลุ่มที่มี *GSTO2* ชนิด variant โดยมีค่า adjusted hazard ratio, 14.02, $P = 0.08$ และความหลากหลายของยีน *GSTO2* ไม่มีความสัมพันธ์กับระยะเวลาการอยู่รอดของผู้ป่วย ($P = 0.142$) การศึกษานี้เป็นเพียงรายงานเบื้องต้นซึ่งมีผู้ป่วยจำนวนน้อย จึงจำเป็นต้องมีการศึกษาต่อโดยเพิ่มกลุ่มตัวอย่างให้มากขึ้นเพื่อเพิ่มกำลังทางสถิติที่ใช้วิเคราะห์ให้ได้ผลชัดเจนขึ้น (วารสารโรคมะเร็ง 2551; 28: 190-196.)

Abstract Association of *GSTO2* Polymorphism and Survival for Colorectal Cancer

by Sunanta Chariyalertsak*, Wichai Purisa*, Nareerat Petpiroon**,
Tanett Pongtheerat **

* Genetics Section, Research Division, National Cancer Institute, Bangkok, 10400,

** Department of Medical Science, Faculty of Science, Rangsit University, Pathumthanee, 12000
Thailand

Since reports on *GSTO2* polymorphism are still limited, therefore, this study was conducted to investigate an association of genetic polymorphism of *GSTO2* and survival for colorectal cancer. Formalin-fixed, paraffin-embedded colorectal cancerous tissues from 26 patients who were continuously followed-up, were used to extract DNA and the gene

* งานพันธุศาสตร์ กลุ่มงานวิจัย สถาบันมะเร็งแห่งชาติ กรุงเทพฯ

** ภาควิชาวิทยาศาสตร์การแพทย์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยรังสิต ปทุมธานี

polymorphism was detected by polymerase chain reaction–restriction fragment length polymorphism. Our findings revealed that the patients carried wild-type GSTO2 gene (N142/N142) had poorer survival rate, when compared with those carried variant GSTO2 gene (adjusted hazard ratio, 14.02, $P = 0.08$). No association of GSTO2 genotypes with overall survival was noted ($P = 0.142$). However, this study is only a preliminary report of which the number of cases is small. Further study in a larger population is required to achieve high statistical power and consequently clarify this finding. (*Thai Cancer J 2008; 28: 190–196.*)

บทนำ

มะเร็งลำไส้ใหญ่และไส้ตรงเป็นโรคที่พบบ่อยในประเทศไทยโดยพบมากเป็นอันดับสามในผู้ชายและอันดับห้าในผู้หญิง อุบัติการณ์เกิดสูงสุดในกรุงเทพฯ และต่ำสุดในจังหวัดนครพนม¹ สาเหตุการเกิดมะเร็งชนิดนี้พบว่าร้อยละ 5-15 เกิดจากการถ่ายทอดทางกรรมพันธุ์ (familial colorectal carcinoma)² และที่เหลือส่วนใหญ่เกิดจากปัจจัยสิ่งแวดล้อมร่วมกับการเปลี่ยนแปลงของยีน ซึ่งความหลากหลายของยีนที่เกี่ยวข้องกับการลดความเป็นพิษของสารก่อมะเร็งที่ปนเปื้อนในน้ำและอาหาร พบว่าอาจมีบทบาทสำคัญต่อการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่และไส้ตรง^{3,4}

ยีน *Glutathione S-transferase (GSTs)* มีส่วนเกี่ยวข้องกับการกำจัดมะเร็งหลายชนิดรวมทั้งมะเร็งลำไส้และทวารหนัก GSTs เป็นยีนที่สร้างเอนไซม์ใน phase II ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ช่วยลดความเป็นพิษของสารก่อมะเร็งในร่างกาย^{5,6} ปัจจุบันยีน GSTs ที่พบในมนุษย์มีทั้งหมด 8 กลุ่ม⁷⁻⁹ การแสดงออกของยีน GSTs กลุ่ม omega 2 (GSTO2) พบสูงใน ตับ ไต กล้ามเนื้อ และ อัณฑะ และพบได้น้อยใน หัวใจ ปากมดลูก รังไข่ และต่อมลูกหมาก¹⁰ ความหลากหลายของยีน GSTO2 เกิดจากการเปลี่ยนแปลงเบส A เป็น G ที่ลำดับเบสที่ 424 ใน exon4 ทำให้กรดอะมิโนเปลี่ยนจาก asparagine เป็น aspartate ตรงตำแหน่ง residue ที่ 142 (N142D) ซึ่งส่งผลให้เกิดการลดปฏิกิริยาของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการ metabolize

arsenic ซึ่งเป็นสารก่อมะเร็งที่ปนเปื้อนในน้ำดื่ม^{10,11} นอกจากนี้ยังมีรายงานพบว่า เอนไซม์ที่เกิดจากยีนในกลุ่ม GSTO เกี่ยวข้องกับการดื้อต่อรังสีและยาเคมีที่ใช้รักษาโรคมะเร็ง¹²

รายงานที่ผ่านมาพบว่าความหลากหลายของยีนในกลุ่ม GSTs มีผลต่อการรักษาผู้ป่วยมะเร็งหลายชนิดได้แก่ มะเร็งศีรษะและคอ, ปอด, ลำไส้ใหญ่และไส้ตรง, เต้านม และเม็ดเลือด¹³⁻¹⁶ และมีเพียงรายงานเดียวที่ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายของยีน GSTO กับการเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่และไส้ตรง¹⁷ แต่ยังไม่มียางานเกี่ยวกับยีน GSTO กับการพยากรณ์โรคในผู้ป่วยมะเร็ง ดังนั้นการศึกษานี้มีจุดประสงค์เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายของยีน GSTO2 กับผลการรักษาทางคลินิกและระยะการอยู่รอดของผู้ป่วยมะเร็งลำไส้ใหญ่และไส้ตรง

วัตถุประสงค์และวิธีการ

ผู้ป่วย

ผู้ป่วยที่ได้รับการผ่าตัดและมีผลทางจุลพยาธิวิทยาเป็น adenocarcinoma ของลำไส้และทวารหนักจากสถาบันมะเร็งแห่งชาติจำนวน 30 ราย อายุระหว่าง 33-75 ปี เพศชาย 9 ราย เพศหญิง 21 ราย ผู้ป่วยไม่ได้รับรังสีรักษาหรือเคมีบำบัดก่อนการผ่าตัด

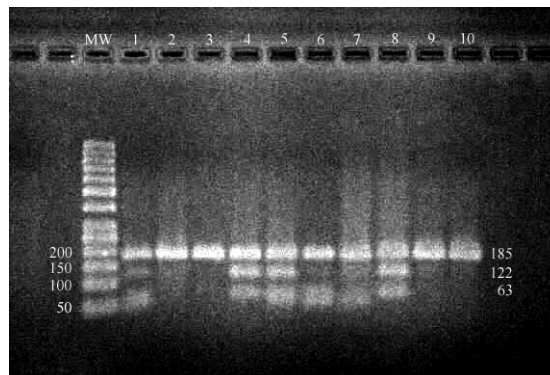
การสกัดดีเอ็นเอ

นำบล็อกชิ้นเนื้อที่ฝังพาราฟิน (formalin-fixed, paraffin-embedded tissue) ของผู้ป่วยมะเร็งลำไส้ใหญ่และไส้ตรงมาตัด section ขนาด 10 μm จำนวน 2-4 แผ่นใส่ในหลอด 1.5 ml เดิม xylene 1.2 ml แล้วเขย่าหลอด นำหลอดที่ได้ไปปั่นที่อุณหภูมิห้อง 5 นาที ความเร็ว 14,000 รอบต่อนาที แยกส่วนบนออกจากหลอด ล้าง pellet ที่ได้ด้วย absolute ethanol 1.2 ml แล้วเขย่าหลอด นำไปปั่นอีกครั้งที่อุณหภูมิห้องนาน 5 นาที ความเร็ว 14,000 รอบต่อนาที แล้วล้างด้วย ethanol อีกครั้ง นำตัวอย่างที่ได้มาผสมกับ Cell Lysis Solution 600 μl และ Proteinase K solution 3 μl (Bio-Rad) นำส่วนผสมไป incubate ที่ 55 °C พร้อมเขย่าเบาๆ ประมาณ 12 ชั่วโมง แล้วเติม RNase A Solution (Bio-Rad) 3 μl incubate ที่อุณหภูมิห้องนาน 15 นาที แยกดีเอ็นเอออกจากเนื้อเยื่อโดยใช้ AquaPure DNA Isolation Kit (Bio-Rad) ตามคำแนะนำที่แนบมากับชุดน้ำยา หาปริมาณดีเอ็นเอที่ได้โดยใช้เครื่อง spectrophotometer แล้วนำดีเอ็นเอไปเก็บที่ตู้เย็นที่อุณหภูมิ -80 °C

