



1. antigens ของไวรัสตับอักเสบบีในเซลล์ตับ

ทำการตรวจหา antigens ของไวรัสตับอักเสบบีในเซลล์ตับของผู้ป่วยที่เสียชีวิตด้วยโรคมะเร็งตับ และโรคอื่น ๆ โดยตัดตับส่วนที่ต้องการศึกษาเป็นชิ้นเล็ก ๆ แล้วป้ายบนแผ่นสไลด์ ย้อมด้วยวิธี IF โดยใช้ antisera 2 กลุ่ม คือ ใช้ serum จากคนที่มี antibodies ต่อ antigens ของไวรัสตับอักเสบบี คือ anti-HBs, anti-HBc, anti-HBc + anti-HBe และ antisera ที่ได้จากการ immunized กระต่าย คือ anti-HBc และ anti-HBc และดูลักษณะเซลล์ตับในชิ้นเนื้อเดียวกันนี้ โดยย้อมด้วยสี H & E

1.1 จากการศึกษาดูเซลล์ตับของผู้ป่วยที่เสียชีวิตด้วยโรคมะเร็งตับ 5 ราย ปรากฏว่าตรวจพบ antigens ในเซลล์ตับทุกราย โดยใช้ human anti-HBs, anti-HBc, anti-HBc + anti-HBe เท่านั้น และไม่สามารถตรวจพบ antigens ในเซลล์ตับโดยใช้ rabbit anti-HBc, anti-HBc (ตารางที่ 1, หน้า : 3)

เปอร์เซ็นต์เซลล์ที่ตรวจพบ antigens ในสัปดาห์ต่าง ๆ เปรียบเทียบกับลักษณะเซลล์ตับ แสดงให้เห็นในตารางที่ 1 และ 2 (หน้า 23, 24) ซึ่งจะเห็นว่าในกลุ่มเซลล์มะเร็งตับ (รูปที่ 5, หน้า 27) เซลล์ necrosis (รูปที่ 6, หน้า 27) และเซลล์ dysplasia ในผู้ป่วยมะเร็งตับชนิดปฐมภูมิ (primary hepatocellular carcinoma) ตรวจพบเปอร์เซ็นต์เซลล์ที่มี antigens น้อยมาก แต่ในกลุ่มเซลล์ปกติ ตรวจพบ antigens ในเปอร์เซ็นต์สูง เช่นเดียวกับในกลุ่มเซลล์ regenerate ซึ่งมี fibrous tissue ล้อมรอบ (รูปที่ 7, หน้า 28) มีเปอร์เซ็นต์เซลล์ที่ตรวจพบ antigens สูง และในบางกลุ่มของเซลล์ที่มีเม็ดเลือดขาวปะปนอยู่ ก็ตรวจพบ antigens ในเม็ดเลือดขาวเหล่านั้นด้วย (รูปที่ 8, หน้า 28) ซึ่ง fluorescent positive reaction ส่วนใหญ่อยู่ที่ cytoplasm บางเซลล์พบที่ nucleus ด้วย

สำหรับผู้ป่วยรายที่ 4 ซึ่งเป็นมะเร็งท่อน้ำดีตับ (cholangiocarcinoma) และมีพยาธิใบไม้ในตับ พบว่าในกลุ่มเซลล์ที่มีมะเร็งของท่อน้ำดีตับ (รูปที่ 9, หน้า 29) และมีเซลล์ตับ dysplasia มีเปอร์เซ็นต์เซลล์ที่ตรวจพบ antigens น้อย แต่ในกลุ่มเซลล์ที่มีท่อน้ำดีตับปกติ และเซลล์ตับปกติ ตรวจพบเซลล์ที่มี antigens มาก ทำนองเดียวกับผู้ป่วยรายที่ 5 ซึ่งเป็นมะเร็งตับทุติยภูมิ (จากการทำ autopsy ของพยาธิแพทย์ พบว่าเป็น brain tumour และ metastasis มาที่ตับ) แม้ว่าจะตรวจไม่พบเซลล์มะเร็งในชิ้นตับที่นำมาตรวจหา antigens แต่ก็พบว่าในกลุ่มเซลล์ตับที่มีเซลล์ dysplasia มาก (รูปที่ 10, หน้า 29) ตรวจพบ antigens น้อยกว่าในเซลล์ตับปกติ

