

ความชุกของโปรตีนเรตินโอบลาสโตมาในมะเร็งศีรษะและลำคอชนิดสความัสเซลล์

ที่ไม่ใช่ มะเร็งหลังโพรงจมูกและไม่พบการติดเชื้อไวรัสเอชพีวี

ในผู้ป่วยที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

นาย ภาณุพันธุ์ ม่วงน้อย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาอายุรศาสตร์ ภาควิชาอายุรศาสตร์

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2555

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)

เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย

The abstract and full text of theses from the academic year 2011 in Chulalongkorn University Intellectual Repository (CUIR)

are the thesis authors' files submitted through the Graduate School.

PREVALENCE OF RETINOBLASTOMA PROTEIN IN NEGATIVE HUMAN PAPILLOMA
VIRUS IN NON-NASOPHARYNGEAL HEAD AND NECK SQUAMOUS CELL
CARCINOMAS IN PATIENTS AT KING CHULALONGKORN MEMORIAL HOSPITAL

MR. PANUNAT MUANGNOI

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Medicine

Department of Medicine

Faculty of Medicine

Chulalongkorn University

Academic Year 2012

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์

ความชุกของโปรตีนเรตินโอบลาสโตมาในมะเร็งศีรษะ
และลำคอชนิดสความัสเซลล์ที่ไม่ใช่มะเร็งหลังโพรงจมูก
และไม่พบการติดเชื้อไวรัสเอชพีวีในผู้ป่วยที่โรงพยาบาล
จุฬาลงกรณ์

โดย

นายภาณุภูมิ ม่วงน้อย

สาขาวิชา

อายุรศาสตร์

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ วิโรจน์ ศรีอุฬารพงศ์

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้หัวข้อวิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการ
การศึกษาหลักสูตรปริญญาโทมหาบัณฑิต

..... คณบดีคณะแพทยศาสตร์

(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ ไชยเดช นภาธร)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์นายแพทย์ธนิษฐ์ อัครวิเชียรจินดา)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ วิโรจน์ ศรีอุฬารพงศ์)

.....กรรมการ

(นายแพทย์พิสุทธิ กตเวทิน)

.....กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย

(แพทย์หญิงจารุวรรณ เอกวัลลภ)

ภาณุณัฐ ม่วงน้อย : ความชุกของโปรตีนเรตินوبลาสโตมาในมะเร็งศีรษะและลำคอชนิดสความัสเซลล์ที่ไม่ใช่มะเร็งหลังโพรงจมูกและไม่พบการติดเชื้อไวรัสเอชพีวีในผู้ป่วยที่ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ (PREVALENCE OF RETINOBLASTOMA PROTEIN IN NEGATIVE HUMAN PAPILOMA VIRUS IN NON NASOPHARYNGEAL HEAD AND NECK SQUAMOUS CELL CARCINOMAS IN PATIENTS AT KING CHULALONGKORN MEMORIAL HOSPITAL) อ.ที่ปริกษาวิทยานิพนธ์หลัก: ผศ.นพ.วิโรจน์ ศรีอุฬารพงศ์, อ.ที่ปริกษาวิทยานิพนธ์ร่วม: รศ.นพ.สมบุญ คีลาวัฒน์, 103 หน้า.

ที่มา มะเร็งศีรษะและลำคอชนิดสความัสเซลล์ที่ไม่ใช่มะเร็งหลังโพรงจมูกมีอุบัติการณ์สูงโดยเฉพาะในกลุ่มที่ไม่พบการติดเชื้อไวรัสเอชพีวีเมื่อเทียบกับกลุ่มที่พบการติดเชื้อ ซึ่งพบว่ากลไกการเกิดโรคส่วนหนึ่งเกิดจากการกลายพันธุ์ของยีนเรตินوبลาสโตมา อย่างไรก็ตาม ความชุกของโปรตีนเรตินوبลาสโตมาในประชากรกลุ่มดังกล่าวยังไม่ได้มีการศึกษาที่ชัดเจน

วัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาความชุกของโปรตีนเรตินوبลาสโตมาในผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและลำคอที่ไม่ใช่มะเร็งหลังโพรงจมูกและไม่พบการติดเชื้อไวรัสเอชพีวี และหาความสัมพันธ์ของสถานะโปรตีนเรตินوبลาสโตมากับพยากรณ์และการดำเนินโรค

ประชากรและวิธีการ ผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและลำคอชนิดสความัสเซลล์ที่ไม่ใช่มะเร็งหลังโพรงจมูกและไม่พบการติดเชื้อไวรัสเอชพีวี ที่ได้รับการรักษาที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทย ระหว่างปีพ.ศ.2543-2554 โดยตรวจหาโปรตีนเรตินوبลาสโตมาด้วยเทคนิคไมโครแอเรย์และอิมมูโนฟลูออโรสโคปี ในชิ้นเนื้อพาราฟินของผู้ป่วยจำนวน 53 ราย และเปรียบเทียบผลการตรวจกับการดำเนินโรค

ผลการวิจัย พบผลบวกต่อโปรตีนเรตินوبลาสโตมาจำนวน 24 ราย คิดเป็นร้อยละ 45 โดยเมื่อแบ่งตามตำแหน่งรอยโรค พบผลบวกร้อยละ 33 ในมะเร็งช่องปาก, ร้อยละ 38 ในมะเร็งคอหอยช่องปาก, ร้อยละ 29 ในมะเร็งกล่องเสียง ทั้งนี้ ไม่พบความแตกต่างของลักษณะพื้นฐานทางคลินิก และการรักษาเมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่ให้ผลบวกและผลลบต่อโปรตีนเรตินوبลาสโตมา นอกจากนี้ พบว่าระยะของก้อนมะเร็ง (ระยะที่ 1 หรือ 2) มีผลต่อการพยากรณ์โรคที่ต่ำกว่า โดยที่ไม่พบความสัมพันธ์ของโปรตีนเรตินوبลาสโตมากับพยากรณ์โรค

สรุปผลการวิจัย พบความชุกของโปรตีนเรตินوبลาสโตมาในกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและลำคอที่ไม่ใช่มะเร็งหลังโพรงจมูกและไม่พบการติดเชื้อไวรัสเอชพีวี คิดเป็นร้อยละ 45 ผลดังกล่าวไม่มีความสัมพันธ์กับพยากรณ์โรค แต่มีแนวโน้มการพยากรณ์โรคที่ไม่มีในกลุ่มที่ตรวจไม่พบสถานะโปรตีนเรตินوبลาสโตมา

ภาควิชาอายุรศาสตร์.....ลายมือชื่อนิติ.....

สาขาวิชาอายุรศาสตร์.....ลายมือชื่อ อ.ที่ปริกษาวิทยานิพนธ์หลัก.....

ปีการศึกษา.....2555.....ลายมือชื่อ อ.ที่ปริกษาวิทยานิพนธ์ร่วม.....

#5474146030: MAJOR MEDICINE (ONCOLOGY)

KEYWORDS: HEAD AND NECK SQUAMOUS CELL CARCINOMA / RETINOBLASTOMA PROTEIN

PANUNAT MUANGNOI : PREVALENCE OF RETINOBLASTOMA PROTEIN IN NEGATIVE HUMAN PAPILOMA VIRUS IN NON NASOPHARYNGEAL HEAD AND NECK SQUAMOUS CELL CARCINOMAS IN PATIENTS AT KING CHULALONGKORN MEMORIAL HOSPITAL.
 ADVISOR: ASST.PROF.VIOTE SRIURANPONG, M.D., CO-ADVISOR: ASSOC.PROF. SOMBOON KELAWAT, M.D., 103 PP.

Background: Previous studies of human papilloma virus (HPV) associated head and neck squamous cell carcinoma (HNSCCs) have shown that the frequent loss of retinoblastoma protein (pRb) implicates in prognosis and response to treatment. Limited data regarding the pRb expression in HPV negative HNSCCs are available. In this study we characterized the expression rate of pRb in HPV negative HNSCCs at King Chulalongkorn Memorial hospital.

Objectives: The aim of this study is to determine the prevalence of expression of retinoblastoma protein (pRb) in non-nasopharyngeal HNSCC tumor tissue. The secondary objective is to find an association between the expression of pRb and clinical outcomes.

Patients and methods: Non-nasopharyngeal HNSCCs patients who had been treated at the King Chulalongkorn Memorial Hospital during 2000-2011 were enrolled. Tumor tissue from 53 patients confirmed HPV negative were collected to manually construct tissue microarray (TMA). Expression of pRb was performed by IHC on TMA with anti-Rb monoclonal antibody clone 1F8. All clinical parameters were reviewed and collected from available medical records.

Results: Twenty-four (45%) of the 53 HNSCCs samples exhibited retinoblastoma protein (pRb) by IHC. Among cancer sites, 9 of 24 (38%) of oropharynx, 8 of 24 (33%) of oral cavity and 7 of 24 (29%) of larynx displayed pRb in tumor tissues. There was no major difference in demographic data, tumor characteristic, and treatment modalities between pRb-positive and pRb-negative samples HNSCCs. There was a trend toward a better survival in tumor expressing pRb than the tumor with absence of pRB but this did not reach a statistical significance. However in T-stage (T1/T2), was associated with better median overall survival.

Conclusion: The prevalence of pRb in our study was 45%. Absence of pRB tumors have a trend toward poorer prognosis. Further study in a larger population is warranted.

Department.....Medicine.....Student's signature.....
 Field of Study:.....Medicine.....Advisor's signature.....
 Academic Year:.....2012.....Co-advisor's signature.....