การตรวจหาความหลากหลายของยีน *GSTO2** *N142D*

ความหลากหลายของยีน *GSTO1* เกิดจาก

เบส A เปลี่ยนไปเป็น G ที่ตำแหน่งใน codon 142 สามารถตรวจหาได้ด้วยวิธี PCR-RFLP โดยการขยายยีนด้วยไพรเมอร์ดังนี้ 5' AGG CAG AAC AGG AAC TGG AA 3' และ 5' GAG GGA CCC CTT TTT GTA CC 3' ปริมาตรสุดท้ายที่จะนำไปขยายยีนคือ 50 μl ประกอบด้วย DNA 100 ng, 10mM Tris-C l pH 9.0, 50mM KCl, 2 mM MgCl₂, 200 μM ของแต่ละ dNTP, 1 μM ของแต่ละไพรเมอร์, และ 2 U ของ *Taq* DNA polymerase การขยายยีนจะเริ่มด้วยอุณหภูมิ 94 °C 5 นาที และตามด้วยขั้นตอนต่างๆ ในแต่ละรอบ (cycle) ซึ่งประกอบด้วย denaturation ที่ 94 °C 1 นาที annealing ที่อุณหภูมิ 60 °C 1 นาที และ extension ที่ 72 °C 1 นาที จำนวนทั้งหมดรวม 40 รอบ และตามด้วย final extension ที่ 72 °C อีก 5 นาที นำ PCR product ที่ได้มา digest ด้วยเอนไซม์ *Mbol* ที่อุณหภูมิ 37 °C นาน 18 ชั่วโมง จากนั้นนำมา run ใน 2% agarose gel ดูแถบของ product ที่ถูกตัดโดยย้อมด้วย ethidium bromide จะพบลักษณะต่างกันอยู่ 3 แบบ คือ A/A wild type homozygote จะเห็นแถบท่อนเดียว ขนาด 185 bp G/G homozygote พบมี 2 ท่อน ขนาด 122 และ 63 bp และ A/G heterozygote มี 3 ท่อน ขนาด 185, 122 และ 63 bp (รูปที่ 1)



รูปที่ 1 2% agarose gel ที่ย้อมด้วย ethidium bromide แถวแรกเป็น 50 bp marker; แถวหมายเลข 2, 3, 9 และ 10 เป็น *GSTO2* แบบ A/A wild-type homozygote; แถวหมายเลข 1, 4-8 เป็น *GSTO2* แบบ A/G heterozygote

การวิเคราะห์ทางสถิติ

ข้อมูลทางพยาธิคลินิกที่นำมาวิเคราะห์ในการศึกษานี้ได้จากผู้ป่วยที่มารับการรักษอย่างต่อเนื่องในช่วง 3-155 เดือน มีผู้ป่วย 4 รายที่ขาดหายไปในช่วงการรักษานี้ จึงเหลือผู้ป่วยเพียง 26 รายที่นำมาวิเคราะห์ในรายงานนี้ คณะผู้วิจัยใช้ Cox proportional hazards models ในการวิเคราะห์ผลการพยากรณ์โรคในการอยู่รอดของตัวแปรต่างๆ ได้แก่ ความหลากหลายของยีน *GSTO2* อายุผู้ป่วยขณะวินิจฉัย ผลทางจุลพยาธิวิทยา ขนาดก้อนมะเร็ง การกระจายของเซลล์มะเร็งไปยังต่อมน้ำเหลืองและระยะโรค และวิเคราะห์ผลของยีน *GSTO2* ต่อระยะการอยู่รอดของผู้ป่วยโดยใช้ Kaplan–Meier survival และ log-rank test และใช้ค่า *P* ที่ 0.05 เป็นค่านัยสำคัญทางสถิติ

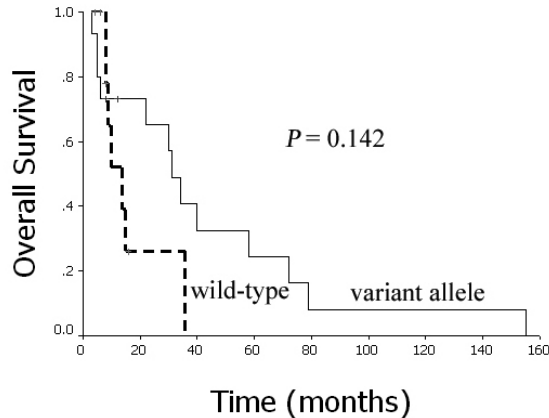
ผลการศึกษา

ในการศึกษานี้พบว่าความถี่ของ N142 allele = 0.78 และ D142 allele = 0.82 ซึ่งความหลากหลายของยีน *GSTO2* ที่พบนี้มีความสอดคล้องกับ Hardy–Weinberg equilibrium จากผลการวิเคราะห์ตัวแปรที่เกี่ยวข้องกับการพยากรณ์โรคในผู้ป่วยมะเร็งลำไส้ใหญ่และไส้ตรงจำนวน 26 ราย ทั้งแบบ univariate และ multivariate analysis (ตารางที่ 1) ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างอายุของผู้ป่วยขณะวินิจฉัย ผลจุลพยาธิวิทยา ขนาดก้อนมะเร็ง และระยะโรคกับการอยู่รอดของผู้ป่วย แม้ว่ากลุ่มผู้ป่วยที่มี *GSTO2* ชนิด wild-type มีอัตราการตายสูงเมื่อเทียบกับกลุ่มที่มี variant allele โดยมีค่า adjusted hazard ratio (HR) = 14.02 แต่ก็ไม่พบ

ตารางที่ 1 ผลการวิเคราะห์ปัจจัยการพยากรณ์โรคในผู้ป่วยมะเร็งลำไส้ใหญ่และไส้ตรง (n=26)

กลุ่มเปรียบเทียบ	Univariate analysis		Multivariate analysis	
	HR (95% CI)	<i>P</i>	HR (95% CI)	<i>P</i>
<i>GSTO2</i>				
N142/N142 vs. N142/D142+D142/D142	3.55(0.62 - 20.47)	0.156	14.02(0.73 - 270.41)	0.08
อายุ (ปี)				
>50 vs. ≤50	1.20(0.22 - 6.54)	0.837	2.54(0.20 - 32.46)	0.473
ผลจุลพยาธิ				
Moderately dif. vs. Well dif.	0.72(0.15 - 3.60)	0.690	0.13(0.01 - 1.95)	0.139
ขนาดก้อนมะเร็ง (ซม.)				
>2 vs. ≤2	2.04(0.24 - 17.64)	0.517	1.85(0.16 - 21.31)	0.623
ระยะโรค				
III+IV vs. I+II	1.97(0.36 - 10.76)	0.435	1.72(0.15 - 19.67)	0.661

CI = confidence interval



รูปที่ 2 อัตราการอยู่รอดของผู้ป่วยแบ่งตามยีน *GSTO2* ชนิด wild-type และ variant

ความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P = 0.080$) สำหรับผลการวิเคราะห์การอยู่รอดของผู้ป่วย (survival analysis) พบว่าผู้ป่วยที่มี *GSTO2* ชนิด wild-type มีระยะเวลาการอยู่รอดสั้นกว่ากลุ่มที่มี *GSTO2* ชนิด variant allele แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P = 0.142$) (รูปที่ 2)

วิจารณ์

จากการสืบค้นรายงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่า มีแต่การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายของยีน *GSTO* กับการเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่และได้ตรงซึ่งมีเพียงรายงานเดียว¹⁷ แต่ไม่พบรายงานการศึกษาถึงความสัมพันธ์ของยีนชนิดนี้กับการพยากรณ์โรคในผู้ป่วยมะเร็งและยังมีรายงานพบเอนไซม์ *GSTO* สูงในเซลล์มะเร็งของหนูเมาส์ที่ต่อสู้ต่อรังสีรักษาและเคมีบำบัด¹² ดังนั้นผู้ป่วยมะเร็งที่มียีนในกลุ่ม *GSTO* ชนิด wild-type สูงน่าจะต่อสู้ต่อการรักษาดังกล่าวด้วยซึ่งมีผลต่อการอยู่รอดของผู้ป่วยในการศึกษานี้คณะผู้วิจัยจึงได้วิเคราะห์หาความสัมพันธ์ของยีน *GSTO2* กับตัวแปรที่มีบทบาทในการพยากรณ์โรคในผู้ป่วยมะเร็งลำไส้ใหญ่และได้ตรง พบว่าความหลากหลายของยีน *GSTO2* อาจมีผลต่อการ

