

การตรวจวิเคราะห์ยีนทางเภสัชพันธุศาสตร์ NAT2 เพื่อใช้ประกอบการปรับระดับยาต้านวัณโรค Isoniazid

ข้อมูลโดย ธนวรรณ อยู่ผาสุข

วัณโรค (Tuberculosis, TB) เป็นการติดเชื้อในระบบทางเดินหายใจเรื้อรังที่พบได้บ่อยที่สุด จากรายงานขององค์การอนามัยโลก (World Health Organization, WHO) คาดประมาณ พ.ศ. 2565 ทั่วโลกมีอุบัติการณ์วัณโรค 133 ต่อประชากรแสนคนหรือจำนวน 10.6 ล้านคน ประเทศไทยเป็น 1 ใน 30 ประเทศ ที่พบปัญหาการติดเชื้อวัณโรค คาดประมาณมีอุบัติการณ์วัณโรค 155 ต่อประชากรแสนคนหรือจำนวน 111,000 คน จากการรวบรวมผลการดำเนินงานวัณโรคจากหน่วยบริการตรวจวินิจฉัยและรักษาผู้ป่วยวัณโรคทั่วประเทศ ปีงบประมาณ พ.ศ. 2566 (ข้อมูล วันที่ 15 ธันวาคม 2566) จำนวน 1,204 แห่ง พบว่ามีผู้ป่วยวัณโรครายใหม่และกลับเป็นซ้ำทั้งคนไทยและไม่ใช้คนไทย ขึ้นทะเบียนรักษา จำนวน 78,955 ราย อัตราผลสำเร็จของการรักษาวัณโรคในผู้ป่วยรายใหม่และกลับเป็นซ้ำที่ขึ้นทะเบียนรักษา พ.ศ. 2565 พบอัตราความสำเร็จในการรักษาร้อยละ 79.8 สาเหตุหลักที่ทำให้ไม่ประสบความสำเร็จในการรักษามาจากการเสียชีวิตร้อยละ 9.8 และขาดยาร้อยละ 5.6

ยารักษาวัณโรคมีหลายตัวยา และหลายสูตรยา ที่ใช้ยาหลายตัวประกอบกัน โดยยารักษาวัณโรคแบ่งได้เป็น 2 ประเภท ได้แก่ ยาอันดับแรก (first line drug) และยาอันดับรอง (second line drug) สำหรับแนวทางการรักษาวัณโรคที่ไม่ดื้อยา จะเป็นการรักษาด้วยยา 4 ชนิดร่วมกันในช่วง 2 เดือนแรก หรือ ระยะเข้มข้น ประกอบด้วยยา isoniazid, rifampicin, pyrazinamide, และ ethambutol ตามด้วยการรักษาระยะต่อเนื่องด้วยยา 2 ชนิด คือ isoniazid และ rifampicin เป็นเวลาอย่างน้อย 4 เดือน รวมระยะเวลาการรักษาทั้งหมดอย่างน้อย 6 เดือน ซึ่งผลข้างเคียงของยาต้านวัณโรคที่มีผลทำให้ระยะเวลาการรักษามากขึ้นหรือทำให้การรักษาล้มเหลว เช่น อาการคลื่นไส้ อาเจียน อาการผื่นแพ้ยา และภาวะพิษต่อตับ ซึ่งเกิดได้ทั้งชนิด hepatocellular hepatitis และ cholestatic jaundice อัตราการเกิดภาวะพิษต่อตับพบได้ร้อยละ 11.50 โดยเฉพาะจากยา isoniazid ซึ่งมีรายงานการวิจัยพบว่าเกิดจากการย่อยสลายยาช้า (slow acetylator) ทำให้มีเมตาบอไลต์ของยาที่เป็นพิษต่อตับสะสมในเซลล์ตับสูง

ยา isoniazid ออกฤทธิ์โดยยับยั้งการสังเคราะห์กระ mycolic มีผลทำให้กระบวนการสังเคราะห์ผนังเซลล์ของเชื้อ *Mycobacterium tuberculosis* ยาจะถูกเมทาบอลิซึมผ่าน 2 pathway ได้แก่ acetylation ด้วยเอนไซม์ N-acetyltransferase 2 (NAT2) และ hydrolysis ได้สาร hydrazine และ acetyl hydrazine เป็นสารเมทาบอลิท์ที่กึ่งกลาง ซึ่งสารนี้จะถูกเอนไซม์ NAT2 ย่อยอีกครั้งเป็นสาร diacetyl hydrazine ที่ไม่มีพิษต่อตับ ส่วนสาร acetyl hydra-

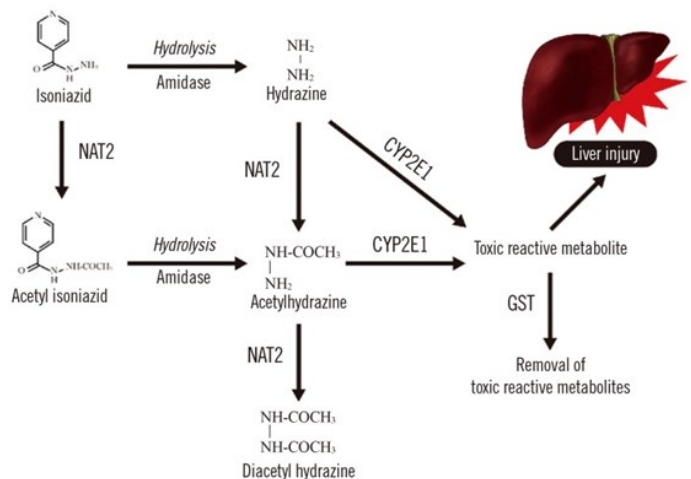
zine และส่วนที่เหลือจะผ่านกระบวนการเมทาบอลิซึมโดยเอนไซม์ cytochrome P450 2E1 ได้สารที่มีพิษต่อตับ ในผู้ที่มียีนอัตราการทำงานของเอนไซม์ NAT2 ปกติ จะเกิดพิษต่อตับน้อย เนื่องจากสามารถย่อยสลายยาได้สารที่ไม่มีพิษต่อตับ ในขณะที่ผู้ที่มีอัตราการทำงานของเอนไซม์ NAT2 ต่ำกว่าปกติ จะมี acetyl hydrazine เพิ่มขึ้น ก่อให้เกิดพิษต่อตับ

การทำงานของเอนไซม์ NAT2 แบ่งตาม genotype เป็น 3 รูปแบบ

1. **rapid acetylator** คือผู้ที่มียีน NAT2 ชนิดที่มีประสิทธิภาพการทำงานเร็ว (high activity) ทั้ง 2 haplotypes จะทำให้เกิดการย่อยสลายยาไวมาก จะส่งผลให้ยาถูกกำจัดออกจากร่างกายโดยเร็ว จนมีระดับยาไม่พอเพียงที่จะกำจัดเชื้อวัณโรคที่อยู่ในร่างกายได้

2. **intermediate acetylator** เอนไซม์ NAT2 มีอัตราการทำงานปกติ แต่ในกรณีที่มีผู้ป่วยมียีน NAT2 ชนิดที่มีประสิทธิภาพการทำงานช้า 1 haplotypes และอีก 1 haplotypes เป็นชนิดทำงานเร็ว ผลรวมออกมาเป็น Intermediate acetylator ซึ่งเหมาะสมต่อการคงระดับยาให้ทำลายเชื้อแต่เป็นอันตรายต่อเซลล์

3. **slow acetylator** เอนไซม์ NAT2 มีอัตราการทำงานต่ำ ทำให้มีเมตาบอไลต์ของยาที่เป็นพิษสะสมในเซลล์ตับสูง



ภาพ 1 กระบวนการเปลี่ยนแปลงยา isoniazid ในร่างกาย (Choi et al, 2017)

ภาวะตับอักเสบจากการใช้ยาต้านวัณโรค (ALDILI: Anti-Tuberculosis Drug induced liver injury)

- อุบัติการณ์การเกิดภาวะตับอักเสบจากการใช้ยาต้านวัณโรคทั่วไปประมาณ 3-20% ในประเทศไทยพบประมาณ 6.7%
- ผลการวิจัยพบว่าผู้ป่วยวัณโรคที่รับประทานยา isoniazid และมียีน NAT2 เป็นแบบย่อยสลายยาได้ช้า (slow acetylator) จะทำให้มีการสะสมของเมตาบอไลต์ของยาที่เป็นพิษต่อดับ และเกิดภาวะตับอักเสบสูงกว่าคนที่ไม่มียีนแบบนี้ถึง 8.8 เท่า
- การสำรวจประชากรไทยทั่วประเทศ พบว่ามียีน NAT2 แบบ slow acetylator ร้อยละ 41

การศึกษาของ Thanyanuch และคณะ ในกลุ่มผู้ป่วยวัณโรคคนไทย พบเอนไซม์ NAT2 มีอัตราการทำงานต่ำ ร้อยละ 37.30 ในขณะที่แบบอัตราการทำงานปกติและอัตราการทำงานสูงพบร้อยละ 46.92 และ 13.08 ตามลำดับ และการศึกษาของ Wattanapokayakit และคณะ พบว่า กลุ่มผู้ป่วยที่มีเอนไซม์ NAT2 แบบอัตราการทำงานต่ำมีโอกาสเกิดพิษต่อดับร้อยละ 17.7 ในขณะที่แบบอัตราการทำงานปกติและอัตราการทำงานสูงมีโอกาสเกิดพิษต่อดับร้อยละ 22.6 และ 5.7 ตามลำดับ จากแนวทางการควบคุมวัณโรคประเทศไทย พ.ศ.2564 การปรับขนาดยา isoniazid ที่มีการตรวจ NAT2 genotype ยังไม่มีคำแนะนำชัดเจน อย่างไรก็ตาม กระทรวงสาธารณสุขมีความพยายามในการผลักดันให้การตรวจ NAT2 genotype เป็นสิทธิประโยชน์ในระบบหลักประกันสุขภาพแห่งชาติ เนื่องจากการรู้ผล NAT2 genotype จะช่วยประกอบการตัดสินใจในการรักษาและการติดตามอาการข้างเคียงจากยาได้อย่างใกล้ชิด ข้อมูลทางด้านเภสัชพันธุศาสตร์ในผู้ป่วยแต่ละราย มีส่วนช่วยในการคาดการณ์ประสิทธิภาพของยา ป้องกันความรุนแรงของอาการข้างเคียง และเพิ่มความปลอดภัยในการดูแลผู้ป่วยเฉพาะรายได้มากขึ้น

Diplotype	Acetylator phenotype
NAT2*5B/*5B	Slow
NAT2*5B/*6A	
NAT2*5B/*7B	
NAT2*6A/*6A	
NAT2*6A/*7B	
NAT2*7B/*7B	
NAT2*4/*6A	Intermediate
NAT2*4/*5B	
NAT2*4/*7B	
NAT2*5B/*13A	
NAT2*6A/*12A	
NAT2*6A/*13A	
NAT2*7B/*12A	Rapid
NAT2*7B/*13A	
NAT2*4/*4	
NAT2*4/*12A	
NAT2*4/*13A	

ตาราง 1 แสดงตัวอย่าง NAT2 Diplotype และฟีโนไทป์ของการทำงานของเอนไซม์ NAT2

การปรับระดับยา isoniazid ตามชนิดของ acetylator

- **Slow Acetylator**
มีการย่อยสลายยา isoniazid ได้ช้า ทำให้ระดับยาในเลือดสูง ควรลดขนาดยา
- **Rapid Acetylator**
มีการย่อยสลายยา isoniazid ได้รวดเร็ว ทำให้ระดับยาในเลือดต่ำ ควรเพิ่มขนาดยา
- **Intermediate Acetylator**
มีการย่อยสลายยา isoniazid ได้ปกติ สามารถใช้ isoniazid ขนาดปกติ

การตรวจวิเคราะห์ NAT2 genotype ด้วยเทคนิค MassARRAY

Mass ARRAY Technology ตรวจวิเคราะห์สารพันธุกรรมโดยอาศัยหลักการของ Multiplex PCR ร่วมกับการ detect ด้วย MALDI-TOF Mass Spectrometry วัดน้ำหนักมวลโมเลกุลของสารพันธุกรรมที่ประกอบด้วยเบส 4 ชนิด ได้แก่ Adenine (A), Cytosine (C), Guanine (G) และ Thymine (T) แต่ละเบสจะมีน้ำหนักเฉพาะตัวแตกต่างกัน ดังนั้น เมื่อตำแหน่งของเบสเปลี่ยนไป เช่น การกลายพันธุ์ (SNP หรือ Variant site) สารพันธุกรรมที่เรานำมาตรวจวิเคราะห์จะมีน้ำหนักมวลโมเลกุลที่แตกต่างกัน



การทำงานของเอนไซม์ NAT2 ถูกกำหนดโดยรูปแบบ Haplotype จากการเกิด single nucleotide polymorphisms (SNPs) ที่ Exon 2 บนยีน NAT2 มีการรายงานพบ Haplotype ของยีน NAT2 กว่า 108 รูปแบบในประชากรทั่วโลก โดย SNP ที่พบมากในประชากรชาวเอเชียและไทย ได้แก่ rs1041983 (282C>T), rs1799929 (481C>T), rs1799930 (590G>A) และ rs1799931 (857G>A)

NAT2 haplotype	SNP position						
	191	282	341	481	590	803	857
	rs1801279	rs1041893	rs1801280	rs199929	rs1799930	rs1208	rs1799931
NAT2*4	G	C	T	C	G	A	G
NAT2*5B	G	C	C	T	G	G	G
NAT2*6	G	T	T	C	A	A	G
NAT2*7B	G	T	T	C	G	A	A
NAT2*12	G	C	T	C	G	G	G
NAT2*13	G	T	T	C	G	A	G

ตาราง 2 แสดงตำแหน่ง SNP ที่พบได้บ่อยใน Exon 2 ของยีน NAT2 (Wichukchinda et al, 2020)

MassARRAY เป็นเทคนิคที่มีความไวและความจำเพาะสูง สามารถ SNPs ได้หลายตำแหน่งในครั้งเดียว ขั้นตอนการทำงานไม่ซับซ้อน จึงเหมาะแก่การนำมาตรวจวิเคราะห์ยีนทางเภสัชพันธุศาสตร์ NAT2 เพื่อใช้ประกอบการปรับระดับยาต้านวัณโรค Isoniazid

การตรวจ NAT2 genotype ด้วยเทคนิค MassARRAY

- ✓ มีความไวและความจำเพาะสูง ตรวจจับและจำแนกสารพันธุกรรมได้แม่นยำ
- ✓ ตรวจวิเคราะห์ได้หลายตำแหน่งพร้อมกัน
- ✓ ปรับขนาดยา isoniazid ในการรักษาผู้ป่วยวัณโรคได้อย่างเหมาะสม
- ✓ ลดการเกิดภาวะตับอักเสบจากการใช้ยาต้านวัณโรค ช่วยเพิ่มอัตราการรักษาผู้ป่วยวัณโรคได้สำเร็จมากขึ้น

อ้างอิง

- Wattanapokayakit, S., Mushiroda, T., Yanai, H., Wichukchinda, N., Chuchottawon, C., Nedsuwan, S., Rojanawiwat, A., Denjanta, S., Kantima, T., Wongyai, J., Suwankesawong, W., Rungapiromnan, W., Kidkeukarun, R., Bamrungram, W., Chaiwong, A., Suvichapanich, S., Mahasirimongkol, S., & Tokunaga, K. (2016). NAT2 slow acetylator associated with anti-tuberculosis drug-induced liver injury in Thai patients. *The international journal of tuberculosis and lung disease : the official journal of the International Union against Tuberculosis and Lung Disease*, 20(10), 1364–1369. <https://doi.org/10.5588/ijtld.15.0310>
- Phetpavararak B, Inprasit N. Hepatotoxicity in elderly tuberculosis patient with low NAT2 activity receiving isoniazid: a case report. *Rama Med J*. 2025;48(4):e274746. doi:10.33165/rmj.48.04.e274746
- Division of Tuberculosis, Department of Disease Control, Ministry of Public Health. The Tuberculosis Situation in Thailand. 1 February 2024. Accessed 2 January 2026. <https://shorturl.asia/5XkKJj>
- Wichukchinda, N., Pakdee, J., Kunhapan, P., Imunchot, W., Toyo-Oka, L., Tokunaga, K., & Mahasirimongkol, S. (2020). Haplotype-specific PCR for NAT2 diplotyping. *Human genome variation*, 7, 13. <https://doi.org/10.1038/s41439-020-0101-7>
- Thanyanuch S, Charoen C, Surakameth M, Sukanya W. NAT2 genotype-guided INH dosage to reduce drug-induced liver injury in Thai patients. *Sys Rev Pharm*. 2021;12(9):523-527.
- Azuma, J., Ohno, M., Kubota, R., Yokota, S., Nagai, T., Tsuyuguchi, K., Okuda, Y., Takashima, T., Kamimura, S., Fujio, Y., Kawase, I., & Pharmacogenetics-based tuberculosis therapy research group (2013). NAT2 genotype guided regimen reduces isoniazid-induced liver injury and early treatment failure in the 6-month four-drug standard treatment of tuberculosis: a randomized controlled trial for pharmacogenetics-based therapy. *European journal of clinical pharmacology*, 69(5), 1091–1101. <https://doi.org/10.1007/s00228-012-1429-9>
- Division of Tuberculosis, Department of Disease Control, Ministry of Public Health. National Tuberculosis Control Programme Guideline, Thailand 2021. Aksorn Graphic and Design Publishing Limited Partnership; 2021.
- Walraven, J. M., Zang, Y., Trent, J. O., & Hein, D. W. (2008). Structure/function evaluations of single nucleotide polymorphisms in human N-acetyltransferase 2. *Current drug metabolism*, 9 (6), 471–486. <https://doi.org/10.2174/138920008784892065>
- Kukongviriyapan V, Lulitanond V, Areejitranusorn C, Kongyingyose B, Laupattarakasem P. N-acetyltransferase polymorphism in Thailand. *Hum Hered* 1984; 34: 246–249.
- Choi, R., Jeong, B. H., Koh, W. J., & Lee, S. Y. (2017). Recommendations for Optimizing Tuberculosis Treatment: Therapeutic Drug Monitoring, Pharmacogenetics, and Nutritional Status Considerations. *Annals of laboratory medicine*, 37(2), 97–107. <https://doi.org/10.3343/alm.2017.37.2.97>



บริษัท ไลโฟมิกส์ จำกัด
10 ซอยกาญจนาภิเษก 0010 แยกสอง
เขตบางแค กทม. 10160
โทร 02 454 8533

Agena[®]
BIOSCIENCE



lifomicsth



@lifomics



www.lifomics.com