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณทุกท่านที่มีส่วนร่วมทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงสมความมุ่งหมาย

ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1. อาจารย์แพทย์หญิง ชนิตา วินะยานุวัติคุณ ให้คำปรึกษาการทำวิจัย
2. อาจารย์นายแพทย์ สืบพงศ์ ธนสารวิมล ให้คำปรึกษาการทำวิจัย

ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3. รองศาสตราจารย์ นายแพทย์สมบูรณ์ ศีลาวัฒน์ ผู้ช่วยเหลือในด้านการตรวจสอบคุณภาพของชิ้นเนื้อพยาธิวิทยา

สถาบันพยาธิวิทยา โรงพยาบาลพระมงกุฎเกล้า

4. พันเอกนายแพทย์ธวัชชัย ศิลปีโยดม
5. ร้อยเอกหญิงนิสา เพิ่มพิพัฒน์
6. นางสาววิภาทิพย์ ปิ่นเย็น

และขอบคุณเจ้าหน้าที่หน่วยมะเร็งวิทยา ภาควิชาอายุรศาสตร์ และเจ้าหน้าที่แผนกพยาธิวิทยา
โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ทุกท่าน

รวมทั้งบิดา, มารดา, และครอบครัว

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง	ญ
สารบัญแผนภูมิหรือรูปภาพ	ฎ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาวิจัย	1
1.2 คำถามการวิจัย.....	4
1.3 วัตถุประสงค์การวิจัย.....	4
1.4 สมมุติฐานการวิจัย.....	5
1.5 กรอบแนวความคิดในการวิจัย.....	6
1.6 ข้อตกลงเบื้องต้น.....	6
1.7 คำสำคัญ.....	6
1.8 การให้คำนิยามเชิงปฏิบัติที่ใช้ในงานวิจัย.....	6
1.9 รูปแบบการวิจัย	7
1.10 ข้อพิจารณาด้านจริยธรรม	7
1.11 ข้อจำกัดในการวิจัย.....	8
1.12 ผลประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย.....	8
1.13 อุปสรรคที่อาจเกิดขึ้นระหว่างการศึกษาวิจัยและมาตรการแก้ไข	8
บทที่ 2 มะเร็งศีรษะและลำคอ	10
2.1 บทนำ	10

	หน้า
2.2 ลักษณะทางระบาดวิทยา	12
2.3 สาเหตุและปัจจัยเสี่ยง	13
2.4 พยาธิกำเนิด	15
2.5 ลักษณะทางพยาธิวิทยา	17
2.6 การกำหนดระยะของโรคก่อนการรักษา	18
2.7 ลักษณะอาการทางคลินิก	25
2.8 การวินิจฉัย	25
2.9 การรักษา	27
บทที่ 3 โปรตีนเรติโน بلاสโตมา	29
3.1 โปรตีนเรติโน بلاสโตมา	29
3.2 วัฏจักรของเซลล์	31
3.3 ความสัมพันธ์ระหว่างโปรตีนเรติโน بلاสโตมาและการเกิดมะเร็ง	35
3.4 ความสัมพันธ์ระหว่างมะเร็งศีรษะและลำคอชนิดสควamous และโปรตีน เรติโน บลาสโตมาและการเกิดมะเร็ง	36
บทที่ 4 อิมมูโนพยาธิวิทยา	38
4.1 หลักการของ Immunohistochemistry	38
4.2 ปฏิกริยาระหว่างแอนติเจนและแอนติบอดีในการตรวจทางอิมมูโนวิทยา	39
4.3 สิ่งส่งตรวจ	40
4.4 วิธีการทาง Immunohistochemistry	41
4.5 การอ่านผล	48
4.6 ประโยชน์ของอิมมูโนพยาธิวิทยาในโรคมะเร็ง	49
บทที่ 5 วิธีการทางอิมมูโนพยาธิวิทยาที่ใช้ในการศึกษานี้	52
บทที่ 6 วัสดุและวิธีการ	54
6.1 ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง	54
6.2 วิธีการศึกษา	55
6.3 การวิเคราะห์ข้อมูล	56

บทที่ 7 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล	58
7.1 ข้อมูลพื้นฐานทั่วไป	60
7.2 วิช้อมูลพื้นฐานทั่วไปเปรียบเทียบตามสถานะโปรตีนเรตินโอบลาสโตมา.....	64
7.3 การดำเนินโรค แบ่งตามสถานะโปรตีนเรตินโอบลาสโตมา.....	67
7.4 ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยเสี่ยงต่ออัตราการรอดชีวิต.....	68
7.5 การวิเคราะห์ตามตำแหน่งของรอยโรค.....	71
บทที่ 8 อภิปรายผลการวิจัย	74
8.1 ลักษณะพื้นฐานของผู้ป่วย	74
8.2 ความชุกของโปรตีนเรตินโอบลาสโตมาในมะเร็งศีรษะและลำคอที่ไม่พบการ ติดเชื้อไวรัสเอชพีวี	76
8.3 การพยากรณ์และดำเนินโรค	78
บทที่ 9 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	81
รายการอ้างอิง.....	83
ภาคผนวก.....	92
ภาคผนวก ก.....	93
ภาคผนวก ข.....	98
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....	102

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1.1	แสดงการศึกษาถึงการลดลงของโปรตีนเรตินอบลาสโตมาในมะเร็งศีรษะและ ลำคอชนิดสความัสเซลล์.....3
ตารางที่ 2.1	แสดงระบบ TNM stage ขององค์กร AJCC.....24
ตารางที่ 4.1	แสดงโครโมเจนที่นิยมใช้กับแอนไทม์โนวีที IHC..... 48
ตารางที่ 7.1	แสดงข้อมูลพื้นฐานทั่วไปของผู้ป่วยทั้งหมด 63
ตารางที่ 7.2	แสดงลักษณะพื้นฐานเปรียบเทียบกลุ่มที่ให้ผลบวกและผลลบต่อการตรวจ โปรตีนเรตินอบลาสโตมา 67
ตารางที่ 7.3	แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยต่างๆกับอัตราการรอดชีวิตโดยรวม 71
ตารางที่ 7.4	แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยต่างๆกับอัตราการรอดชีวิตแยกตามสถานะ โปรตีนเรตินอบลาสโตมา..... 73
ตารางที่ 7.5	แสดงการเปรียบเทียบค่ามัธยฐานการรอดชีวิตระหว่างกลุ่มต่างๆ..... 75
ตารางที่ 8.1	แสดงข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและลำคอที่ไม่พบการติดเชื้อไวรัส เอชพีวีเปรียบเทียบแต่ละการศึกษา..... 77

สารบัญแผนภูมิหรือรูปภาพ

		หน้า
ภาพที่ 2.1	แสดงตำแหน่งของการเกิดมะเร็งศีรษะและลำคอ	10
ภาพที่ 2.2	แสดงแบบจำลอง Genetic Instability และ Progression ในมะเร็งศีรษะและ ลำคอ	16
ภาพที่ 2.3	แสดงชนิดของยีนที่เกิดการกลายพันธุ์ในมะเร็งศีรษะและลำคอ	17
ภาพที่ 2.4	แสดงลักษณะทางพยาธิวิทยาของมะเร็งศีรษะและลำคอจากเยื่อเมือกความถี่ ..	18
ภาพที่ 3.1	แสดงโครโมโซมคู่ที่ 13 แสดงตำแหน่งยีนเรตินอบลาสโตมา	29
ภาพที่ 3.2	แสดง Two-hit Hypothesis ของยีนเรตินอบลาสโตมา	30
ภาพที่ 3.3	แสดงวัฏจักรของเซลล์	31
ภาพที่ 3.4	แสดง Check points ในวัฏจักรของเซลล์	32
ภาพที่ 3.5	แสดงการควบคุมวัฏจักรของเซลล์ในระยะ G1 phase	34
ภาพที่ 3.6	แสดงการกระตุ้นการทำงานของยีนเรตินอบลาสโตมาผ่านตัวรับต่างๆ	35
ภาพที่ 4.1	แสดงการยึดเกาะระหว่างแอนติเจนและแอนติบอดี	38
ภาพที่ 4.2	แสดงวิธีการ Direct method	45
ภาพที่ 4.3	แสดงวิธีการ Indirect method	45
ภาพที่ 4.4	แสดง PAP method	46
ภาพที่ 4.5	แสดง Avidin-biotin complex (ABC) method	47
ภาพที่ 5.1	แสดงเทคนิคไมโครแอเรย์	54

แผนภูมิที่ 2.2	แสดงแสดงอุบัติการณ์เกิดมะเร็งศีรษะและลำคอของผู้ป่วยในทวีปยุโรปจำแนกตามตำแหน่งที่เกิดโรคและอายุ	11
แผนภูมิที่ 2.3	แสดงแสดงร้อยละอัตราการรอดชีวิตที่ 5 ปี จำแนกตามชนิดของมะเร็ง.....	12
แผนภูมิที่ 2.4	แสดงความสัมพันธ์ระหว่างการปริมาณการสูบบุหรี่กับการเกิดมะเร็งศีรษะและลำคอ	14
แผนภูมิที่ 4.2	แสดงแผนผังขั้นตอนทางอิมมูโนพยาธิวิทยา	40
แผนภูมิที่ 7.1	แสดงการรวบรวมชิ้นเนื้อมะเร็งศีรษะและลำคอที่ไม่ใช่มะเร็งหลังโพรงจมูกเพื่อทำการตรวจสถานะโปรตีนเรตินอบลาสโตมา	60
แผนภูมิที่ 7.2	แสดงแสดงกราฟการรอดชีวิตของผู้ป่วยทั้งหมด.....	65
แผนภูมิที่ 7.3	แสดงกราฟการรอดชีวิตเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่ให้ผลบวกและผลลบต่อโปรตีนเรตินอบลาสโตมา	70
แผนภูมิที่ 7.4	แสดงกราฟการรอดชีวิตเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มระยะชะก้อนมะเร็ง 1/2 (T-stage 1/2) และ 3/4 (T-stage 3/4)	72
แผนภูมิที่ 7.5	แสดงกราฟการรอดชีวิตเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่ให้ผลบวกและผลลบต่อโปรตีนเรตินอบลาสโตมาในผู้ป่วยมะเร็งช่องปาก.....	74
แผนภูมิที่ 7.6	แสดงกราฟการรอดชีวิตเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่ให้ผลบวกและผลลบต่อโปรตีนเรตินอบลาสโตมาในผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและลำคอที่ไม่ใช่มะเร็งช่องปาก	75

บทที่ 1

บทนำ

1.1. ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย (Background and Rationale)

ผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและลำคอชนิดสความัสเซลล์พบอุบัติการณ์ได้ทั่วโลกและมีแนวโน้มสูงขึ้น ทั้งในต่างประเทศโดยเฉพาะในทวีปยุโรปและสหรัฐอเมริกา รวมทั้งในประเทศไทยด้วย คิดเป็นร้อยละ 1-8(1) ของมะเร็งทั้งหมด จากการศึกษาข้อมูลทางระบาดวิทยาในสหรัฐอเมริกาพบว่าผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและลำคอพบมากขึ้นในช่วงอายุน้อยคือช่วงอายุ 20-44 ปี(2)

ผู้ป่วยส่วนใหญ่มักมาพบแพทย์ในระยะที่โรคลุกลาม ทำให้ได้ผลการรักษาไม่ดี นอกจากนี้ ความแตกต่างของการตอบสนองต่อการรักษามะเร็งศีรษะและลำคอในแต่ละอวัยวะ และการขาดปัจจัยพยากรณ์โรค ทำให้ผลการรักษาในมะเร็งกลุ่มดังกล่าวมักพบอัตราการกลับเป็นซ้ำอยู่ในเกณฑ์สูง และมากกว่าครึ่งของผู้ป่วยเสียชีวิตในระยะเวลา 5 ปี

ปัจจัยสำคัญของการเกิดมะเร็งศีรษะและลำคอชนิดสความัสเซลล์ เช่น พฤติกรรมการสูบบุหรี่ การดื่มเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ สุขลักษณะช่องปากและฟันที่ขาดการดูแล รวมถึงการเคี้ยวหมาก ถือเป็นปัจจัยสำคัญหลักของการเกิดโรค นอกจากปัจจัยทางพฤติกรรมเหล่านี้แล้ว จากข้อมูลจากการศึกษาในปัจจุบันพบว่า การติดเชื้อไวรัสเอชพีวี เป็นสาเหตุสำคัญประการหนึ่งของการเกิดมะเร็งศีรษะและลำคอชนิดที่ไม่ใช่มะเร็งหลังโพรงจมูกเช่นกัน โดยพบมากในผู้ป่วยเพศชาย อายุน้อย มีประวัติการเปลี่ยนคู่นอนบ่อยและมีประวัติโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ โดยอาจไม่มีประวัติสูบบุหรี่หรือดื่มเครื่องดื่มแอลกอฮอล์มาก่อน (3-6)