อยู่รอดของผู้ป่วยดังกล่าวโดยพบอัตราการตายสูงในกลุ่มผู้ป่วยที่มี *GSTO2* ชนิด wild-type (adjusted hazard ratio = 14.02) เมื่อเทียบกับกลุ่มที่มี variant allele แม้จะมีค่า $P = 0.08$ ก็ตาม อาจเป็นเพราะจำนวนผู้ป่วยที่นำมาศึกษาในรายงานนี้มีเพียง 26 รายเท่านั้น จึงควรเพิ่มจำนวนกลุ่มตัวอย่างให้มากขึ้นเพื่อเพิ่มกำลังทางสถิติที่ใช้วิเคราะห์ให้ได้ผลชัดเจนขึ้น

ความหลากหลายของยีนจำนวนมากมีประโยชน์ในการบอกความเสี่ยงต่อการเกิดโรคมะเร็งอันเป็นผลมาจากการสัมผัสกับสิ่งแวดล้อมต่างๆ¹⁸⁻²⁰ แต่ปัญหาหนึ่งในการศึกษาเช่นเหล่านี้ทางด้านระบาดวิทยาคือ แหล่งที่มาของดีเอ็นเอ เช่น เม็ดเลือดขาวซึ่งไม่สามารถหาได้ตลอดเวลา ดังนั้นถ้าสามารถสกัดดีเอ็นเอจากพาราฟิน แล้วนำมาศึกษาขึ้นที่เกี่ยวข้องกับการเกิดโรคมะเร็งได้จะมีประโยชน์อย่างยิ่ง เพราะชิ้นเนื้อฝั่งพาราฟินสามารถเก็บไว้ศึกษาได้นาน อีกทั้งในปัจจุบันวิธีการสกัดดีเอ็นเอจากชิ้นเนื้อที่ฝั่งพาราฟินได้รับการพัฒนาให้มีคุณภาพและปริมาณมากขึ้น^{21,22} ในการศึกษาครั้งนี้คณะผู้วิจัยได้ใช้ดีเอ็นเอที่สกัดจากชิ้นเนื้อที่ฝั่งพาราฟินเพื่อตรวจหาความหลากหลายของยีน *GSTO2* พบว่าได้ผลเหมือนกับที่ใช้ดีเอ็นเอจากเม็ดเลือดขาวหรือชิ้นเนื้อสด (fresh tissue)¹⁷

สรุป

จากผลการศึกษานี้พบว่าความหลากหลายของยีน *GSTO2* ไม่มีความสัมพันธ์กับการอยู่รอดของผู้ป่วยมะเร็งลำไส้ใหญ่และไส้ตรง อย่างไรก็ตามควรศึกษาต่อโดยการเพิ่มจำนวนตัวอย่างให้มากขึ้นเพื่อเพิ่มกำลังทางสถิติที่ใช้วิเคราะห์ให้ได้ผลชัดเจนขึ้น

เอกสารอ้างอิง

1. Kruhprema T, Srivatanakul P, Sriplung H, Wiangnon S, Sumitsawan Y, Attasara P, editors. Cancer in Thailand. Vol IV, 1998-2000. Bangkok; 2007.
2. Evans DG, Walsh S, Jeacock J, Robinson C, Hadfield L, Davies DR, Kingston R. Incidence of hereditary non-polyposis colorectal cancer in a population-based study of 1137 consecutive cases of colorectal cancer. *Br J Surg* 1997; 84:1281-5.
3. Houlston RS, Tomlinson IP. Polymorphisms and colorectal tumor risk. *Gastroenterology* 2001; 121: 282-301.
4. Butler WJ, Ryan P, Roberts-Thomson IC. Metabolic genotypes and risk for colorectal cancer. *J Gastroenterol Hepatol* 2001; 16: 631-5.
5. Strange RC, And Fryer AA. The glutathione S-transferase: influence of polymorphism on susceptibility to non familial cancers. In Boffetta P, Caporaso N, Cuzick J, Lang M and Vineris P (eds) Polymorphisms and cancer. Lyon : IARC Scientific Publication; 1999. p. 303-22.
6. Strange RC, Fryer AA. Glutathione S-transferase genotype – Clinical implications. In Fuchs J and Podda M (eds) Encyclopedia of Medical Genomics and Proteomics. New York : Marcel Dekker Inc; 2004. p. 536-42.
7. Hayes JD, McLellan LI. Glutathione and glutathione-dependent enzymes represent a co-ordinately regulated defence against oxidative stress. *Free Radical Res* 1999; 31: 273-300.
8. Board PG, Goggan M, Chelvanayagam G, Easteal S, Jermiin LS, Schulte GK, et al. Identification, characterization and crystal structure of Omega class glutathione transferase. *J Biol Chem* 2000; 275: 24798-806.
9. Ladner JE, Parsons JF, Rife CL, Gilliland GL, Armstrong RN. Parallel evolutionary pathways for glutathione transferases: structure and mechanism of the mitochondrial class kappa enzyme rGSTK1-1. *Biochemistry* 2004; 43: 352-61.
10. Whitbread AK, Tetlow N, Eyre HJ, Sutherland GR, Board PG. Characterization of the human Omega class glutathione transferase genes and associated polymorphisms. *Pharmacogenetics* 2003; 13: 131-44.
11. Tanaka-Kagawa T, Jinno H, Hasegawa T, Makino Y, Seko Y, Hanioka N, Ando M. Functional characterization of two variant human GSTO 1-1s (Ala140Asp and Thr217Asn). *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 301: 516-20.
12. Giri U, Terry NHA, Kala SV, Lieberman MW, Story MD. Elimination of the differential chemoresistance between the murine B-cell lymphoma LY-ar and LY-as cell lines after arsenic (As₂O₃) exposure via the overexpression of *gstO1* (p28). *Cancer Chemother Pharmacol* 2005; 55: 511-21.
13. Matthias C, Jahnke V, Fryer AA, Strange RC. Influence of glutathione s-transferase and cytochrome p450 polymorphisms on prognosis of head and neck cancer. *Laryngorhinotologie* 2002; 81: 406-12.
14. Anderer G, Schrappe M, Brechlin AM, Lauten M, Muti P, Welte K, Stanulla M. Polymorphisms within glutathione S-transferase genes and initial response to glucocorticoids in childhood acute lymphoblastic leukaemia. *Pharmacogenetics* 2000; 10: 715-26.
15. Stoehlmacher J, Park DJ, Zhang W, Groshen S, Tsao-Wei DD, Yu MC, Lenz HJ. Association between glutathione S-transferase P1, T1, and M1 genetic polymorphism and survival of patients with metastatic colorectal cancer. *J Natl Cancer Inst* 2002; 94: 936-42.
16. Sweeney C, Ambrosone CB, Joseph L, Stone A, Hutchins LF, Kadlubar FF, Coles BF. Association between a glutathione S-transferase A1 promoter polymorphism and survival after breast cancer treatment. *Int J Cancer* 2003 ;103: 810-4.
17. Marahatta SB, Punyarit P, Bhudisawasdi V, Paupairoj A, Wongkham S, Petmitr S. Polymorphism of glutathione S-transferase Omega gene and risk of

- cancer. *Cancer Letts* 2006; 236: 276-81.
18. Sachidanandam R, Weissman D, Schmidt SC, Kakol JM, Stein LD, Marth G, et al. A map of human genome sequence variation containing 1.42 million single nucleotide polymorphisms. *Nature* 2001; 409: 928-33.
 19. Shi SR, Cote RJ, Wu L, Liu C, Datar R, Shi Y, et al. DNA extraction from archival formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections based on the antigen retrieval principle: heating under the influence of pH. *J Histochem Cytochem* 2002; 50:1005-11.
 20. Sato Y, Sugie R, Tsuchiya B, Kameya T, Natori M, Mukai K. Comparison of the DNA extraction methods for polymerase chain reaction amplification from formalin-fixed and paraffin-embedded tissues. *Diagn Mol Pathol* 2001; 10: 265-71.
 21. Zheng W, Deitz AC, Campbell DR, Wen WQ, Cerhan JR, Sellers TA, et al. N-acetyltransferase 1 genetic polymorphism, cigarette smoking, well-done meat intake, and breast cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1999; 8: 233-9.
 22. Deitz AC, Zheng W, Leff MA, Gross M, Wen WQ, Doll MA, et al. N-acetyltransferase-2 genetic polymorphism, well-done meat intake, and breast cancer risk among postmenopausal women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2000; 9: 905-10.



