Thesis Title The Correlation of IL-1β Gene Mutation and Pepsinogen Levels in Gastric Cancer Patients in Northern Thailand

Author Mr. Suparp Chaidatch

Degree Master of Science (Biochemistry)

Thesis Advisory Committee

Assoc. Prof. Dr. Luksana Makonkawkeyoon Chairperson

Asst. Prof. Dr. Sirikarn Yamada Member

Abstract

Interleukin-1beta (IL-1 β) point mutations in promoter region are associated with an increased risk of gastric cancer in the western population, and gastritis is reported to be related to gastric cancer. Point mutations at the IL-1β gene promoter serve as risk factors for peptic cancer via enhanced IL-1β production. These phenomena lead to an inhibition of gastric acid secretion and therefore an accumulation of free radicals which are the carcinogens. Measurements of plasma pepsinogens can be used to detect gastric cancer because cancer in the stomach causes atrophy of the mucosa, leading to the reduced secretion of pepsinogens. Pepsinogen I, which is produced directly from gastric chief cells is especially affected, while the isozyme Pepsinogen II, which is widely expression in many organs, including the prostate gland and the proximal duodenum, is stable in plasma. Furthermore, by examining the ratios of Pepsinogen I to Pepsinogen II, it is also possible to evaluate the risk for gastric cancer. Therefore, the study of IL-1 β gene polymorphism and pepsinogen levels in the northern Thai population can be useful for predicting the incidence of gastric cancer. In the present study, we investigated the correlation between the -511 mutation of the IL-1 β gene and the plasma pepsinogen levels in the northern

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

cancer group, undergoing upper gastrointestinal endoscopic surgery were collected. The DNA of white blood cells was extracted by the "salting out" technique and further precipitated into absolute ethanol. The extracted DNA samples were used as templates for amplifying the promoter of the IL-1B –511 mutation by Polymerase Chain Reaction (PCR) with one pair primer. The point mutation was examined by cutting the amplicon with *Ava*I restriction enzyme. The levels of Pepsinogen I and Pepsinogen II in the plasma were measured by a competitive radioimmunoassay (RIA) method. From these studies, we found that the 130 volunteers possessed three polymorphisms in the –511 promoter of IL-1 β gene: genotype C/C 33 cases (25.4%), genotype C/T 67 cases (51.5%), and genotype T/T 30 cases (23.1%). Measurements of the Pepsinogen I levels revealed that the gastric cancer group has a significantly lower level of Pepsinogen I than the benign gastritis group with p=0.03, but there is no difference in the Pepsinogen II levels. Hence, the pepsinogen I/II ratio trended lower in the gastric cancer patients than in the benign gastritis group with no significance factor. In the gastric cancer group, subjects with the C/C genotype had a Pepsinogen I/II ratio significantly higher than the C/T and T/T genotypes (p=0.012 and p=0.025, respectively). In the benign gastritis group, the C/T genotype had pepsinogen I/II ratio that was significantly highly than the C/C genotype (p=0.033). In conclusion, this study demonstrated that a decrease in plasma Pepsinogen I is associated with gastric cancer compared with the benign gastritis group. The –511 mutation of IL-1 β is associated with the plasma pepsinogen level in the northern Thai population, especially in the gastric cancer group, with the C/T and T/T genotypes associated with a high risk for gastric cancer more than the C/C genotype, according to the results from the Pepsinogen I/II ratio. These results demonstrate that determination of the IL-1 β mutation and measurement of pepsinogen levels can be used as a screening test for subjects at high risk for gastric cancer in the northern Thai population.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ ความสัมพันธ์ของการกลายยีน IL-1 β และระดับเพปซิโนเจนในผู้ป่วยโรคมะเร็งกระเพาะอาหารในภาคเหนือของประเทศไทย

ผู้เขียน นายสุภาพ ชัยเดช

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ชีวเคมี)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