จากการศึกษาพบว่าอุบัติการณ์การติดเชื้อไวรัสเอชพีวี ในมะเร็งศีรษะและลำคอ พบเฉลี่ยประมาณร้อยละ 25.9 โดยมีการพยากรณ์โรคที่ดี การตอบสนองที่ดีต่อรังสีรักษาและเคมีบำบัด และมีอัตราการรอดชีวิตที่ 3 ปี ร้อยละ 82.4(7) ดังนั้นประมาณร้อยละ 75 ซึ่งเป็นส่วนใหญ่ของผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและลำคอไม่พบการติดเชื้อไวรัสเอชพีวีซึ่งเป็นปัจจัยเสี่ยงที่สำคัญในการเกิดโรค

กลไกการเกิดโรคของผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและลำคอที่พบการติดเชื้อไวรัสเอชพีวีนั้น เกิดจากการที่ไวรัสเอชพีวีจับกับเยื่อเซลล์ผิวชนิดสความัส (Squamous epithelium) ไวรัสจะสร้าง โปรตีนก่อมะเร็ง

(viral oncoprotein) E6/E7 ซึ่งมีผลให้เกิดการยับยั้ง p53 และยีนเรตินอบลาสโตมา (retinoblastoma gene) ตามลำดับ ซึ่งมีบทบาทหลักต่อวัฏจักรของเซลล์ปกติ ทำให้เกิดการกลายพันธุ์เป็นมะเร็ง โดยในส่วนของกลไกต่อยีนเรตินอบลาสโตมา (retinoblastoma gene) ซึ่งเป็นตัวควบคุมวัฏจักรของเซลล์ ในภาวะปกติ โปรตีนเรตินอบลาสโตมาจะจับกับโปรตีนที่เป็นตัวกระตุ้นให้เกิดการดำเนินไปในวัฏจักรของเซลล์ คือ E2F เกิดเป็น pRb-E2F complex ทำให้ไม่เกิดการแบ่งตัวของเซลล์ (Cell cycle arrest) เมื่อมีการติดเชื้อไวรัสเอชพีวี โปรตีนก่อมะเร็ง E7 จะจับกับโปรตีนเรตินอบลาสโตมา ทำให้โปรตีนเรตินอบลาสโตมาไม่สามารถจับกับ E2F ดังนั้น E2F จึงเป็นอิสระ จึงทำให้เกิดการลดลงของโปรตีนเรตินอบลาสโตมาและยังทำให้เกิดการสูญเสียหน้าที่การทำงานในการยับยั้งการเกิดมะเร็งไป การลดลงของโปรตีนเรตินอบลาสโตมาทำให้เกิดการเพิ่มขึ้นของ p16 (loss of feedback mechanism) ซึ่ง p16 นั้นถือเป็นตัวแทน (surrogate marker) (8, 9) และเป็นตัวพยากรณ์โรคที่ดีของมะเร็งศีรษะและลำคอที่สัมพันธ์กับการติดเชื้อไวรัสเอชพีวี (10)

จากการศึกษาที่ผ่านมา มีการแสดงความชุกของโปรตีน pRb และโปรตีน p16 ในมะเร็งศีรษะและลำคอชนิดสควamous cell โดยไม่ได้มีการตรวจสอบสถานะการติดเชื้อไวรัสเอชพีวี พบว่ามีความแตกต่างกันของอุบัติการณ์ในแต่ละการศึกษาค่อนข้างมาก จากข้อมูลดังกล่าวพบความชุกของโปรตีนเรตินอบลาสโตมา (pRb) และโปรตีน p16 ผันแปรคิดเป็นร้อยละ 6-74 (11, 12) และร้อยละ 19-89 (13, 14) ตามลำดับ ดังตารางที่ 1.1

มีการรวบรวมการศึกษาถึงการลดลงของโปรตีนเรตินอบลาสโตมาในมะเร็งศีรษะและลำคอด้วยวิธีทางอิมมูโนพยาธิวิทยา (Immunohistochemistry) พบว่า มี 2 การศึกษาที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างการลดลงของโปรตีนเรตินอบลาสโตมากับอัตราการรอดชีวิตที่ลดลง (15) (16)

Study, Year	Patients	Method	Rb Abnormal	Measure	Results
Dokiya et al 1998 ²⁸	72	IHC	29%	Survival	Worse with abnormality
El-Naggar et al 1999 ²⁹	35	IHC	6%		
Ioachim et al 1999 ³⁰	41	IHC	30%		
Koontongkaew et al 2000 ³¹	53	IHC	74%		
Nakahara et al 2000 ³²	78	IHC	56%		
Pande et al 1998 ³³	35	IHC	66%		
Pavelic et al 1996 ³⁴	182	IHC	27%	Survival	T1 tumors worse with abnormality
Regezi et al 1999 ³⁵	55	IHC	40%		
Xu et al 1998 ³⁶	34	IHC	9%		

ตารางที่ 1.1 แสดงการศึกษาถึงการลดลงของโปรตีนเรตินوبลาสโตมาในมะเร็งศีรษะและลำคอชนิดสความัสเซลล์ (17)

อย่างไรก็ตาม มีการศึกษาโดย Nemes. และคณะ (10) ที่ได้ศึกษาเปรียบเทียบความชุกของโปรตีนเรตินوبลาสโตมาในผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและลำคอร่วมกับสถานะการติดเชื้อไวรัสเอชพีวีร่วมด้วย พบความชุกของโปรตีนเรตินوبลาสโตมาในประชากรทั้งที่มีการติดเชื้อและตรวจไม่พบการติดเชื้อไวรัสเอชพีวีคิดเป็นร้อยละ 81.3 และ 84.1 ตามลำดับ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P=0.745$)

จากรายงานข้างต้นทั้งหมด อาจอนุมานได้ว่า สถานะการแสดงออกของโปรตีนเรตินوبลาสโตมาในกรณีของมะเร็งศีรษะและลำคอชนิดสความัสเซลล์ที่ไม่ใช่มะเร็งหลังโพรงจมูกและไม่พบการติดเชื้อไวรัสเอชพีวีนั้น น่าจะมีทั้งกลุ่มที่มีการลดลงหรือกลุ่มที่มีการตรวจพบโปรตีนเรตินوبลาสโตมาโดยปราศจากอิทธิพลของไวรัสเอชพีวี กลุ่มที่มีโปรตีนเรตินوبลาสโตมาลดลง อาจส่งผลให้ E2F เป็นอิสระและเกิดการดำเนินไปของวัฏจักรของเซลล์และเกิดเป็นมะเร็งขึ้น (10, 21) ดังนั้น การตรวจสถานะของโปรตีนเรตินوبลาสโตมา อาจเป็นตัวแทนและตัวพยากรณ์โรคของมะเร็งศีรษะและลำคอชนิดสความัสเซลล์ที่ไม่ใช่มะเร็งหลังโพรงจมูกและไม่พบการติดเชื้อไวรัสเอชพีวีได้ ซึ่งจากการศึกษาที่ผ่านมายังไม่พบข้อมูลที่ชัดเจนถึงบทบาทของโปรตีนเรตินوبลาสโตมาในประชากรกลุ่มนี้

สำหรับข้อมูลในผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและลำคอชนิดสความัสเซลล์ที่ไม่พบการติดเชื้อไวรัสเอชพีวีซึ่งพบผู้ป่วยในสัดส่วนที่มากกว่าผู้ป่วยที่พบการติดเชื้อเอชพีวี ปัจจุบันยังไม่มีรายงานความชุกของโปรตีน

เรตินوبลาสโตมาที่ชัดเจน ซึ่งเรตินوبลาสโตมาเป็นโปรตีนที่ตรวจพบได้ในกรณีนี้และน่าจะสามารถเป็นตัวแทน (surrogate marker) และเป็นตัวพยากรณ์โรคได้ ในปัจจุบันข้อมูลที่มีรายงานส่วนใหญ่ไม่ได้ตรวจสอบสถานะของการติดเชื้อเอชพีวีร่วมด้วย การศึกษาความชุกของโปรตีนเรตินوبลาสโตมาในผู้ป่วยกลุ่มดังกล่าวในประเทศไทย จะเป็นพื้นฐานที่สำคัญสำหรับการศึกษาบทบาทของเรตินوبลาสโตมาในมะเร็งศีรษะและคอชนิดสควamousเซลล์ที่ไม่เกี่ยวข้องกันกับไวรัสเอชพีวีต่อไป

1.2. คำถามของการวิจัย (Research question)

คำถามหลัก (Primary research question)

ความชุกของโปรตีนเรตินوبลาสโตมา (pRb) ในมะเร็งศีรษะและลำคอชนิดสควamousเซลล์ที่ไม่ใช่ มะเร็งหลังโพรงจมูกและไม่พบการติดเชื้อไวรัสเอชพีวี ในผู้ป่วยที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์เป็นเท่าใด

คำถามรอง (Secondary research question)

ลักษณะทางคลินิก, ผลการตรวจทางพยาธิวิทยา, การตอบสนองต่อการรักษาและพยากรณ์โรคของมะเร็งศีรษะและลำคอชนิดสควamousเซลล์กลุ่มที่ศึกษากับสถานะการแสดงออกของโปรตีนเรตินอบลาสโตมา

1.3. วัตถุประสงค์ของการวิจัย (Objective)

1. ทราบความชุกของโปรตีนเรตินอบลาสโตมา ในมะเร็งศีรษะและลำคอชนิดสควamousเซลล์ที่ไม่ใช่ มะเร็งหลังโพรงจมูกและไม่พบการติดเชื้อไวรัสเอชพีวี

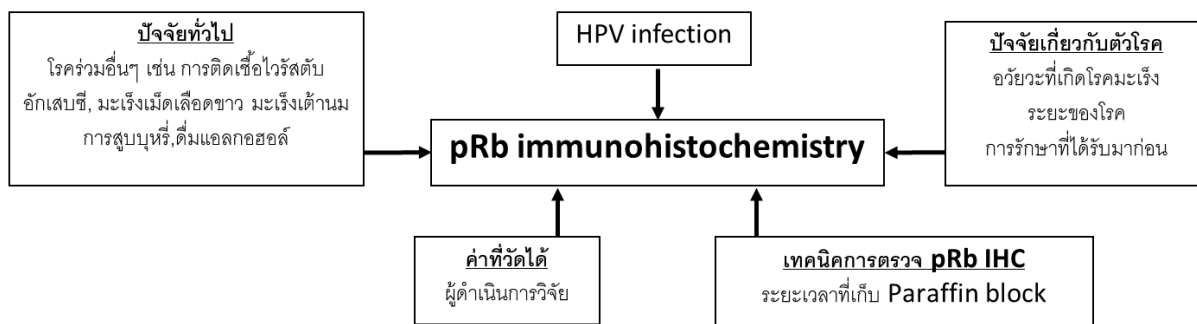
2. ทราบลักษณะทางคลินิก การตอบสนองต่อการรักษาและพยากรณ์โรคของมะเร็งศีรษะและลำคอชนิดสควamousเซลล์ที่ไม่ใช่ มะเร็งหลังโพรงจมูกและไม่พบการติดเชื้อไวรัสเอชพีวีที่สัมพันธ์กับโปรตีนเรตินอบลาสโตมา

1.4. สมมติฐาน (Hypothesis)

H₀ : ความชุกของการขาดโปรตีนเรตินโนบลาสโตมาในผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและ
ลำคอชนิดสควมัสเซลล์ที่ไม่ใช่มะเร็งหลังโพรงจมูกและไม่พบการติดเชื้อ
ไวรัสเอชพีวีเท่ากับร้อยละ 84(10)

H₁ : ความชุกของการขาดโปรตีนเรตินโนบลาสโตมาในผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและ
ลำคอชนิดสควมัสเซลล์ที่ไม่ใช่มะเร็งหลังโพรงจมูกและไม่พบการติดเชื้อ
ไวรัสเอชพีวีไม่เท่ากับร้อยละ 84

1.5. กรอบแนวความคิดในการวิจัย (Conceptual Framework)



1.6. ข้อตกลงเบื้องต้น ไม่มี

1.7. คำสำคัญ (Key words)

- Retinoblastoma Protein
- Head and Neck Cancer
- Squamous Cell Carcinoma

1.8. การให้คำนิยามเชิงปฏิบัติที่จะใช้ในการวิจัย (Operational definitions)

1. มะเร็งศีรษะและลำคอชนิดสความัสเซลล์ที่ไม่ใช่มะเร็งหลังโพรงจมูก (Non-Nasopharyngeal Head and Neck Squamous Cell Carcinomas) หมายถึง พบเซลล์มะเร็งชนิดสความัสเซลล์จากการตรวจทางพยาธิวิทยาของชิ้นเนื้อมะเร็งปฐมภูมิของมะเร็งศีรษะและลำคอ ในตำแหน่งดังต่อไปนี้ ริมฝีปาก ช่องปาก เหงือก ลิ้น ช่องคอ โพรงอากาศรอบจมูก คอหอย ต่อม้ำลายและกล่องเสียง หรือชิ้นเนื้อจากตำแหน่งแพร่กระจายของมะเร็งศีรษะและลำคอก็ได้ ซึ่งไม่ใช่บริเวณหลังโพรงจมูก

2. ไม่พบการติดเชื้อไวรัสเอชพีวี (Negative Human Papilloma Virus) หมายถึง การตรวจไม่พบการติดเชื้อไวรัสเอชพีวีด้วยวิธีการพีซีอาร์ (PCR for HPV) ในชิ้นเนื้อทางพยาธิวิทยาที่เป็นมะเร็งชนิดสควamous เซลล์บริเวณศีรษะและลำคอที่ไม่ใช่หลังโพรงจมูก

1.9. รูปแบบการวิจัย (Research Design)

เป็นการศึกษาเชิงพรรณนา ณ จุดเวลาใดเวลาหนึ่ง
(Cross-sectional Descriptive study)

1.10. ข้อพิจารณาด้านจริยธรรม (Ethical Consideration)

1. **หลักความเคารพในบุคคล (respect of person)** โดยการขอความยินยอมเข้าร่วมในงานวิจัย แต่การวิจัยนี้เป็นการศึกษาจากเวชระเบียน และไม่มี การติดต่อเพื่อเก็บข้อมูลโดยตรงจากผู้ป่วย อย่างไรก็ตาม ผู้วิจัยจึงต้องการขอยกเว้นการขอความยินยอมจากผู้ป่วย โดยจะขออนุญาตจากผู้อำนวยการโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ เพื่อใช้เวชระเบียนและตัวอย่างชิ้นเนื้อจากผู้ป่วย

2. **หลักการให้ประโยชน์ ไม่ก่อให้เกิดอันตราย (Beneficence/Non-maleficence)** ผู้ป่วยจะไม่รับประโยชน์ใดๆ โดยอาจเกิดความเสียหายต่อตัวผู้ป่วยเพียงเล็กน้อย คือ ความลับของผู้ป่วยอาจถูกเปิดเผย แต่ผู้วิจัยจะเก็บรักษาความลับของผู้ป่วยโดยในแบบบันทึกข้อมูลจะไม่มีตัวระบุ (identifier) ที่จะระบุถึงตัวผู้ป่วย

3. **หลักความยุติธรรม (Justice)** โดยผู้วิจัยมีเกณฑ์การคัดเลือกและคัดออกที่ชัดเจน

1.11. ข้อจำกัดของการวิจัย (Limitation)

1. การตรวจสอบสถานะโปรตีนเรตินوبลาสโตมาด้วยวิธี immunohistochemistry: ชิ้นเนื้อพาราฟิน ที่ทำการเก็บไว้นาน อาจให้ผลลบลงจากการตรวจ immunohistochemistry ได้เนื่องจากการเสื่อมสภาพของโปรตีน

แนวทางป้องกันและแก้ไข: คัดเลือกชิ้นเนื้อทางพยาธิวิทยาที่มีอายุไม่เกิน 15 ปี และพยาธิแพทย์ทำการตรวจสอบสภาพชิ้นเนื้อพาราฟินและตรวจสอบสไลด์ชิ้นเนื้อหลังทำการตัดก่อนการตรวจด้วยวิธี immunohistochemistry ทุกชิ้น ว่าสามารถใช้ในการตรวจ

2. ผู้ป่วยบางส่วนขาดการติดต่อ ทำให้ขาดรายละเอียดการตอบสนองต่อการรักษา, การรอดชีวิต ทำให้ไม่สามารถสรุปผลพยากรณ์โรคได้

แนวทางป้องกันและแก้ไข: ในกรณีขาดรายละเอียดในการรอดชีวิต ใช้วิธีการติดตามข้อมูลด้วยการโทรศัพท์สอบถามและตรวจสอบรายชื่อการเสียชีวิตในทะเบียนราษฎร์

1.12. ผลหรือประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย (Expected benefits and application)

1. ทราบความชุกและชนิดของโปรตีนเรตินوبลาสโตมาในมะเร็งศีรษะและลำคอชนิดสควamousเซลล์ที่ไม่ใช่มะเร็งหลังโพรงจมูกและไม่พบการติดเชื้อไวรัสเอชพีวี

2. ทราบถึงการพยากรณ์โรค การตอบสนองต่อการรักษาในผู้ป่วยกลุ่มดังกล่าว ซึ่งอาจสามารถนำมาใช้ในการกำหนดการศึกษาวินิจฉัยและวางแผนการรักษาในอนาคต

1.13. อุปสรรคที่อาจเกิดขึ้นระหว่างการวิจัยและมาตรการในการแก้ไข (Obstacles and strategies to solve the problems)

1. เทคนิคการตรวจสอบสถานะโปรตีนเรตินوبลาสโตมาด้วยวิธี immunohistochemistry อาจเกิดผลบวกหรือผลลบลงได้ จากกระบวนการตรวจทางห้องปฏิบัติการ ซึ่งแก้ไขโดยการกำหนดวิธีการ

ตรวจสอบให้เป็นมาตรฐาน, มีกลุ่มควบคุมทั้งผลบวกและผลลบ, ดำเนินการตรวจโดยใช้เจ้าหน้าที่เทคนิคเพียงท่านเดียวในการทดสอบ และกำหนดมาตรฐานในการแปลผลการตรวจ

2. เทคนิคการตรวจสถานะไวรัสเอชพีวี ทั้งการตรวจด้วยวิธี PCR genotype อาจเกิดผลบวกหรือผลลบวงได้ จากกระบวนการตรวจทางห้องปฏิบัติการ ซึ่งแก้ไขโดยการกำหนดวิธีการตรวจสอบให้เป็นมาตรฐาน, มีกลุ่มควบคุมทั้งผลบวกและผลลบ, ดำเนินการตรวจโดยใช้เจ้าหน้าที่เทคนิคเพียงท่านเดียวในการทดสอบ และกำหนดมาตรฐานในการแปลผลการตรวจ

3. การติดตามเวชระเบียนของผู้ป่วย อาจพบผู้ป่วยบางส่วนที่ขาดการติดต่อ ทำให้ไม่ทราบพยากรณ์โรคที่ชัดเจน แก้ไขโดยการติดตามข้อมูลทางโทรศัพท์ หรือจดหมายติดตาม และในรายที่ไม่สามารถติดตามได้ จะถูกตัดออกจากการวิเคราะห์ข้อมูลในส่วนพยากรณ์โรค

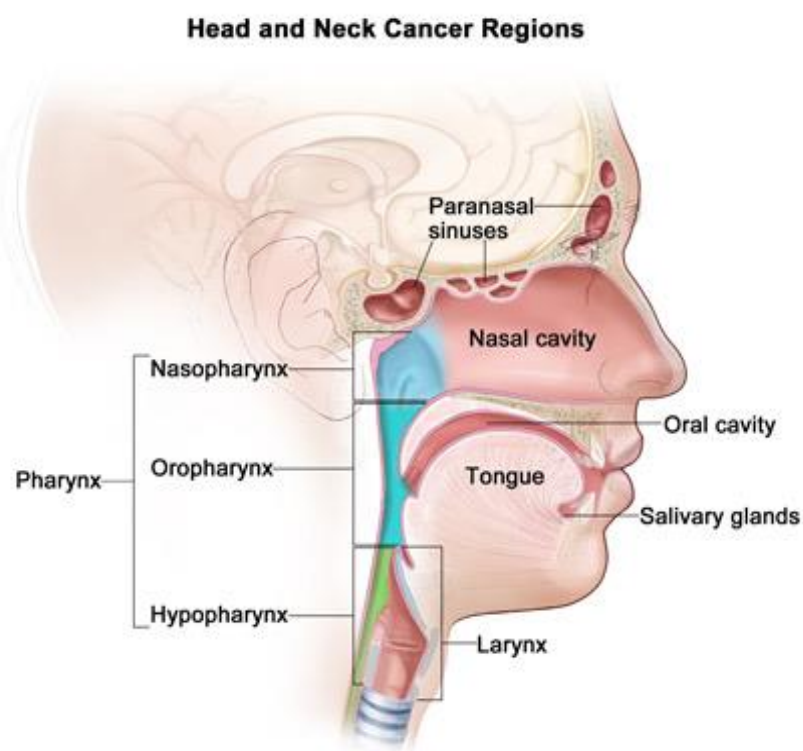
บทที่ 2

มะเร็งของศีรษะและลำคอ

(Head and Neck Cancer)

2.1 บทนำ

มะเร็งของศีรษะและลำคอ หมายถึง มะเร็งที่เกิดขึ้นในเยื่อเมือกทางเดินหายใจและทางเดินอาหารส่วนต้น โดยตำแหน่งที่สำคัญที่อาจเกิดเป็นมะเร็ง ได้แก่ ริมฝีปาก ช่องปาก เหงือก ลิ้น ช่องคอ โพงอากาศรอบจมูก คอหอย ต่อม้ำลายและกล่องเสียง เป็นต้น

