

Thesis Title	Relationship Between Genetic Polymorphisms of the <i>CYP2A6</i> Gene and Smoking Behavior in the Northern Thai Subjects	
Author	Miss Napapan Sakuludomkan	
Degree	Master of Science (Physiology)	
Thesis Advisory committee	Asst. Prof. Dr. Pornpimon Tangchaisin	Chairperson
	Asst. Prof. Dr. Ngamwong Jarusuraisin	Member

ABSTRACT

Nicotine is the primary compound in tobacco that is responsible for establishing and maintaining tobacco dependence. Nicotine-dependent smokers adjust their smoking to maintain constant blood and brain nicotine levels. It has been reported that human cytochrome P450 (CYP) 2A6 plays an important role in the metabolic inactivation of nicotine which is responsible for nicotine dependence. Genetic polymorphisms in the *CYP2A6* gene have been shown to have large interindividual and interethnic variability in levels of expression and activity. Therefore, this study aims to investigate the *CYP2A6* allele and genotype frequencies, and to elucidate whether there is the relation between the *CYP2A6* polymorphisms and smoking behavior in the Northern Thai subjects.

The *CYP2A6* genetic variations were determined by a PCR-based method coupled with RFLP, allele-specific PCR and real-time PCR analysis in 118 non-smoking healthy controls and 121 nicotine-dependent smokers. All nicotine-dependent smokers met the DSM-IV criteria for nicotine dependence. They were also assessed the dependent severity by Fagerstrom Test for Nicotine Dependence (FTND). Among control group, the variant frequencies of *CYP2A6*1A*, *CYP2A6*1B* (designed as wild-type), *CYP2A6*4C* (whole deletion), *CYP2A6*7* (SNP in exon 9; T1412C) and *CYP2A6*9* (SNP in TATA box; T-48G) alleles were 37.7%, 33.5%, 5.5%, 6.4%, and 16.9%, respectively, whilst nicotine-dependent smoker group were 30.2%, 34.3%, 9.1%,

9.5% and 16.9%, respectively. There was no significant difference in the *CYP2A6* allele and genotype frequencies between nicotine-dependent smokers and control subjects (χ^2 ; $P > 0.05$). Nevertheless, nicotine-dependent smokers who carried two defective alleles (12.7%) tended to smoke fewer cigarettes and show less mean FTND score (10.06 ± 4.78 cpd and 4.56 ± 0.73) than those who genotyped as homozygous wild-type (42.1%) (11.25 ± 6.96 cpd and 4.76 ± 1.12), although no statistically significant difference (one-way ANOVA, $P > 0.05$) was found. However, individuals who carried only one defective allele seemed to smoke slightly more cigarettes and show a higher mean FTND score (12.78 ± 6.80 cpd and 4.91 ± 1.19) than homozygous wild-type, even not statistically significantly difference (one-way ANOVA, $P > 0.05$). This study also found that individuals with one or two defective alleles began smoking earlier (17.85 ± 3.95 years for one defective allele and 17.56 ± 4.65 years for two defective alleles) than did individuals with wild-type alleles (18.71 ± 6.11 years).

These results demonstrated that the *CYP2A6* genetic polymorphisms do exist in various frequencies. The distribution of the *CYP2A6* alleles and genotypes showed no statistically significant effect on low level of nicotine dependence (mean FTND score 4.80 ± 1.10) smoking behavior for the Northern Thai subjects. However, the results did not show any relationship between *CYP2A6* genotype and heavy smoking behavior in nicotine-dependence smokers. Consequently, the frequency of the allele certainly causing a lack of CYP2A6 in this study was too small.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	ความสัมพันธ์ระหว่างการมีหลายรูปแบบของยีน <i>CYP2A6</i> และ พฤติกรรมการสูบบุหรี่ของคนไทยในภาคเหนือ	
ผู้เขียน	นางสาวณภาพันท์ สกลอุดมกาญจน์	
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (สรีรวิทยา)	
คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	ผศ.ดร. พรภิมล ตั้งชัยสิน	ประธานกรรมการ
	ผศ. จามวงศ์ จรัสสุไรสิน	กรรมการ

บทคัดย่อ

นิโคตินเป็นสารออกฤทธิ์หลักในบุหรี่ซึ่งทำให้ผู้สูบบุหรี่ติดบุหรี่และพยายามหลีกเลี่ยงอาการขาดบุหรี่โดยมีพฤติกรรมสูบบุหรี่เพื่อรักษาระดับนิโคตินในกระแสเลือดและสมองให้คงที่มีรายงานว่า Cytochrome P450 (CYP) 2A6 ในคน มีบทบาทสำคัญในกระบวนการเมแทบอลิซึมที่หยุดยั้งการทำงานของนิโคตินซึ่งตอบสนองต่อการติดบุหรี่ การมีหลายรูปแบบของยีน *CYP2A6* ทำให้มีระดับการแสดงออกและการทำงานของยีนแตกต่างกันในระหว่างบุคคลและเชื้อชาติอย่างมาก ดังนั้นการศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจหาความถี่ของอัลลีลและจีโนไทป์ ของยีน *CYP2A6* และเพื่ออธิบายความสัมพันธ์ระหว่างการมีหลายรูปแบบของยีน *CYP2A6* และพฤติกรรมการสูบบุหรี่ของคนไทยในภาคเหนือ

ความผันแปรทางพันธุกรรมของยีน *CYP2A6* ถูกตรวจสอบโดยเทคนิค PCR ร่วมกับ RFLP, allele-specific PCR และ real-time PCR ในกลุ่มอาสาสมัครสุขภาพดีที่ไม่สูบบุหรี่ 118 คน และในกลุ่มอาสาสมัครสุขภาพดีที่ติดบุหรี่ 121 คน ผู้สูบบุหรี่ทุกคนผ่านเกณฑ์การประเมินสำหรับการติดนิโคตินด้วย DSM-IV และประเมินความรุนแรงการติดบุหรี่ด้วย FTND ในกลุ่มควบคุม ความถี่ของ *CYP2A6*1A*, *CYP2A6*1B* (อัลลีลปกติ), *CYP2A6*4C* (อัลลีลที่มีการขาดหายไปทั้งยีน), *CYP2A6*7* (SNP ใน exon 9; T1412C) และ *CYP2A6*9* (SNP ใน TATA box; T-48G) เท่ากับ 37.7%, 33.5%, 5.5%, 6.4%, และ 16.9% ตามลำดับ ขณะที่ในกลุ่มผู้สูบบุหรี่เท่ากับ 30.2%, 34.3%, 9.1%, 9.5% และ 16.9% ตามลำดับ ซึ่งไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างความถี่ของอัลลีลและจีโนไทป์ของยีน *CYP2A6* ระหว่างกลุ่มผู้สูบบุหรี่และกลุ่มควบคุม (χ^2 ; $P > 0.05$) อย่างไรก็ตามผู้สูบบุหรี่ที่มีสอง defective alleles (12.7%) มีแนวโน้มที่จะสูบบุหรี่และมีค่าเฉลี่ยของคะแนน FTND (10.06 ± 4.78 มวนต่อวัน และ 4.56 ± 0.73) น้อยกว่าคนที่

homozygous wild-type (42.1%) (11.25 ± 6.96 มวนต่อวัน และ 4.76 ± 1.12) แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (one-way ANOVA, $P > 0.05$) อย่างไรก็ตามผู้ที่ติดบุหรี่ที่มีหนึ่ง defective allele มีการสูบบุหรี่และมีค่าเฉลี่ยของคะแนน FTND (11.25 ± 6.96 มวนต่อวัน และ 4.76 ± 1.12) สูงกว่าคนที่มี homozygous wild-type เล็กน้อย แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (one-way ANOVA, $P > 0.05$) นอกจากนี้ คนที่มีหนึ่งหรือสอง defective alleles เริ่มสูบบุหรี่เร็วกว่า (อายุเฉลี่ย 17.85 ± 3.95 ปี สำหรับหนึ่ง defective allele และ 17.56 ± 4.65 ปี สำหรับสอง defective alleles) คนที่มี homozygous wild-type alleles (อายุเฉลี่ย 18.71 ± 6.11 ปี)

จากผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า การมีหลายรูปแบบของยีน *CYP2A6* ของคนไทยในภาคเหนือพบว่ามีค่าที่แตกต่างกัน การกระจายของอัลลีลและจีโนไทป์ของยีน *CYP2A6* ของคนไทยในภาคเหนือไม่มีผลต่อผู้สูบบุหรี่ในระดับต่ำ (คะแนนเฉลี่ย FTND 4.80 ± 1.10) อย่างไรก็ตามผลการทดลองนี้ไม่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างจีโนไทป์ของยีน *CYP2A6* และผู้สูบบุหรี่รุนแรง นอกจากนี้ยังตรวจพบความถี่ของอัลลีลที่ขาดการทำงานของ *CYP2A6* น้อยเกินไปในการศึกษานี้