รศ. ดร. ลักษณา มกรแก้วเกยูร ประธานกรรมการ
ผศ. ดร. สิริกาญจน์ ยามาดะ กรรมการ

บทคัดย่อ

การกลายแบบ point mutation ในบริเวณส่งเสริมของยีน IL-1 β มีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคมะเร็งกระเพาะอาหารในชาวตะวันตก และมีรายงานว่าการอักเสบของกระเพาะอาหารมีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคมะเร็งกระเพาะอาหาร โดยการกลายแบบ point mutation ที่บริเวณส่งเสริมของยีน IL-1 β มีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคมะเร็งกระเพาะอาหารโดยจะไปเพิ่มการหลั่ง IL-1β ซึ่งสามารถยับยั้งการหลั่งกรดในกระเพาะอาหารทำให้เกิดการสะสมของอนุมูลอิสระซึ่งเป็นสารก่อมะเร็ง นอกจากนี้การตรวจระดับ เพปซิโนเจน ในพลาสมาผู้ป่วยก็สามารถบ่งชี้การเกิดโรคมะเร็งกระเพาะอาหารได้ เพราะโรคมะเร็งกระเพาะอาหารจะมีการฝ่อลีบของเยื่อบุ mucosa ที่ทำการสร้างและหลั่ง เพปซิโนเจน ลดลงโดยเฉพาะ เพปซิโนเจน I ที่สร้างจาก Chief cell ในกระเพาะอาหารโดยตรง สำหรับ เพปซิโนเจน II ซึ่งเป็น Isozyme ที่สามารถสร้างได้จากอวัยวะหลายชนิดเช่น ในต่อมลูกหมาก และในลำไส้เล็กส่วนต้น ทำให้ปริมาณ เพปซิโนเจน II ในพลาสมามีค่าคงที่ การหาอัตราส่วนระหว่าง เพปซิโนเจน I ต่อ เพปซิโนเจน II จึงสามารถบอกอัตราเสี่ยงของโรคมะเร็งกระเพาะอาหารได้เช่นกัน ดังนั้นการศึกษาการมียีนหลายรูปแบบของ IL-1 β ร่วมกับการตรวจวัดระดับ เพปซิโนเจน ในประชากรไทยภาคเหนือ นั้นสมควรจะใช้เป็นตัวบ่งชี้หนึ่งที่สามารถนำไปใช้ตรวจแบบคัดกรองในผู้ที่มีความเสี่ยงต่อโรคมะเร็งกระเพาะอาหารก่อนเกิดการแสดงของโรคได้ดังนั้นการศึกษานี้ต้องการทราบความสัมพันธ์ระหว่างการกลายของยีน IL-1 β บริเวณ –511