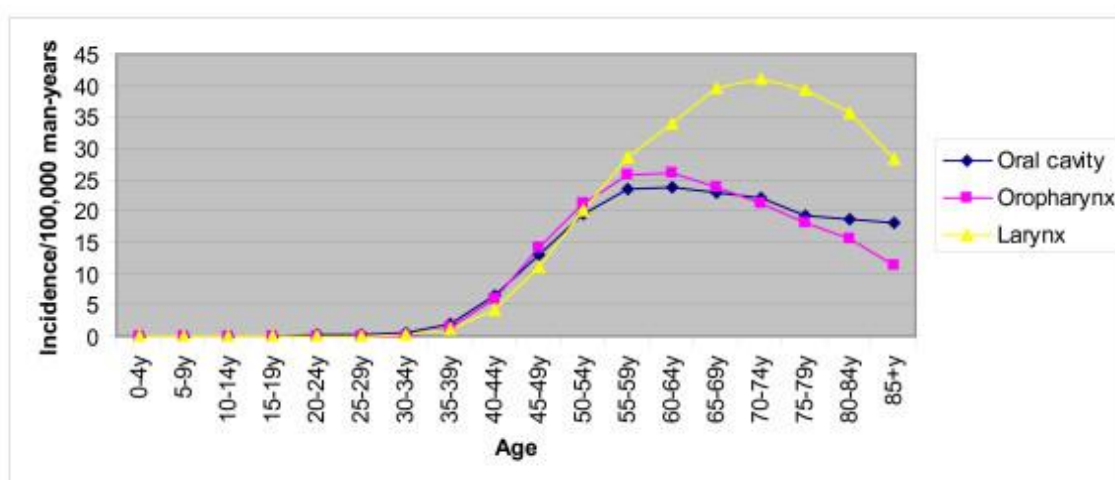


ภาพที่ 2.1 แสดงตำแหน่งของการเกิดมะเร็งศีรษะและลำคอ(18)

ผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและลำคอพบอุบัติการณ์ได้ทั่วโลกและมีแนวโน้มสูงขึ้น ทั้งในต่างประเทศ โดยเฉพาะในทวีปยุโรปและสหรัฐอเมริกา รวมทั้งในประเทศไทยด้วย คิดเป็นร้อยละ 1-8 ของมะเร็งทั้งหมด

(1) จากข้อมูลการศึกษาในปี พ.ศ.2544 พบผู้ป่วยใหม่ทั่วโลกประมาณ 481,100 ราย และมีผู้ป่วยเสียชีวิตประมาณ 320,000 ราย ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญของการเสียชีวิตในผู้ป่วยมะเร็งเป็นอันดับที่ 8(19) จากการศึกษาข้อมูลทางระบาดวิทยาในสหรัฐอเมริกาพบว่าผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและลำคอพบมากขึ้นในช่วงอายุน้อยคือช่วงอายุ 20-44 ปี (2)

จากการศึกษา Susanne Hartwig(20) ทำการเก็บข้อมูลอุบัติการณ์เกิดมะเร็งศีรษะและลำคอของผู้ป่วย 26 ประเทศในทวีปยุโรป พบว่าอุบัติการณ์เกิดโรคมะเร็งเพิ่มขึ้นในช่วงอายุ 50-70 ปี



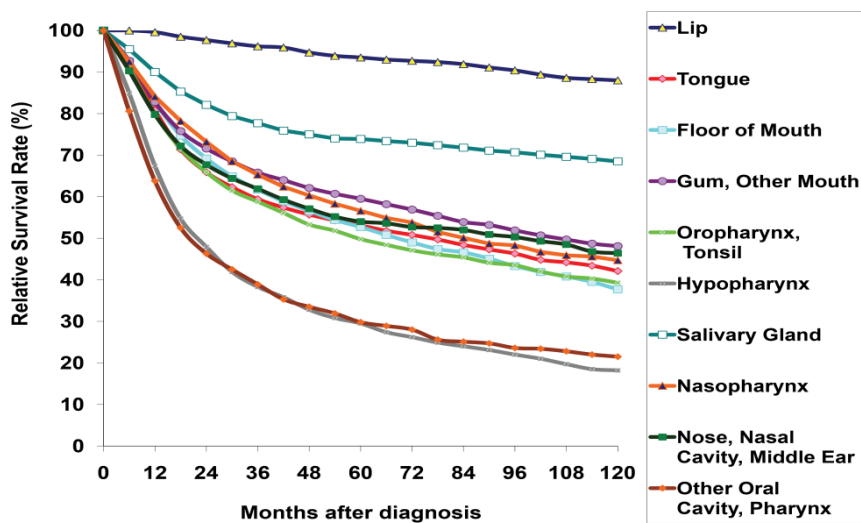
แผนภูมิที่ 2.2 แสดงอุบัติการณ์เกิดมะเร็งศีรษะและลำคอของผู้ป่วยในทวีปยุโรป จำแนกตามตำแหน่งที่เกิดโรคและอายุ (17)

จากหลักฐานปัจจุบันพบว่า อุบัติการณ์เพิ่มมากขึ้นในช่วงหลัง Shiboski และคณะ(2) รายงานเปรียบเทียบอุบัติการณ์ระหว่างปี ค.ศ. 1973-2001 พบว่าอุบัติการณ์เพิ่มมากขึ้นประมาณร้อยละ 1-4 โดยเฉพาะมะเร็งช่องปาก และมะเร็งคอหอย เช่นเดียวกับ Schantz และ Yu(21) พบว่าระหว่างปี ค.ศ. 1973-1997 อุบัติการณ์ในมะเร็งช่องปากเพิ่มขึ้นกว่าร้อยละ 60

จากการเก็บข้อมูลในประเทศไทยโดยสถาบันมะเร็งแห่งชาติพบว่า อุบัติการณ์ของมะเร็งศีรษะและลำคอพบมากเป็นอันดับ 3 ของมะเร็งที่พบในประเทศไทย โดยเฉพาะในเพศชายที่สูบบุหรี่และดื่มสุรา (22) โดยในช่วงปี พ.ศ.2544-2546 พบผู้ป่วยรายใหม่มากกว่า 8,000 ราย โดยอุบัติการณ์พบมากในช่วงอายุมากกว่า 50-60 ปีขึ้นไป (23)

จากข้อมูลของ SEER ในปี 1988-2001 พบว่ามะเร็งศีรษะและลำคอแต่ละชนิดมีอัตราการรอดชีวิตที่แตกต่างกัน โดยพบว่ามะเร็งริมฝีปากมีอัตราการรอดชีวิตที่ 5 ปี ที่ดีที่สุด คิดเป็นร้อยละ 95 รองลงมาคือ มะเร็งต่อมน้ำลาย คิดเป็นร้อยละ 75-80 และชนิดที่อัตราการรอดชีวิตที่ 5 ปี ต่ำที่สุดคือ มะเร็งคอหอยส่วนล่าง, มะเร็งช่องปากและมะเร็งอื่นๆ คิดเป็นร้อยละ 25-30

Figure 2.1: Cancer of the Head and Neck: Relative Survival Rate (%) by Primary Site, Ages 20+, 12 SEER Areas, 1988-2001



แผนภูมิที่ 2.3 แสดงร้อยละอัตราการรอดชีวิตที่ 5 ปี จำแนกชนิดของมะเร็ง(24)

2.2 ลักษณะทางระบาดวิทยา (25)

เพศพบอุบัติการณ์ได้บ่อยในเพศชาย ร้อยละ 65-95 โดยพบเป็นสัดส่วนเพศชายต่อเพศหญิง 3:1 อุตติการณ์การเกิดโรคพบมากที่บริเวณช่องปากและคอหอย แต่ในช่วงหลังพบว่า อุตติการณ์พบในเพศหญิงมากขึ้น ในกลุ่มที่สูบบุหรี่และดื่มสุรา

อายุ อุตติการณ์ของมะเร็งศีรษะและลำคอพบมากขึ้นสัมพันธ์กับอายุโดยเฉพาะอย่างยิ่งในผู้ป่วยที่อายุมากกว่า 50 ปี โดยผู้ป่วยส่วนใหญ่มีอายุ 50-70 ปี ในกลุ่มผู้ป่วยอายุน้อยที่พบมะเร็งศีรษะและลำคอ

โดยเฉพาะมะเร็งในช่องปากและคอหอยปาก มีอายุอยู่ในช่วง 30-40 ปี และมักพบว่ามีความสัมพันธ์กับการสูบบุหรี่ การติดเชื้อไวรัสเอชพีวี และพบอุบัติการณ์มากขึ้นในเพศหญิง

เชื้อชาติ มักพบมะเร็งศีรษะและลำคอได้บ่อยในผู้ป่วยเชื้อชาติ African American มากกว่าผู้ป่วยผิวขาวและผู้ป่วยเอเชีย นอกจากนี้ยังพบว่าการพยากรณ์โรคที่ไม่ดีในผู้ป่วยเชื้อชาติ African American ส่วนหนึ่งเชื่อว่าผู้ป่วยเชื้อชาติ African American มีพฤติกรรมการสูบบุหรี่และดื่มสุรามากกว่าผู้ป่วยผิวขาวและผู้ป่วยเอเชีย

ตำแหน่งเกิดมะเร็ง พบการเกิดมะเร็งช่องปาก (Oral cavity) และมะเร็งคอหอยส่วนปาก (Oropharynx) ได้บ่อยโดยที่มีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นในช่วงหลายปีหลัง ส่วนหนึ่งเชื่อว่า อาจมีความสัมพันธ์ระหว่าง การติดเชื้อไวรัสเอชพีวีกับการก่อมะเร็งคอหอยส่วนปาก ทั้งนี้ ในส่วนของมะเร็งช่องปาก ยังมีข้อถกเถียงถึงความสัมพันธ์ดังกล่าว

ระยะของโรค จากข้อมูลของ SEER พบว่าผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและลำคอกันมาทั้งในระยะเริ่มต้น (Early stage) และระยะที่มีการลุกลามไปต่อมน้ำเหลืองข้างเคียง (Locally advance stage) มากกว่าระยะลุกลาม (Metastatic stage)

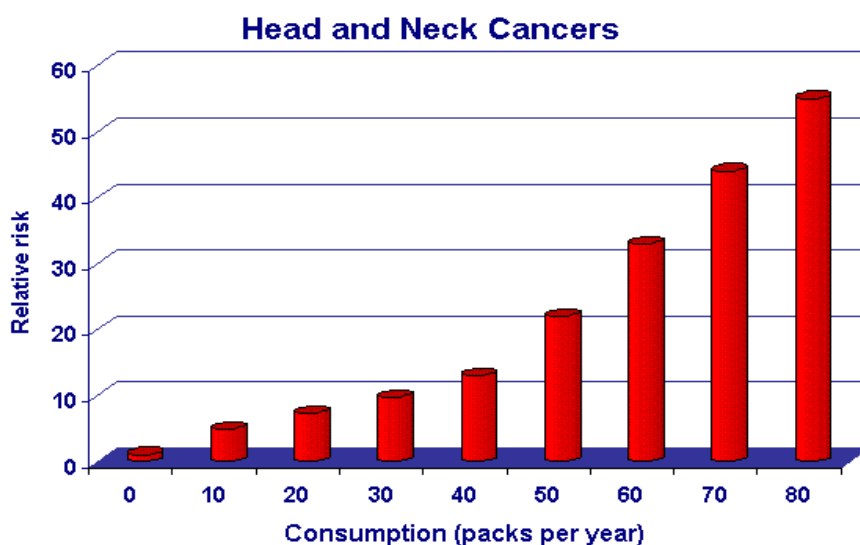
2.3 สาเหตุและปัจจัยเสี่ยง

ปัจจัยสำคัญของการเกิดมะเร็งศีรษะและลำคอชนิดสควาโมสเซลล์ เช่น พฤติกรรมการสูบบุหรี่, การดื่มเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ สุขลักษณะช่องปากและพื้นที่ขาดการดูแล รวมถึงการเคี้ยวหมาก และการติดเชื้อไวรัสบางชนิด เช่น เชื้อไวรัสเอชพีวี (HPV), อีบีวี (EBV) ถือเป็นปัจจัยสำคัญของการเกิดโรคมะเร็งศีรษะและลำคอ

การสูบบุหรี่และดื่มสุรา

บุหรี่เป็นปัจจัยเสี่ยงที่มีความสำคัญในผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและลำคอ โดยพบอุบัติการณ์เพิ่มขึ้น 6 เท่าในผู้ที่สูบบุหรี่ และพบว่าในผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและลำคอที่มีประวัติสูบบุหรี่มีการพยากรณ์โรคที่ไม่ดี มีอัตราการเสียชีวิตมากกว่าผู้ป่วยที่ไม่มีประวัติสูบบุหรี่ถึง 20 เท่า ในกลุ่มผู้ป่วยกลุ่มอายุน้อย แม้จะพบอัตราการสูบบุหรี่และดื่มสุราน้อยกว่ากลุ่มผู้ป่วยอายุมาก แต่การศึกษาของ Llewellyn และคณะ(26) พบการ

สูบบุหรี่ ในผู้ป่วย กลุ่มนี้ ตั้งแต่ร้อยละ 38-100 ซึ่งความสัมพันธ์กับการก่อโรคมะเร็ง โดยพบว่า การเกิดโรคมะเร็งจะเพิ่มมากขึ้น หากการสูบบุหรี่หรือดื่มสุรานั้นนานมากกว่า 21 ปี



แผนภูมิที่ 2.4 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณการสูบบุหรี่กับการเกิดมะเร็งศีรษะและลำคอ (24)

การดื่มสุร่าเป็นปัจจัยเสี่ยงที่มีความสำคัญต่อการเกิดมะเร็งศีรษะและลำคอเช่นกันแม้ว่าจะมีผลต่อการเกิดโรคน้อยกว่าการสูบบุหรี่ก็ตาม แต่จะพบการเสริมฤทธิ์ในการส่งผลให้เกิดโรคในผู้ป่วยที่ทั้งสูบบุหรี่และดื่มสุร่า

กัญชา พบหลักฐานความเกี่ยวข้องเนื่องกับการเกิดมะเร็ง โดยเฉพาะในกลุ่มที่มีการติดเชื้อไวรัสเอชพีวีร่วมด้วย

อาหาร การรับประทานผักและผลไม้มากกว่า 3 ส่วนต่อวัน ช่วยลดอัตราการเกิดมะเร็งช่องปาก และมีการศึกษาทางระบาดวิทยาพบว่า การรับประทานอาหารที่มีวิตามินเอ, เบต้าแคโรทีน (Beta-carotene) และ แอลฟาโทโคฟีรอล (Alpha-tocopherol) อาจมีส่วนช่วยลดอุบัติการณ์การเกิดมะเร็งศีรษะและลำคอ ทั้งนี้ข้อมูลดังกล่าวยังมีข้อจำกัด

ภาวะสุขภาพปากและฟัน การขาดการดูแลสุขภาพปากและฟัน เพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งในช่องปาก

การติดเชื้อไวรัส

การติดเชื้อไวรัสเอชพีวี (HPV infection) โดยเฉพาะชนิดที่ 16 เป็นปัจจัยเสี่ยงที่มีความสำคัญในการเกิดโรคมะเร็งศีรษะและลำคอชนิดสควamous เซลล์ โดยเฉพาะบริเวณคอดอยปากและช่องปาก โดยในประเทศสหรัฐอเมริกาพบผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและลำคอที่พบการติดเชื้อไวรัสเอชพีวีมีอัตราการเกิดโรคที่สูงขึ้นถึงร้อยละ 15-25 ในขณะที่ผู้ป่วยที่ไม่พบการติดเชื้อเอชพีวีมีอัตราการเกิดโรคที่ลดลง (26)

Sisk และคณะ(27) ทำการศึกษาเปรียบเทียบอุบัติการณ์ไวรัสเอชพีวีในมะเร็งศีรษะและลำคอจากกลุ่มตัวอย่างผู้ป่วยอายุน้อย (น้อยกว่า 50ปี) และผู้ป่วยอายุมาก (อายุมากกว่า 50ปี) พบว่า อุบัติการณ์ในทั้งสองกลุ่มไม่แตกต่างกัน (ร้อยละ 50 และร้อยละ 44 ตามลำดับ) เช่นเดียวกับ Koch และคณะ(28) ที่ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างไวรัสเอชพีวีกับอายุของผู้ป่วย

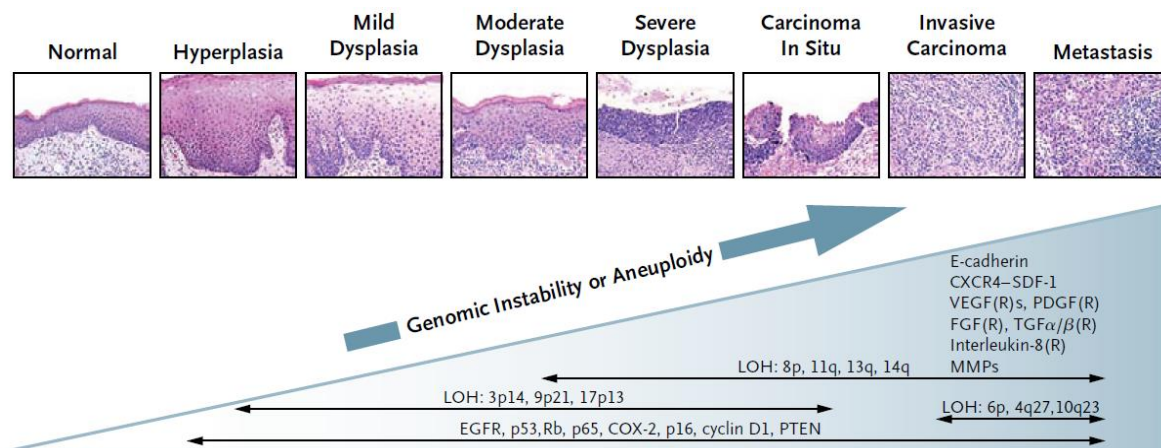
การติดเชื้อไวรัสอีบีวี (EBV infection) มีความสัมพันธ์กับการเกิดมะเร็งศีรษะและลำคอชนิดหลังโพรงจมูกและไม่พบความสัมพันธ์กับการเกิดมะเร็งชนิดที่ไม่ใช่หลังโพรงจมูก

พันธุกรรม Llewellyn และคณะ(29) พบว่าผู้ป่วยในกลุ่มนี้ จะมีประวัติครอบครัวที่ป่วยเป็นมะเร็งกว่าร้อยละ 59-75 นอกจากนี้ ยังมีกลุ่มอาการทางพันธุกรรม เช่น Fanconi anemia ซึ่งเป็นกลุ่มอาการทางพันธุกรรมที่มีการถ่ายทอดผ่านทางยีนด้อย โดยมีความผิดปกติของการซ่อมแซมดีเอ็นเอ ผู้ที่เป็นพาหะของโรคดังกล่าว จะเพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งศีรษะและลำคอในช่วงอายุน้อย และมีอายุเฉลี่ยขณะวินิจฉัยประมาณ 31 ปี อุบัติการณ์จะเพิ่มขึ้นประมาณร้อยละ 14 หลังอายุ 40 ปีขึ้นไป โดยพบการเกิดมะเร็งในช่องปากได้บ่อย และอัตราการรอดชีวิตที่ 2 ปีประมาณร้อยละ 49

2.4 พยาธิกำเนิด

มะเร็งศีรษะและลำคอชนิดสควamous เซลล์เป็นมะเร็งที่มีความหลากหลายและมีลักษณะเฉพาะในแต่ละตำแหน่งที่เกิดมะเร็ง, การแสดงออกของโรคและมีความหลากหลายทางชีววิทยา(30) ในปัจจุบันได้มี

การศึกษาถึงวิวัฒนาการขั้นต่อนต่างๆในการเกิดโรค, การเปลี่ยนแปลงในระดับอณูชีววิทยาของ (Cellular and Molecular pathway) เซลล์มะเร็งชนิดสความัสเซลล์ จนสามารถสร้างเป็นแบบจำลองการเปลี่ยนแปลงทางอณูชีววิทยาจากรอยโรคก่อนการเป็นมะเร็ง (Premalignant lesions) จนเกิดเป็นมะเร็งระยะลุกลาม (31) (32)



ภาพที่ 2.2 แสดงแบบจำลอง Genetic Instability และ Progression ในมะเร็งศีรษะและลำคอ(8)

จากข้อมูลหลายการศึกษาเกี่ยวกับความสัมพันธ์ของขั้นตอนการเกิดมะเร็งศีรษะและลำคอกับการจำแนกการขาดหายไปของยีนบนโครโมโซม หรือการเกิด Microsatellite Instability พบว่า ในช่วงแรกของการเกิดมะเร็งมีความสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงไปของ p53 tumor-suppressor gene ในขณะที่การกลายพันธุ์ของ p16 gene ซึ่งเป็นยีนที่มีหน้าที่สำคัญในการควบคุมวัฏจักรของเซลล์ จะมีบทบาทสำคัญในช่วงท้ายของการเกิดมะเร็ง(33) (34) (35) (36)

Gasco M และคณะ ทำการศึกษาในชิ้นเนื้อจากมะเร็งศีรษะและลำคอชนิดสความัสเซลล์ พบว่ามากกว่าครึ่งหนึ่งมีการกลายพันธุ์ของ p53(37) และประมาณหนึ่งในสามมีการกลายพันธุ์ของ CyclinD1(35) แต่จากการศึกษาของ Arlene Forastiere และคณะ (38) พบว่าการกลายพันธุ์ของ p16 พบได้มากที่สุดร้อยละ 80

Common Oncogene Alteration Identified in Primary Head and Neck Squamous Cell Carcinoma		
GENE	FREQUENCY (%)†	FUNCTION
Tumor-suppressor genes		
<i>p16^{INK4A}</i>	80	Senescence, cell-cycle progression
<i>p53</i>	50	Cell-cycle regulation, cell survival:
<i>PTEN</i>	10	Signaling, migration
<i>Rb</i>	<10	Cell-cycle regulation, apoptosis
Proto-oncogenes		
Cyclin D1	30	Cell-cycle regulation
<i>p63</i> (p40/p51/AIS)	30	Unknown
Epidermal growth factor receptor	<10	Cell proliferation, growth

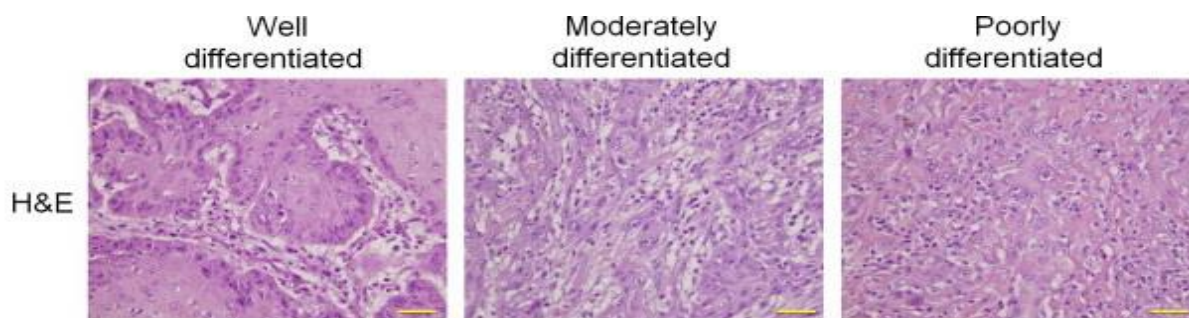
ภาพที่ 2.3 แสดงชนิดของยีนที่เกิดการกลายพันธุ์ในมะเร็งศีรษะและลำคอ(8)

ในกรณีของมะเร็งศีรษะและลำคอที่พบว่าการติดเชื้อไวรัสเอชพีวีด้วยนั้น พบว่าไวรัสเอชพีวีสามารถจับกับเซลล์ผิวชนิดสความัส (Squamous epithelium) โดยเมื่อมีการติดเชื้อเกิดขึ้น ไวรัสจะสร้างโปรตีนก่อมะเร็ง (viral oncoprotein) E6/E7 ซึ่งมีผลให้เกิดการยับยั้ง p53 และยีนเรตินอบลาสโตมา (Retinoblastoma gene) ตามลำดับ ซึ่งมีบทบาทต่อวงจรของเซลล์ปกติ ทำให้เกิดการกลายพันธุ์เป็นมะเร็ง โดยในส่วนของกลไกต่อยีนเรตินอบลาสโตมา (Retinoblastoma gene) พบว่า E7 protein ซึ่งเป็นโปรตีนก่อมะเร็งที่สร้างขึ้นจากกลไกของไวรัสเอชพีวี จะจับกับโปรตีนเรตินอบลาสโตมาซึ่งเป็น tumor suppressor protein จึงทำให้เกิดการลดลงของโปรตีนเรตินอบลาสโตมา และยังทำให้เกิดการสูญเสียหน้าที่การทำงานในการยับยั้งการเกิดมะเร็งไป(10) การลดลงของโปรตีนเรตินอบลาสโตมาทำให้เกิดการเพิ่มขึ้นของ p16 (loss of feedback mechanism) จากกลไกเหล่านี้จึงทำให้เกิดมะเร็งศีรษะและลำคออันเนื่องมาจากการติดเชื้อไวรัสเอชพีวี(8, 9)

2.5 ลักษณะทางพยาธิวิทยา

มะเร็งศีรษะและลำคอส่วนใหญ่มาจากเยื่อบุสความัส (Squamous Epithelium) ที่บริเวณทางเดินหายใจและทางเดินอาหารส่วนต้น ดังนั้นลักษณะทางพยาธิวิทยาของมะเร็งศีรษะและลำคอจึงเป็นมะเร็งชนิดสความัสเซลล์ (Squamous Cell Carcinoma) พบได้ร้อยละ 90-95 โดยพบว่าเป็นชนิด Well Differentiation ร้อยละ 75 ชนิด Moderately differentiation ร้อยละ 25-75 และชนิด poorly differentiation น้อยกว่าร้อยละ 25 นอกจากนี้ยังมีลักษณะทางพยาธิวิทยาแบบมะเร็งชนิด Adenocarcinoma ในบางอวัยวะของศีรษะและลำคอ ได้แก่ ต่อม้ำลาย นอกจากนี้ส่วนน้อยยังสามารถ

พบลักษณะทางพยาธิวิทยาชนิดอื่นๆได้ เช่น Adenoid Cystic Carcinoma, Mucoepidermoid Carcinoma, Melanoma, Lymphoma เป็นต้น



ภาพที่ 2.4 แสดงลักษณะทางพยาธิวิทยาของมะเร็งศีรษะและลำคอจากเยื่อบุสquamous (Squamous Epithelium)

2.6 การกำหนดระยะของโรคก่อนการรักษา

การกำหนดระยะของโรคก่อนทำการรักษาช่วยในการพยากรณ์โรคและการวางแผนการรักษา โดยการใช้ระบบ Tumor-Node-Metastasis (TNM staging) ขององค์กร American Joint Committee on Cancer (AJCC) staging classification โดยปัจจุบันเป็นครั้งที่ 7 ของปี ค.ศ. 2010 ซึ่งเป็นระบบมาตรฐานที่ใช้ในการกำหนดระยะของโรคมะเร็งรวมทั้งมะเร็งศีรษะและลำคอด้วย โดยระบบ TNM ได้กำหนดวิธีการกำหนดระยะของโรคด้วยการบ่งสถานะของตัวก้อนมะเร็ง (T-stage) สถานะของต่อมน้ำเหลือง (N-stage) และสถานะของการแพร่กระจาย (M-stage) แล้วนำมาวิเคราะห์รวมกันเป็นระยะของโรค โดยแบ่งเป็นระยะที่ 1, 2, 3 และ 4 โดยพบความสัมพันธ์ว่า ระยะของโรคที่มากขึ้นจะมีการพยากรณ์ของโรคที่แย่งและอัตราการมีชีวิตรอดที่ลดลง

TNM staging

จำแนกตามสถานะของตัวก้อนมะเร็ง (T-stage)

1. มะเร็งริมฝีปากและช่องปาก (Cancer of Lip and Oral Cavity)

TX: Primary tumor cannot be assessed.

T0: There is no evidence of primary tumor.

Tis: Carcinoma is *in situ*.

T1: Tumor is 2 cm or less in greatest dimension.

T2: Tumor is more than 2 cm but not greater than 4 cm in greatest dimension.

T3: Tumor is more than 4 cm in greatest dimension.

T4: (lip) Tumor invades through cortical bone, inferior alveolar nerve, floor of mouth, or skin of face—i.e., chin or nose.

T4a: (oral cavity) Tumor invades adjacent structures (e.g., through cortical bone, into deep [extrinsic] muscle of tongue [genioglossus, hypoglossus, palatoglossus, and styloglossus], maxillary sinus, skin of face).

T4b: Tumor invades masticator space, pterygoid plates, or skull base and/or encases the internal carotid artery.

2. มะเร็งคอหอย (Pharyngeal Cancer)

2.1 มะเร็งคอหอยปาก (Oropharyngeal Cancer)

T1: Tumor is 2 cm or less in greatest dimension.

T2: Tumor is more than 2 cm but not more than 4 cm in greatest dimension.

T3: Tumor is more than 4 cm in greatest dimension.

T4a: Tumor invades the larynx, deep/extrinsic muscle of the tongue, medial pterygoid, hard palate, or mandible.

T4b: Tumor invades the lateral pterygoid muscle, pterygoid plates, lateral nasopharynx, or skull base or encases the carotid artery.

2.2 มะเร็งคอหอยส่วนล่าง (Hypopharyngeal Cancer)

T1: Tumor is limited to one subsite of the hypopharynx and 2 cm or less in greatest dimension.

T2: Tumor invades more than one subsite of the hypopharynx or and adjacent site, or measures more than 2 cm but not more than 4cm. in greatest dimension without fixation of the hemilarynx.

T3: Tumor is more than 4 cm in greatest dimension or with fixation of the hemilarynx.

T4a: Tumor invades thyroid/cricoid cartilage, hyoid bone, thyroid gland, esophagus, or central compartment soft tissue.

T4b: Tumor invades prevertebral fascia, encases the carotid artery, or involves mediastinal structures.

3. มะเร็งกล่องเสียง (Laryngeal Cancer)

T1: Tumor limited to one subsite of supraglottis with normal vocal cord mobility.

T2: Tumor invades mucosa of more than one adjacent subsite of supraglottis or region outside the supreglottis (eg, mucosa of base of tongue, vallecula, medial wall of pyriform sinus) without fixation of the larynx.

T3: Tumor limited to larynx with vocal cord fixation and/or invades any of the following: postcricoid area, pre-epiglottic space, paraglottic space, and/or inner cortex of thyroid cartilage.

T4a: Moderately advanced local disease

Tumor invades through the thyroid cartilage and/or invades tissue beyond the larynx (eg, trachea, soft tissue of neck

including deep extrinsic muscle of the tongue, strap muscle, thyroid, or esophagus)

T4b: Very advanced local disease

Tumor invades prevertebral space, encases carotis artery, or invades mediastinal structures

4. มะเร็งโพรงจมูกและโพรงอากาศรอบจมูก (Nasal Cavity and Paranasal Sinuses Cancer)

4.1 มะเร็งโพรงอากาศแมกซิลลารี (Maxillary Sinus Cancer)

T1: Tumor is limited to the maxillary sinus mucosa, with no erosion or destruction of bone.

T2: Tumor is causing bone erosion or destruction, including extension into the hard palate and/or middle nasal meatus, except extension to the posterior wall of the maxillary sinus and pterygoid plates.

T3: Tumor invades any of the following: bone of the posterior wall of the maxillary sinus, subcutaneous tissues, floor, or medial wall of the orbit, pterygoid fossa, or ethmoid sinuses.

T4a: Tumor invades anterior orbital contents, skin of cheek, pterygoid plates, infratemporal fossa, cribriform plate, sphenoid or frontal sinuses.

T4b: Tumor invades any of the following: orbital apex, dura, brain, middle cranial fossa, cranial nerves other than maxillary division of trigeminal nerve (V2), nasopharynx, or clivus.

4.2 มะเร็งโพรงจมูกและโพรงอากาศเอ็ทมอยด์ (Nasal Cavity and Ethmoid Sinus Cancer)

T1: Tumor is confined to the ethmoid sinus with or without bone erosion.

T2: Tumor invades two subsites in a single region or extends to involve an adjacent region within the nasoethmoidal complex, with or without bony invasion.

T3: Tumor extends to invade the medial wall or floor of the orbit, maxillary sinus, palate, or cribriform plate.

T4a: Tumor invades any of the following: anterior orbital contents, skin of nose or cheek, minimal extension to anterior cranial fossa, pterygoid plates, sphenoid or frontal sinuses.

T4b: Tumor invades any of the following: orbital apex, dura, brain, middle cranial fossa, cranial nerves other than (V2), nasopharynx or clivus.

5. มะเร็งต่อมน้ำลาย (Salivary Gland Cancer)

T1: Tumor is 2 cm or less without extraparenchymal extension.

T2: Tumor is greater than 2 cm but not more than 4 cm without extraparenchymal extension.

T3: Tumor is more than 4 cm and/or extraparenchymal extension.

T4a: Tumor invades the skin, mandible, ear canal, and/or facial nerve.

T4b: Tumor invades the skull base and/or pterygoid plates and/or encases the carotid artery.

