

<b>Thesis Title</b>	Comparison of the Frequency of HLA-DRB, -DQA1 and -DQB1 Alleles Between Rheumatoid Arthritis Patients and Normal Control in Northern Thailand	
<b>Author</b>	Mr. Pisut Komolsiri	
<b>Degree</b>	Master of Sciences (Microbiology)	
<b>Thesis Advisory Committee</b>	Assist. Prof. Dr. Chartchawann Apichartpiyakul	Chairperson
	Assist. Prof. Warunee Kunachiwa	Member
	Prof. Dr. Worawit Louthrenoo	Member

### ABSTRACT

Rheumatoid Arthritis (RA) is a common human autoimmune disease characterized by chronic inflammation of the synovial joints and progressive destruction of cartilage and bone. The cause of RA has not been elucidated, but it could possibly be associated with both genetic and environmental factors which, when combined, result in the disease process and its clinical outcome. It has been suggested that RA is associated with the HLA genes. The HLA gene contains many genes that encode proteins, which play an important role in the regulation of immune response. In initial reports of an association of HLA-DRB1\*04 with RA, certain DR and DQ alleles have proved to interact with RA. These reports suggested that the DR/DQ subregion might be more important than any other part of the HLA region in terms of defining the development of RA mechanisms. In

a sole study carried out in Thailand, HLA-DRB1\*0405 and HLA-DQB1\*0401 alleles were strongly associated with RA patients in central part of Thailand. However, variation in HLA class II (HLA-DRB1, -DQA1 and -DQB1) frequencies was observed in different part of Thailand, in which Thai ethnics are distinguished by ancestry, origin, language, culture and religion. In this study, the distribution of HLA-DRB1, -DQA1 and -DQB1 alleles were examined in 91 RA patients and 100 normal control in upper part of northern Thailand. The methods of PCR amplification at the polymorphic second exon and sequence specific oligonucleotide (SSO) probes hybridization typing for these alleles were performed. The allele frequency (AF) of DQA1\*0103, DQA1\*0301, DQB1\*03032, DQB1\*0401, DRB1\*0405 and DRB1\*0901 was significantly increased in the RA patients when compared with the normal controls. The AF of DQB1\*0301, DQB1\*05031 and DRB1\*1502 were significantly decreased in the RA patients when compared with the normal controls. However, DQA1\*0103, DQB1\*0301, DQB1\*03032, DQB1\*05031, DRB1\*1502 and DRB1\*0901 were not significantly different after *p* correction. Therefore, only the AF of DQA1\*0301, DQB1\*0401 and DRB1\*0405 alleles may be susceptibly associated with RA in northern Thais ( $\chi^2=14.75$ ,  $pc=0.0007$ ;  $\chi^2=9.06$ ,  $pc=0.0416$  and  $\chi^2=9.63$ ,  $pc=0.0399$ , respectively). Moreover, the frequency of DQA1\*0301, DQB1\*0401, and DRB1\*0405 showed a significant increase in the RF positive RA patients when compared to the normal controls ( $\chi^2=16.57$ ,  $pc=0.0007$ ;  $\chi^2=9.57$ ,  $pc=0.0320$  and  $\chi^2=11.86$ ,  $pc=0.0126$ , respectively). In the northern Thai population, DRB1\*0405 associated with susceptibility to RA, which is also the DRB1\*0405 allele with the highest frequency in the healthy northern Thais. This allele has been found primarily to associate with RA in many populations including Korean, Japanese, and Indian. The association of RA with the shared epitope is carried on the DRB1\*0405 allele. Due to the possibility of an association of HLA shared epitope with disease progression, the effect of high frequency DRB1\*0405 to disease severity in northern Thai RA patients is currently under investigation. However the explanation of this association remains to be elucidated.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์

การเปรียบเทียบความถี่ของ HLA-DRB, -DQA1 และ -  
DQB1 alleles ระหว่างผู้ป่วยโรคข้ออักเสบรูมาตอยด์กับคน  
ปกติในภาคเหนือของประเทศไทย

ผู้เขียน

นาย พิสุทธิ โกมลศิริ

ปริญญา

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (จุลชีววิทยา)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ผศ.ดร. ชัชวาลย์ อภิชาติปิยะกุล

ประธานกรรมการ

ผศ. วารุณี คุณาชีวะ

กรรมการ

ศ.นพ. วรวิทย์ เลหาเรณู

กรรมการ

บทคัดย่อ

โรคข้ออักเสบรูมาตอยด์เป็นโรคภูมิคุ้มกันต้านทานต่อตนเองที่พบได้บ่อยโดยโรคนี้มีลักษณะจำเพาะคือ มีการอักเสบเรื้อรังบริเวณข้อและทำให้เกิดข้อผิดรูปในที่สุด สาเหตุของการเกิดโรคข้ออักเสบรูมาตอยด์ ยังไม่ทราบแน่นอน แต่มีปัจจัยร่วมกัน 2 ปัจจัยที่ส่งเสริมให้เกิดโรคนี้ คือปัจจัยทางพันธุกรรมและปัจจัยจากสิ่งแวดล้อม ปัจจัยทางพันธุกรรมที่พบว่าเกี่ยวข้องกับโรคข้ออักเสบรูมาตอยด์คือ HLA ยีนยีนนี้ควบคุมการสร้างโปรตีนที่มีหน้าที่ควบคุมการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกัน จากการศึกษาพบว่า HLA-DRB1\*04 แอลลิลมีความสัมพันธ์กับโรคข้ออักเสบรูมาตอยด์ และพบว่าทั้ง HLA-DR และ -DQ แอลลิลมีความเกี่ยวข้องกับโรคข้ออักเสบรูมาตอยด์ การศึกษาเหล่านี้ชี้ให้เห็นว่า HLA-DR และ -DQ ยีนมีความสำคัญต่อการทำให้เกิดโรคข้ออักเสบรูมาตอยด์ได้มากกว่า HLA ยีนส่วนอื่นๆ จากการศึกษาในภาคกลางของประเทศไทยพบว่า HLA-DRB1\*0405 และ HLA-DQB1\*0401 แอลลิลเกี่ยวข้องกับโรคข้ออักเสบรูมาตอยด์ แม้ว่าจะมีการศึกษาในประเทศไทยแล้ว แต่การกระจายความถี่