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

และระดับ เพปซิโนเจน ในพลาสมาของประชากรภาคเหนือ โดยเก็บตัวอย่างเลือดจากอาสาสมัครทั้งหมด 130 รายแบ่งเป็นกลุ่มที่มีการอักเสบของกระเพาะอาหารจำนวน 81 ราย และกลุ่มที่เป็นโรคมะเร็งกระเพาะอาหาร 49 รายโดยทั้งหมดได้รับการวินิจฉัยด้วยการส่องกล้องโดยศัลยแพทย์มาทำการสกัดดีเอ็นเอจากเม็ดเลือดขาวด้วยวิธี salting out แล้วทำดีเอ็นเอให้บริสุทธิ์โดยตกตะกอนด้วยแอลกอฮอล์ จากนั้นนำดีเอ็นเอที่ได้มาเพิ่มขยายจีน โดยไพรเมอร์ 1 คู่ด้วยวิธี PCR เพื่อขยายยีน IL-1β บริเวณส่งเสริม –511 จากนั้นหา point mutation โดยใช้เอนไซม์ตัดจำเพาะ *Ava*I และวัดหาปริมาณ เพปซิโนเจน I และเพปซิโนเจนII ด้วยวิธี competitive radioimmunoassay (RIA) ตามลำดับ จากการศึกษาพบว่าพบว่าจากอาสาสมัครทั้งหมด 130 รายมีการกลายแบบ point mutation บนบริเวณส่งเสริมของยีน IL-1β –511สามรูปแบบได้แก่ จีโนไทปน์แบบ C/C จำนวน 33 รายคิดเป็นร้อยละ 25.4, จีโนไทปน์แบบ C/T จำนวน 67 รายคิดเป็นร้อยละ 51.5 และจีโนไทปน์แบบ T/T จำนวน 30 รายคิดเป็นร้อยละ 23.1 ตามลำดับ จากการตรวจวัดระดับ เพปซิโนเจน I พบว่าในกลุ่มผู้ป่วยด้วยโรคมะเร็งกระเพาะอาหารจะมีระดับ เพปซิโนเจน I ต่ำกว่ากลุ่มที่มีการอักเสบของกระเพาะอาหารอย่างมีนัยสำคัญ (p= 0.03) แต่ไม่พบความแตกต่างดังกล่าวจากการตรวจวัดระดับ เพปซิโนเจน II สำหรับอัตราส่วนระหว่าง เพปซิโนเจน I ต่อ เพปซิโนเจน II พบว่ากลุ่มผู้ป่วยด้วยโรคมะเร็งกระเพาะอาหารจะมีแนวโน้มของระดับ เพปซิโนเจน I ต่อ เพปซิโนเจน II ต่ำกว่ากลุ่มที่มีการอักเสบของกระเพาะอาหารอย่างไม่มีนัยสำคัญ นอกจากนี้ในผู้ป่วยโรคมะเร็งกระเพาะอาหารที่มีจีโนไทปน์แบบ C/C จะมีระดับ เพปซิโนเจน I ต่อ เพปซิโนเจน II สูงกว่าผู้ป่วยด้วยโรคมะเร็งกระเพาะอาหารที่มีจีโนไทป์แบบ C/T และ T/T อย่างมีนัยสำคัญ (p=0.012 และ p=0.025 ตามลำดับ) แต่ในกลุ่มที่มีการอักเสบของกระเพาะอาหารที่มีจีโนไทปน์แบบ C/T ของกระเพาะอาหารพบว่าระดับ เพปซิโนเจน I ต่อ เพปซิโนเจนII สูงกว่าในกลุ่มที่มีการอักเสบที่มีจีโนไทปน์แบบ C/C อย่างมีนัยสำคัญ (p= 0.033) ดังนั้นจากการศึกษาครั้งนี้พบว่าระดับ เพปซิโนเจน I มีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคมะเร็งกระเพาะอาหาร โดยพบว่าจะมีระดับต่ำกว่ากลุ่มคนที่มีการอักเสบของกระเพาะอาหาร และการกลายของยีน IL-1β บริเวณ –511 มีความสัมพันธ์ระดับ เพปซิโนเจน ในพลาสมาของประชากรไทยภาคเหนือ โดยเฉพาะในกลุ่มผู้ป่วยด้วยโรคมะเร็งกระเพาะอาหารจะพบว่า ผู้ที่มีจีโนไทปน์แบบ T/T และ C/T จะมีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคมะเร็งกระเพาะอาหารมากกว่ากลุ่มที่มีจีโนไทปน์แบบ C/C จากระดับ เพปซิโนเจน I ต่อ เพปซิโนเจน II ที่ลดลง จึงสรุปได้ว่าทั้งการตรวจหาการกลายของยีน IL-1β บริเวณ –511 และการตรวจวัดระดับของ เพปซิโนเจน เหมาะสมที่จะใช้เป็นตัวบ่งชี้หนึ่งที่สามารถนำไปใช้ตรวจแบบคัดกรองในผู้ที่มีความเสี่ยงต่อโรคมะเร็งกระเพาะอาหารในประชากรไทยภาคเหนือก่อนเกิดการแสดงของโรคได้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved