

**ASSOCIATIONS AMONG HELICOBACTER PYLORI, HEPATITIS B,
HEPATITIS C AND OPISTHORCHIS VIVERRINI WITH
HEPATOCELLULAR CARCINOMA AND
CHOLANGIOCARCINOMA**

NITHIKOON SUKSUMEK

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE (PUBLIC HEALTH)
MAJOR IN INFECTIOUS DISEASES AND EPIDEMIOLOGY
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY**

2006

ISBN 974-04-7641-4

COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY

ความสัมพันธ์ระหว่างการติดเชื้อ HELICOBACTER PYLORI ไวรัสตับอักเสบ บี ไวรัสตับอักเสบ ซี และพยาธิใบไม้ตับ OPISTHORCHIS VIVERRINI กับโรคมะเร็งของเซลล์ตับและมะเร็งท่อน้ำดี (ASSOCIATIONS AMONG HELICOBACTER PYLORI, HEPATITIS B, HEPATITIS C AND OPISTHORCHIS VIVERRINI WITH HEPATOCELLULAR CARCINOMA AND CHOLANGIOCARCINOMA)

นิธิกุล สุขสุเมฆ 4737300 PHPH/M

วท.ม. (สาขารณสุขศาสตร์) สาขาวิชาเอกโรคติดเชื้อและวิทยาการระบาด

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ : อูยา เล็กอุทัย, Dr.P.H., กวิญ ลิละวัฒน์, Ph.D.

บทคัดย่อ

สาเหตุสำคัญของการเกิดโรคมะเร็งของเซลล์ตับในประเทศไทยได้แก่การติดเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี และ ซี ส่วนการเกิดโรคมะเร็งท่อน้ำดีได้แก่การติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *Opisthorchis viverrini* เมื่อไม่นานมานี้มีการค้นพบเชื้อแบคทีเรีย *Helicobacter pylori* ในท่อน้ำดี การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี และ ซี เชื้อแบคทีเรีย *H. pylori* และ พยาธิใบไม้ตับ *Opisthorchis viverrini* ในผู้ป่วยโรคมะเร็งของเซลล์ตับและผู้ป่วยโรคมะเร็งท่อน้ำดี โดยมีวัตถุประสงค์ 4 ข้อคือ (1) เพื่อการตรวจหาดีเอ็นเอของ *Opisthorchis viverrini* จากชิ้นเนื้อตับด้วยวิธี Real-time PCR โดยใช้ TaqMan Probe (2) การตรวจหาดีเอ็นเอของ *H. pylori* จากชิ้นเนื้อตับด้วยวิธี Real-time PCR โดยใช้ SYBR-Green (3) การตรวจหาแอนติบอดีต่อไวรัสตับอักเสบ ซี ด้วยวิธี Microparticle Enzyme Immunoassay (MEIA) และ (4) การตรวจหาแอนติเจนของไวรัสตับอักเสบ บี ที่ผิวเม็ดเลือดแดง ด้วยวิธี Sandwich ELISA assay โดยเริ่มตั้งแต่เดือนตุลาคม 2548 ถึงเดือน พฤษภาคม 2549 ผู้ป่วยกลุ่มตัวอย่างจำนวน 18 ราย เป็นผู้ป่วยโรคมะเร็งของเซลล์ตับ 12 ราย และผู้ป่วยโรคมะเร็งท่อน้ำดี 6 ราย ถูกเก็บตัวอย่างเลือดและตัวอย่างชิ้นเนื้อตับส่วนที่เป็นมะเร็งและส่วนชิ้นเนื้อปกติ ผลการศึกษาในกลุ่มผู้ป่วยโรคมะเร็งของเซลล์ตับ พบว่าการตรวจหาแอนติเจนของไวรัสตับอักเสบ บี ที่ผิวเม็ดเลือดแดง ตัวอย่างเลือดให้ผลบวก 6 ราย และการตรวจหาแอนติบอดีต่อไวรัสตับอักเสบ ซี ตัวอย่างเลือดทั้งหมดให้ผลลบ ตัวอย่างชิ้นเนื้อส่วนที่เป็นมะเร็งและส่วนชิ้นเนื้อปกติทั้งหมดตรวจพบดีเอ็นเอของ *H. pylori* และตรวจพบดีเอ็นเอของ *Opisthorchis viverrini* ในชิ้นเนื้อตับส่วนที่เป็นมะเร็ง 7 ราย และในชิ้นเนื้อปกติพบ 10 ราย ในกลุ่มผู้ป่วยโรคมะเร็งท่อน้ำดีพบว่า ทั้งการตรวจหาแอนติเจนของไวรัสตับอักเสบ บี ที่ผิวเม็ดเลือดแดงและการตรวจหาแอนติบอดีต่อไวรัสตับอักเสบ ซี ตัวอย่างเลือดทั้งหมดให้ผลลบ ตัวอย่างชิ้นเนื้อส่วนที่เป็นมะเร็งและส่วนชิ้นเนื้อปกติทั้งหมดตรวจพบดีเอ็นเอของ *H. pylori* และตรวจพบดีเอ็นเอ *Opisthorchis viverrini* ในชิ้นเนื้อตับส่วนที่เป็นมะเร็ง 5 ใน 6 ราย ในชิ้นเนื้อปกติพบทั้งหมด 5 ราย ผลการตรวจดีเอ็นเอของ *H. pylori* พบว่าให้ผลบวกทั้งในกลุ่มผู้ป่วยโรคมะเร็งของเซลล์ตับและกลุ่มผู้ป่วยโรคมะเร็งท่อน้ำดี รวมทั้งผู้ป่วยโรคมะเร็งชนิดอื่นที่เป็นกลุ่มควบคุมด้วยเมื่อศึกษาถึงความสัมพันธ์ของมะเร็งตับกับการติดเชื้อชนิดต่างๆ พบว่าการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี มีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญ ($P=0.0576$; 90%CI) และพบว่าการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *Opisthorchis viverrini* กับชนิดของมะเร็งไม่มีความสัมพันธ์กัน ($P=0.193$; 90%CI) การศึกษารุ่นนี้เป็นผลการศึกษาขั้นต้น (Preliminary result) ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อการวิจัยด้านปัจจัยสาเหตุของโรคมะเร็งตับต่อไป

ASSOCIATIONS AMONG HELICOBACTER PYLORI, HEPATITIS B, HEPATITIS C AND OPISTHORCHIS VIVERRINI WITH HEPATOCELLULAR CARCINOMA AND CHOLANGIOCARCINOMA

NITHIKOON SUKSUMEK 4737300 PPH/M

M.Sc.(PUBLIC HEALTH) MAJOR IN INFECTIOUS DISEASES AND EPIDEMIOLOGY

THESIS ADVISORS: USA LEK-UTHAI, Dr.P.H., KAWIN LEELAWAT, Ph.D.

ABSTRACT

In Thailand, important risk factors for hepatocellular carcinoma (HCC) and cholangiocarcinoma (CCA) are infection by the Hepatitis viruses B and C (HBV/HCV) and the parasite *Opisthorchis viverrini*. The recent discovery of *Helicobacter pylori* in human bile suggests that these bacteria might be able to colonize the biliary tract and cause hepatobiliary diseases. The objective was to study the associations of *H. pylori*, HBV, HCV and *Opisthorchis viverrini* in patients with HCC and CCA. The general objectives were firstly to detect the DNA of *Opisthorchis viverrini* from liver tissues by real-time PCR using the TaqMan Probe, secondly to detect the DNA of *H. pylori* from liver tissues by real-time PCR using SYBR Green, thirdly to detect antibody of Hepatitis C virus from serum by microparticle enzyme immunoassay (MEIA), and finally to detect Hepatitis B surface antigen from serum by sandwich ELISA assay. From October 2005 to May 2006, blood and tumor and normal liver biopsies were collected from 12 HCC patients and 6 CCA patients. In the HCC group, 6 serum samples were found of HBsAg, but all serum samples were not found to have anti-HCV. All tumor and normal liver tissues from HCC group detected *H. pylori* DNA. *Opisthorchis viverrini* DNA was found in tumor and normal liver tissue in 7 and 10 samples, respectively. For CCA group, all serum samples were not found in HBsAg and anti-HCV. All tumor and normal liver tissues from CCA group were found to have *H. pylori* DNA. Five of six tumors and all five normal liver tissues from CCA group were found to have *Opisthorchis viverrini* DNA. Interestingly, *H. pylori* was found in all 35 study samples. Three cases of intrahepatic duct stones and two cases of colon cancer with metastasis were in the control group and were *H. pylori* positive. HBV infection was significantly associated with liver cancer (P=0.0576; 90%CI). The presence of *Opisthorchis viverrini* was not significantly associated with liver cancer (P=0.193; 90%CI). In the future, prospective studies are necessary to assess the potential cofactor role of *Helicobacter* species in the development of primary liver carcinoma in humans, especially in the context of HBV, HCV and *Opisthorchis viverrini* infections. This study will be a preliminary result to support and benefit future research with appropriate proper sample size of HCC and CCA groups and to determinate the factors of a causative agent related to liver cancer using an appropriate technique.

KEY WORDS: HEPATOCELLULAR CARCINOMA / CHOLANGIOCARCINOMA /
HELICOBACTER PYLORI / OPISTHORCHIS VIVERRINI / REAL-TIME PCR

104 P. ISBN 974-04-7641-4