1.2 จากการศึกษาในผู้ป่วยที่เสียชีวิตด้วยโรคอื่น ๆ 13 ราย ซึ่งเป็นผู้ป่วยทางด้านนิติเวช 6 ราย โรคหัวใจ 2 ราย โรคกระเพาะ 1 ราย โรคความดันโลหิตสูง 1 ราย โรคตับแข็ง 2 ราย และพยาธิใบไม้ในตับ 1 ราย ผู้ป่วยทั้ง 13 รายนี้ เซลล์ตับปกติ ปรากฏว่าตรวจพบ antigen ของไวรัสตับอักเสบบีในเซลล์ตับ 5 ราย คือ ผู้ป่วยโรคกระเพาะ โรคตับแข็ง พยาธิใบไม้ในตับและผู้ป่วยนิติเวช 1 ราย (ตารางที่ 3, หน้า 25) ส่วนใหญ่เป็น antigens ที่ตรวจพบโดย human anti-HBs เมื่อใช้ anti-HBc และ anti-HBc + anti-HBe ตรวจพบ antigens ได้น้อยมาก และไม่สามารถตรวจพบ antigens โดยใช้ rabbit anti-HBc และ anti-HBc

## 2. antigens ของไวรัสตับอักเสบบีในเซลล์้าม ตับอ่อน ไต และต่อมน้ำเหลือง

ตรวจหา antigens ของไวรัสตับอักเสบบี โดยวิธี IF พร้อมทั้งย้อมพยาธิสภาพเช่นเดียวกับที่ทำการตรวจหาในเซลล์ตับ ปรากฏว่าเซลล์ปกติ และตรวจไม่พบ antigens ของไวรัสตับอักเสบบีในเซลล์้าม ตับอ่อน ไต ต่อมน้ำเหลืองทั้งในผู้ป่วยโรคมะเร็งตับ และกลุ่ม control

## 3. ลักษณะ fluorescent-positive reaction ในเซลล์ตับ

จากการใช้ human anti-HBs ในการตรวจหา antigen ของไวรัสตับอักเสบบีในเซลล์ตับ พบว่าส่วนใหญ่มี fluorescent positive reaction ที่

cytoplasm บางเซลล์จะเห็นเด่นชัดรอบ nucleus และในบางเซลล์ positive ทั้งเซลล์ แต่เห็นเด่นชัดที่ cytoplasm ส่วนที่ nucleus เห็นเป็นจุด ๆ (รูปที่ 11, หน้า 30)

แต่จากการใช้ anti-HBc และ anti-HBc + anti-HBe ปรากฏว่าลักษณะ fluorescent positive cells เหมือนกัน คือ เซลล์ส่วนมาก positive เฉพาะ nucleus ในลักษณะ homogenous (รูปที่ 12, หน้า 30) บ้างก็ positive ทั้งเซลล์ โดยส่วน cytoplasm ติดสีเป็นจุด ๆ และเห็นเด่นชัดรอบ ๆ nucleus มี positive เฉพาะ cytoplasm ในบางเซลล์

#### 4. antigens ของไวรัสตับอักเสบบีและ antibodies ต่อไวรัสตับอักเสบบีในน้ำเหลือง

4.1 ทำการตรวจหา HBsAg และ anti-HBs ใน plasma ของผู้ป่วยที่เสียชีวิตด้วยโรคมะเร็งตับ และโรคอื่น ๆ (ซึ่งนำมาตรวจหา antigens ของไวรัสตับอักเสบบีในเซลล์ตับ) โดย

##### 4.1.1 วิธี CIEP

ทำการตรวจหา HBsAg และ anti-HBs ในผู้ป่วยมะเร็งตับ 5 ราย และ control 13 ราย ได้ผลดังตารางที่ 4 คือในกลุ่ม control ตรวจไม่พบ HBsAg เลย แต่พบ anti-HBs 1 รายในผู้ป่วยโรคหัวใจ ส่วนในกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งตับตรวจไม่พบทั้ง HBsAg และ anti-HBs

##### 4.1.2 วิธี RPHA

ตรวจหา HBsAg ในผู้ป่วยมะเร็งตับ 5 ราย และ control 13 ราย ได้ผลดังตารางที่ 4, หน้า 26 คือในกลุ่ม control ตรวจพบ HBsAg 1 ราย (ผู้ป่วยพยาธิใบไม้ในตับ) และตรวจพบ HBsAg 1 ราย ในกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งตับ (ผู้ป่วยมะเร็งตับชนิดปฐมภูมิ)

4.2 ทำการตรวจหา HBeAg และ anti-HBe ในผู้ป่วยที่ตรวจพบ HBsAg ใน plasma คือผู้ป่วยกลุ่ม control รายที่ 13 ซึ่งเป็นพยาธิใบไม้ในตับ และผู้ป่วย มะเร็งตับรายที่ 3 ซึ่งเป็นมะเร็งตับชนิดปฐมภูมิ โดยวิธี ID ปรากฏว่าตรวจไม่พบทั้ง HBeAg และ anti-HBe



ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 1 จำนวน fluorescent positive cells ในตับของผู้ป่วยที่เสียชีวิตด้วย  
โรคมาเร็งระดับ โดยใช้ antibodies ต่อไวรัสตับอักเสบบีชนิดบี

รายชื่อนิตมาเร็งระดับ	ชั้น ตับ	เปอร์เซ็นต์เซลล์ที่ตรวจพบ antigens				
		human	human	human	rabbit	rabbit
		anti-HBs	anti-HBc	anti-HBc+anti-HBe	anti-HBc	anti-HBL
1 มะเร็งตับชนิด ปฐมภูมิ	1	10-20	10-20	10-30	0	0
	2	50-80	50-60	40-60	0	0
	3	10-30	10-20	10-20	0	0
	4	60-80	50-70	50-60	0	0
	5	0-5	0-1	0	0	0
2 มะเร็งตับชนิด ปฐมภูมิ	1	0	0	0	0	0
	2	0-1	0	0	0	0
	3	1-5	0-1	0	0	0
	4	1-5	0-1	0-1	0	0
	5	0-1	0	0-1	0	0
3 มะเร็งตับชนิด ปฐมภูมิ	1	1-5	1-5	1-5	0	0
	2	10-20	1-5	1-5	0	0
	3	1-5	0-1	0-1	0	0
	4	20-40	1-5	1-5	0	0
	5	1-5	1-5	1-5	0	0
4 มะเร็งท่อน้ำดี ตับ	1	60-80	30-50	40-50	0	0
	2	60-70	20-40	20-40	0	0
	3	50-70	20-30	10-30	0	0
	4	1-5	0-1	0-1	0	0
	5	1-5	0-1	0-1	0	0
5 มะเร็งตับชนิด ทุติยภูมิ	1	5-25	5-10	5-10	0	0
	2	1-5	1-5	1-5	0	0
	3	10-30	1-5	1-5	0	0
	4	30-40	5-15	5-10	0	0
	5	20-30	1-5	1-5	0	0

