

Thesis Title	Determination of the Association between HLA-DQA1, HLA-DQB1 and HLA-DRB1 Loci with Graves' Disease in the Northern Thai Population		
Author	Miss Kwanjai Viputtigul		
M.Sc.	Microbiology		
Examining Committee :	Associate Prof. Dr. Niwat Maneekarn	Chairman	
	Assistant Prof. Dr. Umnat Mevatee	Member	
	Assistant Prof. Dr. Ampica Mangklabruks	Member	
	Dr. Nopporn Sittisombut	Member	

ABSTRACT

Graves' disease (GD) is an autoimmune disease of the thyroid gland. While the etiology of this disease is still unknown, genetic factor is believed to be one of the predisposing factors because patients presenting with Graves' disease frequently described a family history of autoimmune diseases. The human leukocyte antigen (HLA) complex is one of the genetic loci which may contribute to the development of Graves' disease. To investigate the association of Graves' disease and the HLA genes in northern Thai patients, polymerase chain reaction (PCR) followed by dot-blot hybridization with sequence-specific oligonucleotide (SSO) probes were employed to determine 7 HLA-DQA1 alleles, 13 HLA-DQB1 alleles and 19 HLA-DRB1 alleles among 178 patients with Graves' disease (70 males, 108 females) from northern Thailand. Comparison of the HLA gene frequency and antigen frequency between the patient group and healthy controls (117 total, 113 males, 4 females) revealed three interesting findings. 1) The allele frequency of subjects positive for HLA-DQA1*0601 allele (GD, 2.8 % vs. control 12.0 %, $pc = 0.00007$, $RR = 0.21$) and HLA-DRB1*1202 (GD, 3.7 % vs. control, 14.4 %, $pc = 0.00006$, $RR = 0.23$) were significantly decreased among Graves' disease patients. The preventive fraction conferred by the alleles HLA-DQA1*0601 and HLA-DRB1*1202 were 9 % and 11 %, respectively. Similarly, the reduction of an HLA-DRB1*1202-DQA1*0601-DQB1*0301 haplotype frequency among the patient group was also significant (GD, 2.9 % vs. 11.1 % of control, $pc = 0.002$, $RR = 0.24$). 2) Among patients

with relapse/exacerbation, the HLA-DQB1*03032 and the HLA-DRB1*09012 alleles were significantly increased (GD, 24.1% vs. 12.0 % controls, $p = 0.02$, RR = 2.33; GD, 25.0 % vs. 13.1 % controls, $p = 0.04$, RR = 2.20, respectively). The etiologic fraction (EF) conferred by the allele HLA-DQB1*03032 and HLA-DRB1*09012 were 13.8 % and 13.6% respectively. 3) The HLA-DQA1 alleles with tyrosine at position 25 and leucine at position 69 were significantly more frequent in Graves' patients (95.1 %; 39.5 %, respectively) when compared with controls (82.9 %; 30.8%, respectively) (RR= 4.11, $p = 0.0000007$, EF = 71.9 %; RR= 1.48, $p = 0.028$, EF = 12.8 %, respectively). The findings also confirmed the lack of association of the HLA-DR3 allele with Graves' disease in the Oriental populations.

ชื่อวิทยานิพนธ์	การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่าง HLA-DQA1, HLA-DQB1 และ HLA-DRB1 loci กับโรค Graves ในกลุ่มประชากรภาคเหนือ		
ชื่อผู้เขียน	นางสาว ขวัญใจ วิพุทธิกุล		
วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต	สาขาจุลชีววิทยา		
คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์:	รศ. ดร. นีวัฒน์	มณีกาญจน์	ประธานกรรมการ
	ผศ. ดร. อำนวย	มีเวที	กรรมการ
	ผศ. พญ. อัมพิกา	มังคละพฤษ์	กรรมการ
	อ. นพ. นพพร	สิทธิสมบัติ	กรรมการ