ลักษณะของยีน Glutathione S-transferase กับ การเกิดโรคมะเร็ง

ธเนศ พงศ์ธีรรัตน์

ปัจจุบันโรคมะเร็งเป็นสาเหตุการตายที่สำคัญของประชากรทั่วโลก สำหรับในประเทศไทยพบว่าโรคมะเร็งเป็นสาเหตุการตายอันดับหนึ่งตั้งแต่ปี พ.ศ. 2543 เป็นต้นมาและมีแนวโน้มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง¹ ดังนั้นการศึกษาเกี่ยวกับโรคมะเร็งจึงเป็นที่สนใจของนักวิจัยทั่วโลก รวมทั้งประเทศไทยที่พยายามทุ่มเทเงินวิจัยจำนวนมากเพื่อต้องการศึกษาค้นหากลไกสาเหตุการเกิดโรค การป้องกันรักษาโรคมะเร็ง และเอาชนะโรคร้ายนี้เพื่อสุขภาพที่ดีของประชากรมนุษย์ให้มีอายุยืนยาวปลอดภัยจากโรคร้ายต่อไป

สาเหตุการเกิดโรคมะเร็งส่วนใหญ่มาจากปัจจัยหลายชนิด ได้แก่ ปัจจัยจากการบริโภคอาหารที่มีสารก่อมะเร็ง เช่น สารอนุมูลอิสระ, การบริโภคเนื้อแดง หรืออาหารที่มีไขมันสูงมากแต่บริโภคผักและผลไม้ไม่บ่อยก็ทำให้เกิดมะเร็งได้ง่าย หรือได้รับสารพิษจากการสูบบุหรี่, การดื่มสุรา² สาเหตุที่สำคัญอีก

อย่างหนึ่งของการเกิดโรคมะเร็งคือปัจจัยทางด้านพันธุกรรมหรือดีเอ็นเอ ซึ่งจะเป็จุดเริ่มการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ในร่างกายมนุษย์ จากการแบ่งเซลล์แบบปรกติกลายเป็นเซลล์มะเร็งซึ่งมีการแบ่งตัวโดยไม่สามารถควบคุมได้ในที่สุด ปัจจัยทางพันธุกรรมนี้อาจเกิดจากการถ่ายทอดจากกรรมพันธุ์หรือเกิดขึ้นเองภายหลังก็ได้ ซึ่งการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมที่ทำให้เกิดโรคมะเร็งส่วนใหญ่ยังไม่ทราบสาเหตุถึงแม้ว่าจะมีการศึกษากันอย่างกว้างขวางแล้วก็ตาม แต่ก็ยังไม่สามารถศึกษาได้ครอบคลุมกระบวนการเกิดโรคได้ทั้งหมด³

กลุ่มยีนที่มีการศึกษากันมากกลุ่มหนึ่งคือยีนที่สร้างเอนไซม์เกี่ยวข้องกับกระบวนการ biotransformation ซึ่งเป็นกระบวนการทางเคมีในสิ่งมีชีวิตที่จะเปลี่ยนคุณสมบัติการละลายของสารที่มีพิษต่อร่างกายหรือสารที่ร่างกายไม่ต้องการให้กลายเป็นสารที่มีพิษน้อยลงและมีความสามารถในการ

ละลายได้ดีขึ้นจึงขับออกจากร่างกายได้ โดยปกติ เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการ biotransformation จะแบ่งเป็น 2 ประเภทใหญ่ๆ คือ phase I enzyme ได้แก่ cytochrome P450 enzyme และ phase II enzyme ซึ่งได้แก่ เอนไซม์ glutathione S-transferases ซึ่งเป็นกลุ่มของเอนไซม์ที่มีหลายชนิด โดยธรรมชาติแล้วทำหน้าที่ในการทำลายสารที่ทำให้เกิดพิษ เช่น สารตัวกลางที่เกิดจากกระบวนการเมตาบอลิซึม, สารอนุมูลอิสระ, ยาต่างๆ หรือสารก่อมะเร็งชนิดต่างๆ โดยการเชื่อมต่อกับสารดังกล่าวกับสาร glutathione แล้วขับทิ้งออกจากร่างกาย ยีนที่ทำหน้าที่ในการสร้างเอนไซม์คือ *glutathione S-transferases (GSTs)*^{4,5} กลุ่มนี้

การศึกษาความสัมพันธ์ของยีนเหล่านี้กับโรคมะเร็งชนิดต่างๆจากประชากรจำนวนมากมักจะใช้ความหลากหลายของยีน (gene polymorphism) ซึ่งหมายถึงการเปลี่ยนแปลงลำดับนิวคลีโอไทด์ซึ่งมีลักษณะคล้ายการกลายพันธุ์ของยีนแต่มีเปอร์เซ็นต์การตรวจพบสูงกว่า 1 เปอร์เซ็นต์ในคนปกติ ความหลากหลายของยีนอาจมีการเปลี่ยนแปลงเพียงเบสชนิดเดียวหรือหลายชนิดหรือยีนขาดหายไปก็ได้ และมีได้ 2 ลักษณะคือ homozygous mutant หมายถึงมีการเปลี่ยนแปลงของเบสทั้ง 2 อัลลีล ของคู่โครโมโซม และ heterozygous mutant หมายถึง มีการเปลี่ยนแปลงของเบสเพียง 1 อัลลีล ในขณะที่อีก 1 อัลลีลยังคงปกติ

ปัจจุบันมีการแบ่งยีน *GSTs* ที่พบในมนุษย์ เป็น 8 กลุ่มคือ *alpha, kappa, mu, pi, sigma, theta, zeta* และ *omega* ซึ่งแต่ละกลุ่มยังแบ่งย่อยอีก เช่น *mu 1, 2, 3, 4, 5* หรือ *omega 1, 2* เป็นต้น⁶ สำหรับในบทความนี้จะกล่าวถึง *GSTs* เฉพาะกลุ่มที่มีการศึกษากันมากและพบว่าเกี่ยวข้องกับการเกิดโรคมะเร็งซึ่งมีอยู่ 5 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่ม *alpha (GSTA)*, *mu (GSTM)*, *pi (GSTP)*, *theta (GSTT)* และ

omega (GSTO)

ยีน *GSTM* อยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 1 มีบทบาทสำคัญในการกำจัดสารก่อมะเร็งที่อยู่ในบุหรี่และสารก่อมะเร็งตัวอื่นเช่น benzo [a] pyrene⁴ ยีนที่มีการศึกษามากที่สุดในกลุ่มนี้คือ *GSTM1, GSTT* อยู่บนโครโมโซมที่ 22 เป็นยีนที่มีบทบาทในการกำจัดสารพิษไฮโดรคาร์บอนขนาดเล็กเช่น ethylene oxide หรือ diepoxybutane⁴ ยีนที่มีการศึกษามากที่สุดคือ *GSTT1* ลักษณะการเปลี่ยนแปลงของยีน *GSTM1* และ *GSTT1* เป็นการขาดหายไปของยีน (deletion) บนโครโมโซมแบบ homozygous (null genotype) จึงทำให้ไม่มีการแสดงออกของยีนเป็นผลให้ระดับเอนไซม์ GST ในเลือดต่ำกว่าปกติเกิดการสูญเสียการทำงานของเอนไซม์ แต่ความผิดปกติอาจเกิดแค่ยีนใดยีนหนึ่งหรือผิดปกติทั้งคู่ก็ได้แล้วแต่บุคคล^{7,8}

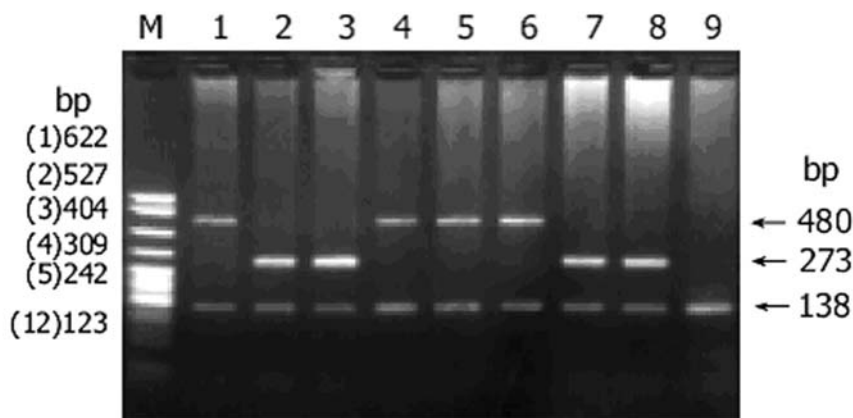
การศึกษายีน *GSTM1* และ *GSTT1* มักจะใช้เทคนิค multiplex PCR (multiplex polymerase chain reaction) โดยในปฏิกิริยาของ PCR จะมีไพรเมอร์ของยีน *GSTM1, GSTT1* และไพรเมอร์ของยีนควบคุมรวมอยู่ด้วยเมื่อเสร็จสิ้นปฏิกิริยานำไปตรวจผลการทดลองด้วย agarose gel electrophoresis โดยทุกปฏิกิริยาจะตรวจพบยีนควบคุมทุกครั้งเพื่อให้มั่นใจว่าการทำ PCR ไม่มีผิดพลาดและตรวจดูว่ามีชิ้นดีเอ็นเอจากการทำ PCR ของ *GSTM1, GSTT1* หรือไม่ ถ้ามีแสดงว่าปกติ ถ้าไม่พบชิ้นดีเอ็นเอแสดงว่าการขาดหายไปของยีนเหล่านี้ดังตัวอย่างในรูปที่ 1