ตารางที่ 2 ลักษณะเซลล์ตับ จากการย้อมด้วยสี H & E ในผู้ป่วยมะเร็งเรื้อรัง

ราย	ชนิดมะเร็งตับ	อันดับ	ลักษณะเซลล์ตับ
1	มะเร็งตับชนิด ปฐมภูมิ	1 2 3 4 5	จำนวนเซลล์มะเร็งเรื้อรัง 4 + เซลล์ปกติ จำนวนเซลล์ dysplasia 3 + เซลล์ปกติ จำนวนเซลล์มะเร็งเรื้อรัง 3 +
2	มะเร็งตับชนิด ปฐมภูมิ	1 2 3 4 5	จำนวนเซลล์มะเร็งเรื้อรัง 3 + มี necrosis ของ tumour cell จำนวนเซลล์มะเร็งเรื้อรัง 3 + จำนวนเซลล์ dysplasia 1 + จำนวนเซลล์ dysplasia 2 + จำนวนเซลล์มะเร็งเรื้อรัง 3 +
3	มะเร็งตับชนิด ปฐมภูมิ	1 2 3 4 5	จำนวนเซลล์มะเร็งเรื้อรัง 4 + จำนวนเซลล์ dysplasia 1 + จำนวนเซลล์มะเร็งเรื้อรัง 3 + เซลล์ปกติ มี regenerate nodule ล้อมรอบด้วย fibrous tissue จำนวนเซลล์มะเร็งเรื้อรัง 2 +
4	มะเร็งท่อน้ำดี ตับ	1 2 3 4 5	เซลล์ตับปกติ และท่อน้ำดีตับปกติ เซลล์ตับปกติ และท่อน้ำดีตับปกติ จำนวนเซลล์ dysplasia 1 + เซลล์ตับปกติ มี malignant ของท่อน้ำดีตับ และมีไข พยาธิใบไม้ในตับ จำนวนเซลล์ dysplasia 1 + และมี malignant ของท่อน้ำดีตับ
5	มะเร็งตับชนิด ทุติยภูมิ	1 2 3 4 5	จำนวนเซลล์ dysplasia 2 + จำนวนเซลล์ dysplasia 3 + จำนวนเซลล์ dysplasia 1 + และมี fibrosis ของท่อน้ำดีตับ เซลล์ตับปกติ เซลล์ตับปกติ

หมายเหตุ 1 + = 1-25%      2 + = 26-50%      3 + = 51-75%

4 + = 76-100%

ตารางที่ 3 จำนวน fluorescent positive cells ในตับ (เป็นเปอร์เซ็นต์) ของผู้ป่วยกลุ่ม control โดยใช้ antibodies ต่อไวรัสตับอักเสบบี

ราย ที่	ระดับ โรค	human anti-HBs					human anti-HBc					human anti-HBc + anti-HBe				
		1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
1	ปกติเวช	20-30	30-50	30-50	10-30	20-40	0-1	0	0	0-1	0	0	0	0	0	0
2	"	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
3	"	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
4	"	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
5	"	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
6	"	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
7	โรคหัวใจ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
8	"	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
9	โรคกระเพาะ	10-20	5-10	5-10	10-20	20-40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
10	โรคความดัน โลหิตสูง	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
11	โรคตับแข็ง	60-80	50-70	50-70	50-80	50-70	0	0	0	0-1	0	0	0	0-1	0	
12	"	40-60	20-40	30-60	30-50	20-40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
13	พยาธิใบไม้	10-30	20-40	20-30	30-40	20-40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

ตารางที่ 4 เปรียบเทียบการตรวจพบ antigens ของไวรัสตับอักเสบบีในเซลล์ตับ และใน plasma ของผู้ป่วยมะเร็งตับ และโรคอื่น ๆ

ผู้ป่วยโรค มะเร็งตับ	ชนิด	HBsAg ในเซลล์ตับ	HBsAg ใน plasma		anti-HBs ใน plasma
		IF	CIEP	RPHA	CIEP
1	ปฐมภูมิ	+			
2	"	+	-	-	-
3	"	+	-	+	-
4	ท่อน้ำดีตีบ	+	-	-	-
5	ทุติยภูมิ	+			
ผู้ป่วยโรคอื่น ๆ					
1	นิติเวช	+	-	-	-
2	"	-	-	-	-
3	"	-	-	-	-
4	"	-	-	-	-
5	"	-	-	-	-
6	"	-	-	-	-
7	โรคหัวใจ	-	-	-	+
8	"	-	-	-	-
9	โรคกระเพาะ	+	-	-	-
10	โรคความดัน โลหิตสูง	-	-	-	-
11	โรคตับแข็ง	+	-	-	-
12	"	+	-	-	-
13	พยาธิใบไม้ ในตับ	+	-	+	-

หมายเหตุ ผู้ป่วยมะเร็งตับรายชื่อ 1, 5 และผู้ป่วยกลุ่ม control รายชื่อ 4, 6, 10, 12  
เก็บเลือดจากหัวใจไม่ได้





รูปที่ 5 ลักษณะเซลล์มะเร็งตับ (ขวา) เปรียบเทียบกับเซลล์ตับปกติ (ซ้าย) จากผู้ป่วยมะเร็งตับชนิดปฐมภูมิ (รายที่ 3) ย้อมสี H & E (100 x)



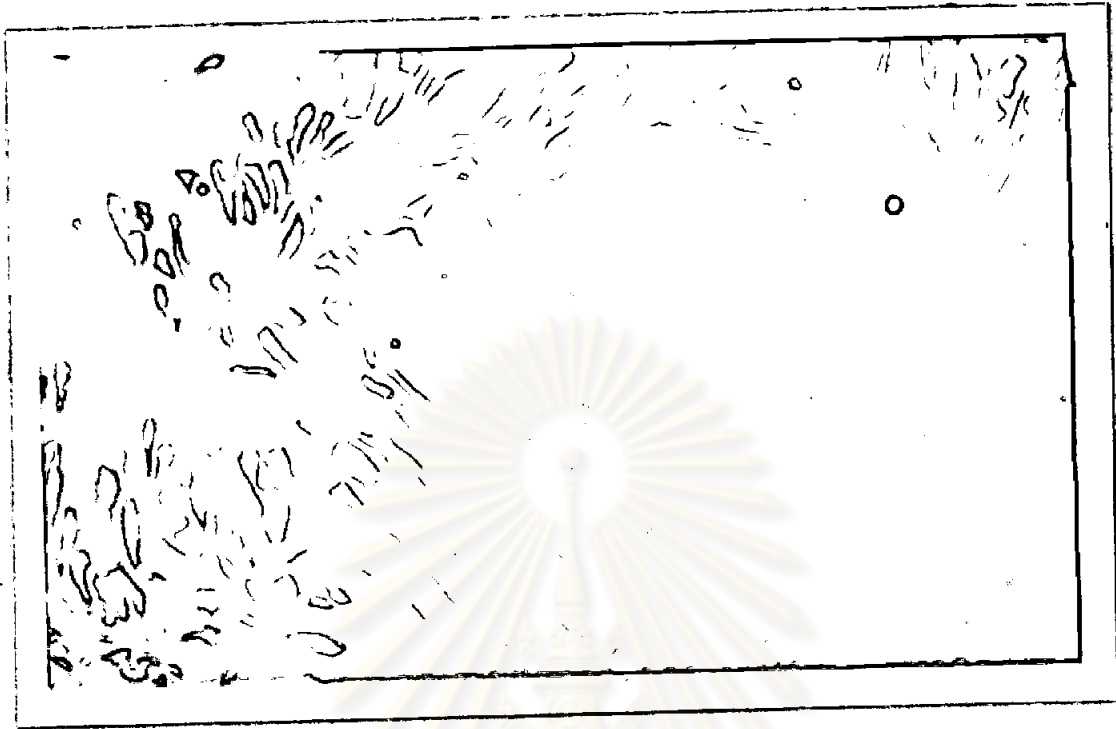
รูปที่ 6 ลักษณะเซลล์มะเร็งตับ (ขวา) เปรียบเทียบกับกลุ่ม necrosis ของเซลล์มะเร็งตับ (ซ้าย) จากผู้ป่วยมะเร็งตับชนิดปฐมภูมิ (รายที่ 2) ย้อมสี H & E (100 x)



รูปที่ 7 ลักษณะ regenerated nodule ซึ่งล้อมรอบด้วย fibrous tissue จากผู้ป่วย  
มะเร็งตับชนิดปฐมภูมิ (รายที่ 3) ย้อมสี H & E (100 x)



รูปที่ 8 ลักษณะ fluorescent positive cells ของเม็ดเลือดขาว โดยใช้  
human anti-HBs (400 x)



รูปที่ 9 ลักษณะเซลล์มะเร็งของท่อน้ำคัสบ (ผู้ป่วยรายที่ 4) ย้อมสี H & E (400 x)



รูปที่ 10 ลักษณะเซลล์กับ dysplasia (คราซี) จากผู้ป่วยมะเร็งคัสบชนิดทูดุมิ

ย้อมสี H & E

(400 x)



รูปที่ 11 ลักษณะ fluorescent positive cells ในตับของผู้ป่วยมะเร็งตับชนิด  
ปฐมภูมิ โดยใช้ human anti-HBs (400 x)



รูปที่ 12 ลักษณะ fluorescent positive cells ในตับของผู้ป่วยมะเร็งตับชนิด  
ปฐมภูมิ โดยใช้ human anti-HBc (400 x)