ของ HLA class II (HLA-DRB1, -DQA1 and -DQB1) ยีนในแต่ละภาคของประเทศไทยมีความแตกต่างกันเนื่องจากคนไทยที่อาศัยอยู่ในแต่ละภาคของประเทศไทยเป็นกลุ่มคนไทยที่มีความแตกต่างกันในด้าน บรรพบุรุษ ชาติกำเนิด ภาษา ศิลปวัฒนธรรม และ ศาสนา ดังนั้นวัตถุประสงค์ของการศึกษานี้จึงได้ทำการตรวจหา HLA-DRB1 -DQA1 และ -DQB1 แอลลิล ในผู้ป่วยข้ออักเสบรูมาตอยด์จำนวน 91 ราย เปรียบเทียบกับที่ตรวจพบในคนปกติจำนวน 100 ราย โดยทั้ง 2 กลุ่มต้องเป็นคนภาคเหนือที่อาศัยอยู่ในภาคเหนือตอนบนของประเทศไทย โดยอาศัยเทคนิคการเพิ่มขยายปริมาณยีนโดยปฏิกิริยาลูกโซ่ (polymerase chain reaction) ร่วมกับ sequence specific oligonucleotide (SSO) probes hybridization ผลการทดลองพบว่าผู้ป่วยข้ออักเสบรูมาตอยด์มีความถี่ DQA1\*0103 DQA1\*0301 DQB1\*03032 DQB1\*0401 DRB1\*0405 และ DRB1\*0901 แอลลิลสูงกว่าในกลุ่มคนปกติ อย่างมีนัยสำคัญ ส่วนความถี่ของ DQB1\*0301 DQB1\*05031 และ DRB1\*1502 พบในคนปกติมากกว่าผู้ป่วยอย่างมีนัยสำคัญ แต่ความถี่ของ DQA1\*0103 DQB1\*0301 DQB1\*03032 DQB1\*05031 DRB1\*1502 และ DRB1\*0901 แอลลิล เมื่อคำนวณด้วยค่า  $p$  correction พบว่าแอลลิลเหล่านี้ไม่มีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคข้ออักเสบรูมาตอยด์อย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นความถี่ของ DQA1\*0301 DQB1\*0401 และ DRB1\*0405 แอลลิล เท่านั้นที่มีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคข้ออักเสบรูมาตอยด์อย่างมีนัยสำคัญ ( $\chi^2=14.75$ ,  $pc=0.0007$ ,  $\chi^2=9.06$ ;  $pc=0.0416$  และ  $\chi^2=9.63$ ,  $pc=0.0399$  ตามลำดับ) นอกจากนี้พบว่า ความถี่ของ DQA1\*0301 DQB1\*0401 และ DRB1\*0405 แอลลิลเพิ่มขึ้นในผู้ป่วยที่สร้างสารรูมาตอยด์แฟกเตอร์เมื่อเทียบกับคนปกติ อย่างมีนัยสำคัญ ( $\chi^2=16.57$ ,  $pc=0.0007$ ;  $\chi^2=9.57$ ,  $pc=0.0320$  และ  $\chi^2=11.86$ ,  $pc=0.0126$  ตามลำดับ) DRB1\*0405 มีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคข้ออักเสบรูมาตอยด์ในคนไทยภาคเหนือและพบ ความถี่ของ DRB1\*0405 ได้สูงที่สุดในคนภาคเหนือของประเทศไทย ซึ่ง DRB1\*0405 ยังพบที่มีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคข้ออักเสบรูมาตอยด์ในกลุ่มประชากรของประเทศต่างๆ เช่น ในกลุ่มคนเกาหลี ญี่ปุ่น และ อินเดีย นอกจากนี้ DRB1\*0405 แอลลิลยังควบคุมการสร้าง Shared epitope ที่มีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคข้ออักเสบรูมาตอยด์ ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่า DRB1\*0405 แอลลิลที่ควบคุมการสร้าง Shared epitope นี้มีความสัมพันธ์กับการดำเนินโรคของโรคข้ออักเสบรูมาตอยด์ และสัมพันธ์กับความรุนแรงของโรคข้ออักเสบรูมาตอยด์ในผู้ป่วยโรคข้ออักเสบรูมาตอยด์ที่เป็นคนภาคเหนือ อย่างไรก็ตามการอธิบายความสัมพันธ์ต่างๆ เหล่านี้กับ DRB1\*0405 แอลลิล ควรทำการศึกษาเพิ่มเติมต่อไป