ในช่วง 10 ปีที่ผ่านมาได้มีการศึกษาจำนวนมากเกี่ยวกับยีน *GSTM1* จากการศึกษพบว่ามีความถี่ของการขาดหายไปของยีนทั้งชาวตะวันตกและชาวเอเชียประมาณร้อยละ 45-55 ของประชากร ซึ่งถือว่าสูงมากและน่าจะมีส่วนต่อการกำจัดสารพิษออกจากร่างกายหรือเกี่ยวข้องกับการเกิดโรคมะเร็ง ส่วนรายงานการศึกษาในประชากรไทยพบว่าการหายไปของยีนนี้มีร้อยละ 63 ของประชากร⁹ จากการ

ศึกษาผลกระทบของความผิดปกติของยีนนี้ (*GSTM1* null genotype) พบว่ามีส่วนเกี่ยวข้องในการเพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิดโรคมะเร็งหลายชนิด ได้แก่ มะเร็งรังไข่¹⁰ มะเร็งตับ¹¹ มะเร็งเต้านม¹² และมะเร็งปอด¹³ และยังมีรายงานพบว่า *GSTM1* มีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคมะเร็งโพรงหลังจมูกโดยเฉพาะผู้ที่อายุเกิน 45 ปีและมักเกิดร่วมกับการติดเชื้อไวรัส EBV¹⁴ นอกจากนี้ยังมีรายงานจากคณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์พบความเสี่ยงของโรคมะเร็งในช่องปากของคนภาคใต้มีความสัมพันธ์กับความผิดปกติของยีนดังกล่าวด้วย¹⁵ และจากการศึกษาของโรงพยาบาลรามาริบัติพบความเสี่ยงของการขาดยีน *GSTM1* มีผลต่อการเกิดมะเร็งเม็ดเลือดขาวในเด็ก¹⁶ แต่ในขณะเดียวกันพบว่ายีนนี้ไม่มีความสัมพันธ์กับความเสี่ยงในการเกิดมะเร็งปอดเมื่อสำรวจประชากรที่มีความเสี่ยงสูงใน

พื้นที่ชนบทที่มีอากาศเต็มไปด้วยฝุ่นละอองจากการทำเหมืองถ่านหินที่จังหวัดลำปาง¹⁷ และในกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งเต้านมชาวไทยก็ไม่พบความสัมพันธ์ของความเสี่ยงต่อการเกิดโรคกับยีน *GSTM1* และไม่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงหรือการลุกลามของมะเร็งเต้านมด้วยเช่นกัน¹⁸

จากการศึกษาความหลากหลายของยีน *GSTT1* นั้นพบว่ามีค่าของการขาดหายไปของยีนในประชากรทางตะวันตกประมาณร้อยละ 20 และทางเอเชียประมาณร้อยละ 20-40 ส่วนคนเชื้อชาติจีนพบประมาณร้อยละ 40-60^{9,19} สำหรับในประเทศไทยความถี่ของการขาดหายไปของยีน *GSTT1* ในประชากรพบร้อยละ 50¹⁵ จากงานวิจัยต่างๆ พบว่าการตรวจพบยีน *GSTT1* เพียงชนิดเดียวมีความสัมพันธ์ต่อความเสี่ยงในการเกิดโรคมะเร็งต่างๆ น้อยกว่า *GSTM1* มาก แต่ก็ยังมีรายงานพบว่า *GSTT1*



รูปที่ 1 ตัวอย่าง multiplex PCR ของยีน *GSTM1*, *GSTT1* และยีนควบคุม *P53* โดยแถวที่ 1 เป็น control ของยีน *GSTT1* ในคนปกติ แถวที่ 2-3 เป็น positive control ของยีน *GSTM1* ในคนปกติ และแถวที่ 4-6 เป็นผล positive ของยีน *GSTT1* ในผู้ป่วยมะเร็งตับ (hepatocellular carcinoma) แถวที่ 7-9 เป็นผลการทดลองของยีน *GSTM1* ในผู้ป่วยกลุ่มเดียวกันโดยแถวที่ 7-8 แสดงผลเป็น positive แต่ในแถวที่ 9 แสดงผลเป็น negative ต่อยีน *GSTT1* และผลการทดลองทุกแถวจะต้องมีผล positive ต่อยีนควบคุม *P53* ซึ่งมีขนาด 138 bp¹¹

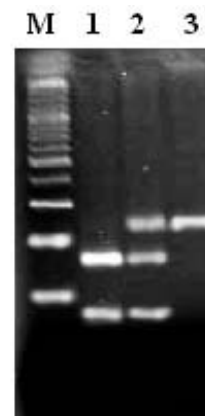
เกี่ยวข้องกับกาเกิดโรคมะเร็งตับในประชากรจีน¹¹ นอกจากนั้นมียางานพบว่ากาขาดหายไของยีน *GSTM1* และ *GSTT1* ทั้งสองชนิดจะเสี่ยงต่อการเกิดโรคมะเร็งบางชนิด²⁰ คณะวิจัยที่มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์รายงานว่าความผิดปกติของยีน *GSTT1* ไม่เกี่ยวข้องกับกาเกิดมะเร็งในช่องปาก¹⁵ การขาดยีนนี้ไม่มีผลต่อการเกิดมะเร็งเม็ดเลือดขาวในเด็กด้วย¹⁶ และไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างยีน *GSTT1* กับการเกิดมะเร็งเต้านมในผู้ป่วยไทย¹⁸

ยีนในกลุ่ม *GSTs* นอกจาก *GSTM* และ *GSTT* แล้วยังมียีน *GST* กลุ่ม *pi* (*GSTP*) อยู่บนโครโมโซมที่ 11 ซึ่งพบว่าเป็นยีนที่มีคุณสมบัติในการช่วยลดความรุนแรงของยาเคมีบำบัดชนิดต่างๆ²¹, *GSTA* อยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 6 ซึ่งปกติมีบทบาทในการลดขบวนการ apoptosis โดยการลดการทำงานของ JNK (c-JUN N-terminal kinase) ที่เกิดจากผลของ H₂O₂ และ UV²² และ *GST* กลุ่ม *omega* (*GSTO1*) ซึ่งเป็นกลุ่มใหม่ล่าสุดอยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 10 พบว่าเกี่ยวข้องกับกาช่วยทำให้เกิด methylation ของ arsenic ทำให้ฤทธิ์ก่อมะเร็งของ arsenic ที่ปนเปื้อนในน้ำดื่มลดลงเมื่อถูก methylated²³

การศึกษาเอนไซม์กลุ่มนี้เป็นการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของเบสบนยีน (polymorphism) ที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงชนิดของกรดอะมิโนในลำดับของโปรตีนและตามมาด้วยการสูญเสียประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ สำหรับ *GSTP1* จะมีการเปลี่ยนแปลงแบบเปลี่ยนจากเบส A เป็น G ที่ codon 105 ทำให้กรดอะมิโนเปลี่ยนจาก Ile เป็น Val²⁴ ส่วน *GSTA1* จะมีการเปลี่ยนแปลงของเบสบนโปรโมเตอร์ของยีนหลายตำแหน่งเช่น *GSTA1**A ตำแหน่ง -631G/T, ไปเป็น *GSTA1**B -631G, *GSTA1**A -567T ไปเป็น *GSTA1**B -567G, *GSTA1**A -69C ไปเป็น *GSTA1**B -69T หรือ *GSTA1**A -52G ไปเป็น *GSTA1**B -52A แล้วแต่

จะเกิดขึ้นที่ตำแหน่งใดทำให้เกิดปัญหาในขบวนการ transcription ของยีนนี้²⁵ และทำให้เกิดการสูญเสียการทำงานของเอนไซม์ *GSTA1* ส่วนยีน *GSTO1* จะมีการเปลี่ยนแปลงแบบเปลี่ยนจากเบส A เป็น C ที่ codon 140 ทำให้กรดอะมิโนเปลี่ยนจาก Ala เป็น Asp²⁶

การศึกษายีนในกลุ่ม *GSTP1*, *GSTA1* และ *GSTO1* มักจะใช้เทคนิค PCR-RFLP (Polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphisms) โดยการทำปฏิกิริยา PCR กับไพรเมอร์ของยีนแต่ละชนิดที่ต้องการตรวจ แล้วนำผลผลิตที่ได้จาก PCR มาตัดด้วยเอนไซม์จำเพาะ (restriction enzyme) ซึ่งมีตำแหน่งการตัดที่จำเพาะตรงจุดที่มีการเปลี่ยนแปลงของเบสบนยีนต่างๆ แล้วอ่านผลการทดลองด้วยการ run agarose gel electrophoresis แล้วย้อมด้วย ethidium bromide ซึ่งจะได้ผลเป็น 3 แบบคือ homozygous variant,