บทคัดย่อ

Graves' disease เป็นโรค autoimmune ของต่อมไทรอยด์ชนิดหนึ่ง สาเหตุของโรคนั้นยังไม่ทราบแน่นอน เชื่อกันว่าปัจจัยที่สำคัญที่ทำให้เกิดโรค Graves คือปัจจัยทางพันธุกรรม ทั้งนี้เพราะมักจะพบผู้ป่วยที่มีโรค Graves ในครอบครัวที่มีประวัติเป็นโรค autoimmune อื่นๆ Histocompatibility Leukocyte Antigen (HLA) complex เป็นกลุ่มของยีนที่อาจมีบทบาทสำคัญทางด้านพันธุกรรมที่ชักนำให้เกิดโรค Graves เพื่อที่จะหาความสัมพันธ์ระหว่างการเป็นโรค Graves กับยีนของ HLA ได้ใช้วิธี polymerase chain reaction (PCR) ร่วมกับวิธี sequence-specific oligonucleotide (SSO) dot blot hybridization ซึ่งสามารถแยกยีนของ HLA-DQA1 ได้ 7 อัลลีล ยีนของ HLA-DQB1 ได้ 13 อัลลีล และยีนของ HLA-DRB1 ได้ 19 อัลลีล ทำการศึกษาผู้ป่วยโรค Graves ทั้งหมด 178 คน แบ่งเป็นผู้ป่วยชาย 70 คน ผู้ป่วยหญิง 108 คน เปรียบเทียบกับกลุ่มคนปกติจำนวน 117 คนแบ่งเป็นผู้ชาย 113 คน ผู้หญิง 4 คน ผลการศึกษากลับนี้สามารถแบ่งได้เป็น 3 กลุ่มดังต่อไปนี้ 1) ผู้ป่วยโรค Graves มีความถี่ของอัลลีลของ HLA-DQA1*0601 อัลลีลเท่ากับ 2.8 % แต่ในคนปกติพบ 12 % และ HLA-DRB1*1202 อัลลีลมีความถี่ของอัลลีลเท่ากับ 3.7 % ในขณะที่คนปกติพบสูงถึง 14.4 % เมื่อพิจารณาค่าความถี่ของอัลลีลทั้งสอง ค่าของความถี่ในกลุ่มผู้ป่วยลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับของ

กลุ่มคนปกติ โดยสามารถคำนวณค่าความเสี่ยงที่จะเกิดโรค Graves ในผู้ป่วยที่มี HLA-DQA1*0601 อัลลีลเท่ากับ 0.21 (RR = 0.21) ของคนปกติที่มีอัลลีลนี้ (pc = 0.00007) และผู้ป่วยที่มี HLA-DRB1*1202 อัลลีลเท่ากับ 0.23 (RR = 0.23) ของคนปกติที่มีอัลลีลนี้ (pc = 0.00006) ค่า preventive fraction ของ HLA-DQA1*0601 อัลลีลและ HLA-DRB1*1202 อัลลีลเท่ากับ 9 % และ 11 % ตามลำดับ เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบค่าความถี่ของ HLA-DRB1*1202-DQA1*0601-DQB1*0301 haplotype ของกลุ่มผู้ป่วยเท่ากับ 2.9 % เทียบกับของคนปกติเท่ากับ 11.1 % พบว่ามีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญเช่นเดียวกัน (pc = 0.002) โดยมีค่าความเสี่ยงเท่ากับ 0.24 (RR = 0.24) 2) กลุ่มผู้ป่วย Graves ที่มีความผิดปกติ relapse/exacerbation มีค่าความถี่ของอัลลีลของ HLA-DQB1*03032 อัลลีล และ HLA-DRB1*09012 อัลลีลของกลุ่มผู้ป่วย Graves สูงกว่าของคนปกติอย่างมีนัยสำคัญ HLA-DQB1*03032 ของผู้ป่วย Graves มีค่าความถี่เท่ากับ 24.1 % เทียบกับของคนปกติซึ่งเท่ากับ 12 % มีค่าความเสี่ยงเท่ากับ 2.33 (RR = 2.33, pc = 0.02) ส่วนอัลลีล HLA-DRB1*09012 ที่พบในกลุ่มผู้ป่วย Graves มีค่าความถี่เท่ากับ 25.0 % เทียบกับของคนปกติซึ่งเท่ากับ 13.1 % มีค่าความเสี่ยงเท่ากับ 2.20 (RR = 2.20, pc = 0.04) ค่า etiologic fraction ของ HLA-DQB1*03032 อัลลีลและ HLA-DRB1*09012 อัลลีลเท่ากับ 13.8 % และ 13.6 % ตามลำดับ 3) กลุ่มผู้ป่วยที่มีโมเลกุลของ HLA-DQA1 ที่มีกรดอะมิโน Tyrosine ตำแหน่งที่ 25 และ Leucine ตำแหน่งที่ 69 มีความถี่เท่ากับ 95.1 % และ 39.5 % ตามลำดับ เทียบกับของคนปกติซึ่งเท่ากับ 82.9 % และ 30.8 % ตามลำดับ นับเป็นความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (p = 0.0000007 และ p = 0.028) และมีค่าความเสี่ยงสูงกว่ากลุ่มคนปกติ 4.11 (RR = 4.11) และ 1.48 (RR = 1.48) เท่าตามลำดับ ค่า etiologic fraction ของการที่มีโมเลกุล HLA-DQA1 ที่มีกรดอะมิโน Tyrosine ตำแหน่งที่ 25 และ Leucine ตำแหน่งที่ 69 เท่ากับ 71.9 % และ 12.8 % ตามลำดับ การศึกษาครั้งนี้ยังได้สนับสนุนผลการศึกษากลุ่มประชากรชาวตะวันออกที่ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างโมเลกุลของ HLA-DR3 กับการเป็นโรค Graves