รูปที่ 2 ตัวอย่าง PCR-RFLP ของยีน *GSTP1* เป็นการหาความหลากหลายของยีนจากการเปลี่ยนแปลงของเบส A ไปเป็นเบส G โดยใช้เอนไซม์ *BsmA1* แถวที่ 1 คือ homozygous variant (G/G), แถวที่ 2 คือ heterozygous genotype (A/G), แถวที่ 3 คือ homozygous wild-type (A/A)¹⁸

heterozygous และ wild-type (รูปที่ 2)

จากการศึกษาพบว่ายีน *GSTP1* มีความถี่ของความหลากหลายจากการเปลี่ยนแปลงเบส A เป็น G ที่ codon 105 ที่เป็นชาวตะวันตกประมาณร้อยละ 50²⁷ และชาวเอเชียประมาณร้อยละ 30²¹ สำหรับในเมืองไทยความถี่ของความหลากหลายของยีนชนิดนี้ในประชากรพบประมาณร้อยละ 40²⁸ ผลกระทบของความผิดปกติของยีนนี้จากการศึกษาทั่วโลกพบว่า *GSTP1* มีส่วนเกี่ยวข้องในการเพิ่มความเสี่ยงให้เกิดโรคมะเร็งหลายชนิด เช่น มะเร็งลำไส้, มะเร็งเต้านม และมะเร็งต่อมลูกหมาก²⁹⁻³¹ ส่วนการศึกษาผลกระทบของยีนนี้กับโรคมะเร็งในประเทศไทยยังมีไม่มากนัก เช่น การศึกษาผลของ *GSTP1* กับมะเร็งเม็ดเลือดขาวในเด็กพบว่ายีนนี้ไม่มีความเกี่ยวข้องกับการเกิดมะเร็งดังกล่าว²⁸ ความผิดปกติของยีน *GSTP1* ไม่ได้เกี่ยวข้องกับการเสี่ยงต่อการเป็นมะเร็งเต้านมแต่พบว่ามีความสัมพันธ์กับความรุนแรงของโรคในผู้ป่วยมะเร็งเต้านม (ยังไม่ได้ตีพิมพ์)

จากการศึกษาความหลากหลายของยีน *GSTA1* พบว่ามีความถี่ของความหลากหลายของยีน *GSTA1*B* ที่เป็นชาวตะวันตกประมาณร้อยละ 40³² และชาวเอเชียประมาณร้อยละ 25²⁵ ผลกระทบของความผิดปกติของยีนนี้จากการศึกษาของชาติตะวันตกและเอเชียพบว่า *GSTA1* มีส่วนเกี่ยวข้องในการเพิ่มความเสี่ยงให้เกิดโรคมะเร็งหลายชนิด เช่น มะเร็งต่อมลูกหมากและมะเร็งเต้านม³³⁻³⁴ ส่วนการศึกษาผลกระทบของยีนนี้กับโรคมะเร็งในประเทศไทยยังไม่มีรายงาน ผู้วิจัยได้ศึกษา *GSTA1* ในมะเร็งเต้านมของหญิงไทยพบว่ายีนนี้ไม่เกี่ยวข้องกับการเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งเต้านม (ยังไม่ได้ตีพิมพ์)

การศึกษาความหลากหลายของยีน *GSTO1* นั้นพบว่ามีค่าความถี่ของความหลากหลายของยีน *GSTO1* แบบ A140D ในชาวตะวันตกประมาณร้อยละ 30³⁵ ชาวเอเชียประมาณร้อยละ 20³⁶ และมี

รายงานพบในประเทศไทยประมาณร้อยละ 25 นอกจากนั้นยังพบว่าความหลากหลายของยีนนี้มีส่วนเกี่ยวข้องกับการเสี่ยงต่อการเกิดโรคมะเร็งตับ มะเร็งท่อน้ำดี และมะเร็งเต้านม³⁷

จากการศึกษาด้านพันธุกรรมของยีน GSTs นั้นเราสามารถนำมาประยุกต์ใช้ทำนายความเสี่ยงในการเกิดโรคมะเร็งชนิดต่างๆ ได้ แต่การศึกษาดังกล่าวในประเทศไทยยังมีน้อยมากและจำนวนประชากรที่เป็นกลุ่มตัวอย่างยังน้อยเกินไป ฉะนั้นการศึกษาในอนาคตควรมีการเพิ่มขนาดของประชากรเพื่อให้การวิเคราะห์ข้อมูลมีประสิทธิภาพและมีการวางแผนงานวิจัยที่ดีเพื่อให้ได้ข้อมูลที่เชื่อถือได้ สามารถนำไปใช้ประโยชน์ทางคลินิกในผู้ป่วยมะเร็งในอนาคต

เอกสารอ้างอิง

1. Sriplung H, Sontipong S, Martin N, Wiangnon S, Vootiprux V, Cheirsilpa A, et al. Cancer incidence in Thailand, 1995-1997. *Asian Pac J Cancer Prev* 2005; 6: 276-81.
2. Sugimura T. Nutrition and dietary carcinogens. *Carcinogenesis* 2000; 21: 387-95.
3. Skolnick MH, Cannon-Albright LA. Genetic predisposition to breast cancer. *Cancer* 1992; 70: 1747-54.
4. Kang D. Genetic polymorphisms and cancer susceptibility of breast cancer in Korean women. *J Biochem Mol Biol* 2003; 36: 28-34.
5. Kim SU, Lee KM, Park SK, Yoo KY, Noh DY, Choe KJ, et al. Genetic polymorphism of glutathione S-transferase P1 and breast cancer risk. *J Biochem Mol Biol* 2004; 37: 582-5.
6. Yang P, Ebbert JO, Sun Z, Weinshilboum RM. Role of the glutathione metabolic pathway in lung cancer treatment and prognosis: a review. *J Clin Oncol* 2006; 24: 1761-9.
7. Chenevix-Trench G, Young J, Coggan M, Board P. Glutathione S-transferase M1 and T1 polymorphism:

- susceptibility to colon cancer and age of onset. *Carcinogenesis* 1995; 16: 1655-7.
8. Naoe T, Tagawa Y, Kiyoi H, Koderu Y, Miyawaki S, Asou N, et al. Prognostic significance of the null genotype of glutathione S-transferase T1 in patients with acute myeloid leukemia. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2002; 16: 203-8.
 9. Sangrajrang S, Jedpiyawongse A, Srivatanakul P. Genetic polymorphisms of CYP2E1 and GSTM1 in a Thai population. *Asian Pac J Cancer Prev* 2006; 7: 415-9.
 10. Spurdle AB, Webb PM, Purdie DM, Chen X, Green A, Chenevix-Trench G. Polymorphisms at the glutathione S-transferase GSTM1, GSTT1 and GSTP1 loci: risk of ovarian cancer by histological subtype. *Carcinogenesis* 2001; 22: 67-72.
 11. Deng ZL, Wei YP, Ma Y. Polymorphism of glutathione S-transferase mu 1 and theta 1 genes and hepatocellular carcinoma in Southern Guanxi China. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 272-4.
 12. Park SK, Yoo KY, Lee SJ, Kim SU, Ahn SH, Noh DY, et al. Alcohol consumption, glutathione S-transferase M1 and T1 genetic polymorphisms and breast cancer risk. *Pharmacogenetics* 2000; 10: 301-9.
 13. Lee KM, Kang D, Clapper ML, Ingelman-Sundberg M, Ono-Kihara M, Kiyohara C, et al. CYP1A1, GSTM1, and GSTT1 polymorphisms, smoking, and lung cancer risk in a pooled analysis among Asian populations. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2008; 17: 1120-6.
 14. Tiwawech D, Srivatanakul P, Karalak A, Ishida T. Glutathione S-transferase M1 gene polymorphism in Thai nasopharyngeal carcinoma. *Asian Pac J Cancer Prev* 2005; 6: 270-5.
 15. Kietthubthaw S, Sriplung H, Au WW. Genetic and environmental interactions on oral cancer in Southern Thailand. *Environ Mol Mutagen* 2001; 37: 111-6.
 16. Pakakasama S, Mukda E, Sasanakul W, Kadegasem P, Udomsubpayakul U, Thithapandha A, et al. Polymorphisms of drug-metabolizing enzymes and risk of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Am J Hematol* 2005; 79: 202-5.
 17. Pisani P, Srivatanakul P, Randerson-Moor J, Vipasinimit S, Lalitwongsa S, Unpunyo P, et al. GSTM1 and CYP1A1 polymorphisms, tobacco, air pollution, and lung cancer: a study in rural Thailand. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2006; 15: 667-74.
 18. Tretrisool M, Pakeetoot T, Purisa W. Glutathione S-transferase (GST) M1 and T1 polymorphism in breast cancer of Thai patients. การประชุมนำเสนอผลงานวิจัยบัณฑิตศึกษาประจำปีการศึกษา 2550. กรุงเทพฯ: บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยรังสิต; 2550.
 19. Rebbeck TR. Molecular epidemiology of the human glutathione S-transferase genotypes GSTM1 and GSTT1 in cancer susceptibility. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1997; 6: 733-43.
 20. Lemos MC, Coutinho E, Gomes L, Carrilho F, Rodrigues F, Regateiro FJ, et al. Combined GSTM1 and GSTT1 null genotypes are associated with a lower risk of papillary thyroid cancer. *J Endocrinol Invest* 2008; 31: 542-5.
 21. Cho HJ, Lee SY, Ki CS, Kim JW. GSTM1, GSTT1 and GSTP1 polymorphisms in the Korean population. *J Korean Med Sci* 2005; 20: 1089-92.
 22. Romero L, Andrews K, Ng L, O'Rourke K, Maslen A, Kirby G. Human GSTA1-1 reduces c-Jun N-terminal kinase signalling and apoptosis in Caco-2 cells. *Biochem J* 2006; 400: 135-41.
 23. Granja F, Morari EC, Assumpcao LV, Ward LS. GSTO polymorphism analysis in thyroid nodules suggest that GSTO1 variants do not influence the risk for malignancy. *Eur J Cancer Prev* 2005; 14: 277-80.
 24. Allan JM, Wild CP, Rollinson S, Willett EV, Moorman AV, Dovey GJ, et al. Polymorphism in glutathione S-transferase P1 is associated with susceptibility to chemotherapy-induced leukemia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001; 98: 11592-7.
 25. Ping J, Wang H, Huang M, Liu ZS. Genetic analysis of glutathione S-transferase A1 polymorphism in the Chinese population and the influence of genotype on enzymatic properties. *Toxicol Sci* 2006; 89: 438-43.
 26. Tanaka-Kagawa T, Jinno H, Hasegawa T, Makino Y, Seko Y, Hanioka N, et al. Functional characterization of two variant human GSTO 1-1s (Ala140Asp and Thr217Asn). *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 301: 516-20.

27. Abbas A, Delvinquiere K, Lechevrel M, Lebaillly P, Gauduchon P, Launoy G, et al. GSTM1, GSTT1, GSTP1 and CYP1A1 genetic polymorphisms and susceptibility to esophageal cancer in a French population: different pattern of squamous cell carcinoma and adenocarcinoma. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 3389-93.
28. Gatedee J, Pakakassama S, Muangman S, Pongstaporn W. Glutathione S-transferase P1 genotypes, genetic susceptibility and outcome of therapy in Thai childhood acute lymphoblastic leukemia. *Asian Pac J Cancer Prev* 2007; 8: 294-6.
29. Vlaykova T, Miteva L, Gulubova M, Stanilova S . Ile105Val GSTP1 polymorphism and susceptibility to colorectal carcinoma in Bulgarian population. *Int J Colorectal Dis* 2007; 22: 1209-15.
30. Egan KM, Cai Q, Shu XO, Jin F, Zhu TL, Dai Q, et al. Genetic polymorphisms in GSTM1, GSTP1, and GSTT1 and the risk for breast cancer: results from the Shanghai Breast Cancer Study and meta-analysis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2004; 13: 197-204.
31. Mao GE, Morris G, Lu QY, Cao W, Reuter VE, Cordon-Cardo C, et al. Glutathione S-transferase P1 Ile105Val polymorphism, cigarette smoking and prostate cancer. *Cancer Detect Prev* 2004; 28: 368-74.
32. Ladero JM, Martinez C, Fernandez JM, Martin F, Garcia-Martin E, Ropero P, et al. Glutathione S-transferases pi 1, alpha 1 and M3 genetic polymorphisms and the risk of hepatocellular carcinoma in humans. *Pharmacogenomics* 2007; 8: 895-9.
33. Ahn J, Gammon MD, Santella RM, Gaudet MM, Britton JA, Teitelbaum SL, et al. Effects of glutathione S-transferase A1 (GSTA1) genotype and potential modifiers on breast cancer risk. *Carcinogenesis* 2006; 27: 1876-82.
34. Komiya Y, Tsukino H, Nakao H, Kuroda Y, Imai H, Katoh T. Human glutathione S-transferase A1, T1, M1, and P1 polymorphisms and susceptibility to prostate cancer in the Japanese population. *J Cancer Res Clin Oncol* 2005; 131: 238-42.
35. Yu L, Kalla K, Guthrie E, Vidrine A, Klimecki WT. Genetic variation in genes associated with arsenic metabolism: glutathione S-transferase omega 1-1 and purine nucleoside phosphorylase polymorphisms in European and indigenous Americans. *Environ Health Perspect* 2003; 111: 1421-7.
36. De Chaudhuri S, Ghosh P, Sarma N, Majumdar P, Sau TJ, Basu S, et al. Genetic variants associated with arsenic susceptibility: study of purine nucleoside phosphorylase, arsenic (+3) methyltransferase, and glutathione S-transferase Omega genes. *Environ Health Perspect* 2008; 116: 501-5.
37. Marahatta SB, Punyarit P, Bhudisawasdi V, Paupairoj A, Wongkham S, Petmitr S. Polymorphism of glutathione S-transferase Omega gene and risk of cancer. *Cancer Letts* 2006; 236: 276-81.





คำแนะนำการส่งต้นฉบับ เพื่อตีพิมพ์ในวารสารโรคมะเร็ง

วารสารโรคมะเร็งยินดีรับบทความทางวิชาการ หรือเรื่องราวที่น่าสนใจเกี่ยวกับโรคมะเร็ง เพื่อพิจารณาตีพิมพ์ในวารสารฯ โดยคณะผู้จัดวารสารโรคมะเร็งขอให้ผู้นิพนธ์ส่งต้นฉบับซึ่งจัดเตรียมถูกต้องตามคำแนะนำในเอกสารนี้ มายัง

บรรณาธิการวารสารโรคมะเร็ง

กลุ่มงานสนับสนุนวิชาการ

สถาบันมะเร็งแห่งชาติ กรมการแพทย์

ถนนพระรามที่ 6 เขตราชเทวี

กรุงเทพฯ 10400

หรือทาง E-mail : nci_journal@hotmail.com

ประเภทของบทความ

นิพนธ์ต้นฉบับ (Original Articles)

ควรเขียนลำดับเป็นข้อๆ ได้แก่ บทคัดย่อ (ทั้งภาษาอังกฤษและภาษาไทย) บทนำสั้นๆ (เหตุผลที่ทำการศึกษานี้ รวมทั้งวัตถุประสงค์) วัสดุและวิธีการ ผลการศึกษา วิจาร์ณ สรุปรูป กิตติกรรมประกาศ และเอกสารอ้างอิง

รายงานผู้ป่วย (Case Report)

ควรประกอบด้วยบทคัดย่อ (ทั้งภาษาอังกฤษ และภาษาไทย) บทนำ รายงานผู้ป่วย บทวิจารณ์ ข้อคิดเห็น สรุปรูป และเอกสารอ้างอิง

บทความทางวิชาการหรือบทพินวิชาการ (Review Articles)

ควรเป็นบทความที่ให้ความรู้ รวบรวมสิ่งตรวจพบใหม่ หรือเรื่องที่น่าสนใจที่ผู้อ่านนำไปประยุกต์ได้ ประกอบด้วย บทนำ ความรู้เกี่ยวกับเรื่องที่เขียน และเอกสารอ้างอิง

การเตรียมต้นฉบับ

1. บทความที่ส่งมาเพื่อตีพิมพ์ต้องส่งต้นฉบับ 2 ชุด (พร้อมไฟล์) และต้องไม่เคยตีพิมพ์หรือกำลังส่งตีพิมพ์ที่ใด
2. บทความที่พิมพ์รับทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ ถ้าเป็นภาษาไทยควรหลีกเลี่ยงคำภาษาอังกฤษ ยกเว้นในกรณีจำเป็นเท่านั้น พยายามไม่ใช่คำย่อ นอกจากคำที่ยอมรับกันโดยทั่วไป
3. บทคัดย่อ ให้ย่อทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษไม่ว่าเนื้อเรื่องจะเป็นภาษาไทยหรือภาษาอังกฤษ และมีคำสำคัญ (Key words) ด้วย
4. ชื่อเรื่องและชื่อผู้เขียน ต้องมีทั้งภาษาไทย และภาษาอังกฤษ พร้อมด้วยสถาบันที่ทำงาน (ทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ) และระบุผู้เขียนที่สามารถติดต่อได้ (corresponding author)
5. ต้นฉบับต้องพิมพ์อย่างชัดเจนมีระยะ

ห่างระหว่างบรรทัด 2 ช่อง พิมพ์หน้าเดียวในกระดาษ A4 โดยพิมพ์ห่างจากขอบทุกด้าน 1 นิ้ว โดยตลอด และใส่เลขหน้าทางมุมขวาด้านบน

6. ภาพประกอบ ใช้ภาพขาวดำ ขนาดโปสเตอร์ ผิวน้ำเรียบเป็นมัน กำกับหมายเลขภาพที่ผู้เขียนได้ด้านหลังภาพทุกภาพ พิมพ์คำบรรยายภาพเป็นลำดับแยกไว้ในกระดาษอีกแผ่น หรือเป็นรูปดิจิทัล file.jpeg ความละเอียด 600 dpi กำกับหมายเลขภาพ และคำบรรยาย ส่งเป็นไฟล์แยกต่างหากจากเนื้อเรื่อง

7. ตาราง พิมพ์แยกต่างหากโดยมีหัวข้อ (title) และเชิงอรรถ (foot note) พร้อมทั้งอธิบายตัวย่อในตารางตลอดจนอักษรสำคัญทางสถิติอย่างครบถ้วน

8. เอกสารอ้างอิง ใช้ระบบแวนคูเวอร์ ซึ่งเป็นระบบที่ใช้กันอยู่ในวารสารทางการแพทย์ชั้นนำในขณะนี้ ให้กำกับการอ้างด้วยหมายเลขและเรียงลำดับการอ้างหมายเลขที่กำกับในรายชื่อเอกสารอ้างอิงจะต้องตรงกับหมายเลขในเนื้อเรื่องด้วย

การเขียนเอกสารอ้างอิง

8.1 จากวารสาร

วารสารภาษาอังกฤษ ประกอบด้วยชื่อผู้แต่ง (ถ้ามีผู้แต่งไม่เกิน 6 คน ให้ใส่ชื่อทุกคนแต่ถ้ามี 7 คนขึ้นไปให้ใส่เพียง 6 ชื่อแรก แล้วเติม et al.) ชื่อเต็มของบทความ ชื่อย่อวารสาร (ใช้ตาม Index Medicus) ปีที่พิมพ์; ปีที่หน้าแรก-หน้าสุดท้าย.

วารสารภาษาไทย ให้เขียนแบบเดียวกับภาษาอังกฤษเว้นแต่ชื่อผู้เขียนใช้ชื่อเต็มโดยใส่ชื่อตัวก่อนแล้วตามด้วยนามสกุลและใช้ปี พ.ศ.

ตัวอย่าง

1. Chariyalertsak S, Sirikulchayanonta V, Mayer D, Kopp-Schneider A, Fuerstenberger G,

Marks F, et al. Aberrant cyclooxygenase isozyme expression in human intrahepatic cholangio carcinoma. Gut 2001;48:80-6.

2. สุนันทา จริยาเลิศศักดิ์, พงษ์กิตติ ฐิติศุภกร, สุวัฒน์ จริยาเลิศศักดิ์. Proliferating Cell Nuclear Antigen ในผู้ป่วยมะเร็งเต้านม: บทบาทในการพยากรณ์โรค.วารสารโรคมะเร็ง 2542;25:1-6.

8.2 จากหนังสือและโมโนกราฟอย่างอื่น

8.2.1 ผู้นิพนธ์เป็นบุคคล ตัวอย่างเช่น

Getzen TE. Health economics: fundamental of funds. New York: John Wiley & Sons; 1997.

8.2.2 บรรณาธิการ ผู้รวบรวม ประพันธ์ที่เป็นผู้นิพนธ์ ตัวอย่างเช่น

Millares M, editor. Applied drug information: strategies for information management. Vancouver, WA: Applied Therapeutics, Inc.; 1998.

8.2.3 บทหนึ่งในหนังสือหรือตำรา ตัวอย่างเช่น

Porter RJ, Meldrum BS. Antiepileptic drugs. In: Katzung BG, editor. Basic and clinical pharmacology. 6th ed. Norwalk, CN:Appleton and Lange; 1995. p. 361-80.

8.2.4 หนังสือที่เป็นชุด (series) ตัวอย่างเช่น

Bennett GL, Horuk R. Iodination of chemokines for use in receptor binding analysis. In:Horuk R, editor. Chemokine receptors. New York: Academic Press; 1997. p. 134-48. (Methods in enzymology; vol 288).

หมายเหตุ : Chemokine receptors = ชื่อหนังสือ

Methods in enzymology = ชื่อหัวข้อเรื่อง
ของ series

8.2.5 หนังสือ proceeding ของการประชุม ตัวอย่างเช่น

Kimura J, Shibasaki H, editors. Recent advances in clinical neurophysiology. Proceedings of the 10th International Congress of EMG and Clinical Neurophysiology; 1995 Oct 15-19; Kyoto, Japan. Amsterdam: Elsevier; 1996.

8.2.6 เอกสารหรือแหล่งข้อมูลอื่น
เรื่องจากหนังสือพิมพ์ ตัวอย่างเช่น

Lee G. Hospitalizations tied to ozone pollution : study estimates 50,000 admissions annually. The Washington Post 1996 Jun 21; Sect. A: 3 (col.5).

เรื่องจากวารสารใน internet ตัวอย่างเช่น

Laporte RE, Marler E, Akazawa S, Sauer F. The death of biomedical journals. BMJ [serial

online]. 1995;310:1387-90. Available from: <http://www.bmj.com/bmj/archive/6991ed2.htm>. Accessed September 26, 1996.

เรื่องจาก web site ตัวอย่างเช่น

Health on the net foundation. Health on the net foundation code of conduct (HONcode) for medical and health web sites. Available at : <http://www.hon.ch/conduct.html>. Accessed June 30, 1998.



หนังสือแจ้งความจำนงลงโฆษณา ในวารสารโรคมะเร็ง

เขียนที่.....

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.....

ข้าพเจ้า.....ตำแหน่ง.....

ในนามของ.....เลขที่.....ถนน.....

ตำบล/แขวง.....อำเภอ/เขต.....จังหวัด.....

รหัสไปรษณีย์.....โทรศัพท์.....โทรสาร.....

มีความประสงค์ลงโฆษณาในวารสารโรคมะเร็ง

- ฉบับที่ 1 เดือน มกราคม - มีนาคม
- ฉบับที่ 2 เดือน เมษายน - มิถุนายน
- ฉบับที่ 3 เดือน กรกฎาคม - กันยายน
- ฉบับที่ 4 เดือน ตุลาคม - ธันวาคม

รวม.....ฉบับ

โดยลงโฆษณาในลักษณะ

- พิมพ์เนื้อใน 1/2 หน้า อัตรา 5,000 บาท ต่อ ฉบับ (1,000 เล่ม)
- พิมพ์เนื้อในเต็มหน้า อัตรา 10,000 บาท ต่อ ฉบับ (1,000 เล่ม)
- พิมพ์ปกหลังด้านใน 1/2 หน้า อัตรา 10,000 บาท ต่อ ฉบับ (1,000 เล่ม)
- พิมพ์ปกหลังด้านในเต็มหน้า อัตรา 20,000 บาท ต่อ ฉบับ (1,000 เล่ม)
- พิมพ์ปกหลังด้านนอกเต็มหน้า อัตรา 35,000 บาท ต่อ ฉบับ (1,000 เล่ม)
- โบแทรก อัตรา 6,000 บาท ต่อ ฉบับ (1,000 เล่ม)
- พิมพ์สี จ่ายค่าเพลทและค่าพิมพ์เพิ่ม 10,000 บาท

รวมเป็นเงินทั้งสิ้นจำนวน.....บาท

ตัวอักษร (.....) บาท

ลงนาม.....ผู้ส่งโฆษณา

(.....)

หมายเหตุ ถ้าลงโฆษณาทั้งปี (4 ฉบับ) จะลดค่าโฆษณาให้ 10 %

ส่งอาร์ตเวิร์ค / ข้อความโฆษณาทาง E-mail : nci_journal@hotmail.com

การชำระค่าโฆษณา ให้เขียนเช็คสั่งจ่ายในนาม “มูลนิธิสถาบันมะเร็งแห่งชาติ”



Legalon® 70/140

Improves liver function
Protects against liver damage



Legalon®

Contains

Silymarin MZ 80

A special milk thistle
(*Silybum marianum*)
fruit extract

Activated into

Silibinin

Active ingredient

Hepatoprotective
effects

Produces

Legalon® has been clinically proven to exert **significant hepatoprotective effects** due to its **high silibinin** content.

Clinically proven hepatoprotective effects in:

- Acute and chronic hepatitis
- Toxic metabolic liver damage
- Fatty liver
- Liver cirrhosis

Good safety record

Minimal side effects



Recommended dosage

	Legalon® 70 mg capsule	Legalon® 140 mg capsule
Therapeutic dose	2 cap, 3x daily	1 cap, 3x daily
Maintenance dose	1 cap, 3x daily	1 cap, 2x daily

ใบอนุญาตโฆษณาเลขที่ สค 908/48