จำแนกตามสถานะต่อมน้ำเหลือง(N-stage)

NX: Regional lymph nodes cannot be assessed.

N0: There is no regional nodes metastasis.

N1: Metastasis is in a single ipsilateral lymph node, 3 cm or less in greatest dimension.

N2: Metastasis is in a single ipsilateral lymph node, more than 3 cm but not more than 6 cm in greatest dimension; or metastasis is in multiple ipsilateral lymph nodes, none more than 6 cm in greatest dimension; or metastasis is in bilateral or contralateral lymph nodes, none greater than 6 cm in greatest dimension.

N2a: Metastasis is in a single ipsilateral lymph node, more than 3 cm. but not more than 6 cm in greatest dimension.

N2b: Metastasis is in multiple ipsilateral lymph nodes, none more than 6 cm in greatest dimension.

N2c: Metastasis is in bilateral or contralateral lymph nodes, none more than 6 cm in greatest dimension.

N3: Metastasis is in a lymph node more than 6 cm in greatest dimension

จำแนกตามสถานการณืแพร่กระจาย (M-stage)

MX: Distant metastasis cannot be assessed.

M0: There is no distant metastasis.

M1: There is distant metastasis.

Tumor-Node-Metastasis Staging

Stage 0	Tis	N0	M0
Stage I	T1	N0	M0
Stage II	T2	N0	M0
Stage III	T3	N0	M0
	Any T	N1	M0
Stage IVa	T4a	N0	M0
	T4a	N1	M0
	Any T	N2	M0
Stage IVb	T4b	Any N	M0
	Any T	N3	M0
Stage IVc	Any T	Any N	M1

ตารางที่ 2.1 แสดงระบบ Tumor-Node-Metastasis (TNM staging) ขององค์กร American Joint Committee on Cancer (AJCC) staging classification

2.7 ลักษณะอาการทางคลินิก

ลักษณะอาการทางคลินิกของมะเร็งศีรษะและลำคอมีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับตำแหน่งของรอยโรค ยกตัวอย่างเช่น

- **มะเร็งช่องปาก(Oral Cavity Cancer)** ผู้ป่วยมักจะมีแผลในปากที่ไม่หาย เจ็บ มีเลือดออก หรืออาจมีปัญหาเกี่ยวกับฟัน เช่น ฟันโยก มีปัญหาเกี่ยวกับการกลืน เช่น กลืนลำบาก กลืนเจ็บ และมากกว่าร้อยละ 66 มักจะสามารถคลำต่อมน้ำเหลืองบริเวณคอได้
- **มะเร็งลิ้นและริมฝีปาก (Cancer of Lips and Tongue)** ผู้ป่วยมักมีแผลหรือก้อนเนื้อบริเวณลิ้นหรือริมฝีปาก เจ็บและมีเลือดออก อาจพบอาการกลืนลำบากร่วมด้วยหรือไม่ก็ได้
- **มะเร็งหลังโพรงจมูก(Nasopharyngeal Cancer)** ร้อยละ 90 ผู้ป่วยมักคลำได้ก้อนที่คอ และอาจมีปัญหาเกี่ยวกับการได้ยินอันเนื่องมาจากการมีน้ำหนวกร่วมด้วย มีอาการปวดหู หรือมีความผิดปกติของกล้ามเนื้อบนใบหน้าที่เลี้ยงด้วยเส้นประสาทสมองคู่ที่ 2 และ 6
- **มะเร็งกล่องเสียง (Laryngeal Cancer)** ผู้ป่วยมักมีปัญหาเสียงแหบ กลืนลำบาก ปวดหู ไอเรื้อรัง ไอออกเลือด หรืออาการหายใจลำบากมีเสียง
- **มะเร็งโพรงอากาศรอบจมูก (Paranasal Sinus Cancer)** ผู้ป่วยมักมีอาการปวดบริเวณแก้มหรือหน้าผาก ร่วมกับการมีเลือดไหลออกทางจมูกหรือมีอาการโพรงจมูกอุดตัน

2.8 การวินิจฉัย

การประเมินผู้ป่วยเป็นด้วยการดู การคลำ และการตรวจทางระบบหูคอจมูกอย่างครบถ้วนขั้นตอนแรกของการวินิจฉัย นอกจากนี้ การตรวจทางพยาธิวิทยาเป็นการตรวจเพื่อยืนยันการวินิจฉัยและการตรวจทางรังสีวิทยาเป็นการตรวจเพื่อกำหนดระยะของโรคและช่วยในการวินิจฉัย

การตรวจชิ้นเนื้อทางพยาธิวิทยาด้วยการใช้เข็มเจาะ(Fine Needle Aspiration)

การตรวจชิ้นเนื้อทางพยาธิวิทยาด้วยการใช้เข็มเจาะสามารถให้การวินิจฉัยผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและลำคอที่มาด้วยอาการก้อนที่อาจพบหรือไม่พบรอยโรคที่อวัยวะต้นกำเนิดก็ได้ การตรวจวิธีนี้พบว่ามีค่าความไว (Sensitivity) ร้อยละ 89 และมีความจำเพาะเจาะจง (Specificity) ร้อยละ 98(39) (40)

จากการศึกษาของ Righi PD.และคณะ (41) ทำการเปรียบเทียบ การใช้อัลตราซาวด์หรือการใช้เอกซเรย์คอมพิวเตอร์เป็นตัวช่วยในการเจาะชิ้นเนื้อด้วยเข็มเจาะกับการใช้มือคลำก่อนการใช้เข็มเจาะชิ้นเนื้อมาตรวจทางพยาธิวิทยา พบว่าทำให้เพิ่มความไวในการตรวจ คิดเป็นร้อยละ 88, 85 และ 69 ตามลำดับ

Imaging studies

- เอกซเรย์คอมพิวเตอร์ (CT Scan) สามารถช่วยในการกำหนดระยะของโรคและสามารถให้ข้อมูลเกี่ยวกับการลุกลามของมะเร็งสู่อวัยวะข้างเคียงและกระดูก ประเมินต่อมน้ำเหลืองในบริเวณต่างๆซึ่งการตรวจด้วยเอกซเรย์คอมพิวเตอร์ (CT scan) มีความไวและความจำเพาะเจาะจงต่อการกำหนดระยะของโรคมกกว่าการตรวจร่างกาย
- เอกซเรย์คลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า (MRI Scan) สามารถช่วยในการกำหนดระยะของโรคและสามารถให้ข้อมูลเกี่ยวกับการลุกลามของมะเร็งสู่อวัยวะข้างเคียงรวมถึงการลุกลามเข้าสู่ไขกระดูกด้วย โดยมีความไวและความจำเพาะเจาะจงมากกว่าเอกซเรย์คอมพิวเตอร์ (CT Scan) (42) แต่ในทางตรงกันข้าม การตรวจด้วย MRI ให้ข้อมูลเกี่ยวกับการลุกลามและการแพร่กระจายไปยังกระดูกได้แยกว่าเอกซเรย์คอมพิวเตอร์
- PET and PET integrated PET/CT ในการตรวจสถานะของก้อนมะเร็งที่อวัยวะเริ่มต้น (Primary Site of Tumor) Dammann F. และคณะ(43) พบว่า การตรวจด้วย PET scan มีความไวและความจำเพาะเจาะจงต่ำกว่าการตรวจด้วยเอกซเรย์คอมพิวเตอร์หรือคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า แต่จากการศึกษาของ McGuirt WF(44). และคณะ พบว่าการตรวจสถานะต่อมน้ำเหลือง (N-stage) ด้วย PET scan มีความไวและความจำเพาะเจาะจงคิดเป็นร้อยละ 90 และ 94 ตามลำดับ และมีความไวและ

ความจำเพาะเจาะจงที่มากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับ การตรวจด้วยเอกซเรย์ คอมพิวเตอร์หรือคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าซึ่งคิดเป็นร้อยละ 82 และ 85 ตามลำดับ จาก ข้อมูลดังกล่าวพบว่า PET scan มีข้อจำกัดในการตรวจระยะของโรคในกรณีที่ไม่มีการแพร่กระจายของโรคไปยังต่อมน้ำเหลือง (NO disease)

2.9 การรักษา

มะเร็งศีรษะและลำคอมีความแตกต่างกันในด้านสรีรวิทยาในการทำงาน (Physiological function) ของอวัยวะแต่ละส่วน ได้แก่ ช่องปาก คอหอย กล่องเสียง ต่อมน้ำลาย โพร่งจมูกและโพรงอากาศ รอบจมูก ดังนั้นการรักษามะเร็งศีรษะและลำคอจึงมีความซับซ้อน โดยมีจุดประสงค์เพื่อเพิ่มคุณภาพชีวิตของผู้ป่วยนอกเหนือจากการหายขาดของโรคเพื่อไม่ให้เกิดการผิดปกติหรือไม่สามารถใช้งานได้ตามปกติ ซึ่งการรักษาจะเป็นการรักษาร่วมกันทั้งการผ่าตัด การฉายรังสีและการให้ยาเคมีบำบัด ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับ ตำแหน่งของรอยโรคและระยะของโรค

การรักษาด้วยการผ่าตัดหรือการฉายรังสีเพียงอย่างเดียวมีจุดประสงค์เพื่อการควบคุมโรคเฉพาะที่ ดังนั้นจึงเหมาะสำหรับผู้ป่วยในระยะที่ 1 หรือ 2 เท่านั้น ซึ่งพบผู้ป่วยในระยะนี้ได้ประมาณร้อยละ 30-40

โดยทั่วไปการรักษาด้วยรังสีมีบทบาททั้งเป็นการรักษาหลัก (Definitive Therapy) และการรักษา ร่วมกับการผ่าตัด (Postoperative Therapy) รังสีรักษามีบทบาทสำคัญในการรักษามะเร็งศีรษะและลำคอ ระยะเริ่มต้นและระยะลุกลามเฉพาะที่ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในบริเวณที่รังสีรักษามีโอกาสจะเก็บรักษาอวัยวะ เอาไว้ได้ เช่น ในผู้ป่วยมะเร็งกล่องเสียง(45) การรักษาด้วยรังสีในกรณีที่ก้อนมะเร็งมีขนาดใหญ่และอาจมีการลุกลามไปที่ต่อมน้ำเหลืองใกล้เคียงนั้นมักจะเป็นการรักษา ร่วมกับการให้ยาเคมีบำบัดในช่วงระยะเวลา ที่ได้รับการฉายรังสี (Concurrent Chemoradiation) โดยพบว่าได้ผลการรักษาที่ดีกว่าการฉายรังสีเพียง อย่างเดียว โดยเพิ่มอัตราการรอดชีวิตที่ 5 ปี ประมาณร้อยละ 4.5(46) ส่วนการรักษาด้วยการฉายรังสี ตามหลังการผ่าตัด (Postoperative Radiation Therapy) นั้น อาจให้ร่วมกับยาเคมีบำบัดในกรณีที่มีความ เสี่ยงสูงต่อการกลับเป็นซ้ำของโรค เช่น ตามหลังการผ่าตัดที่มี positive/closed margin หรือการมี extracapsular extension ของต่อมน้ำเหลืองบริเวณคอ (Cervical Lymph Node) (47) (48)

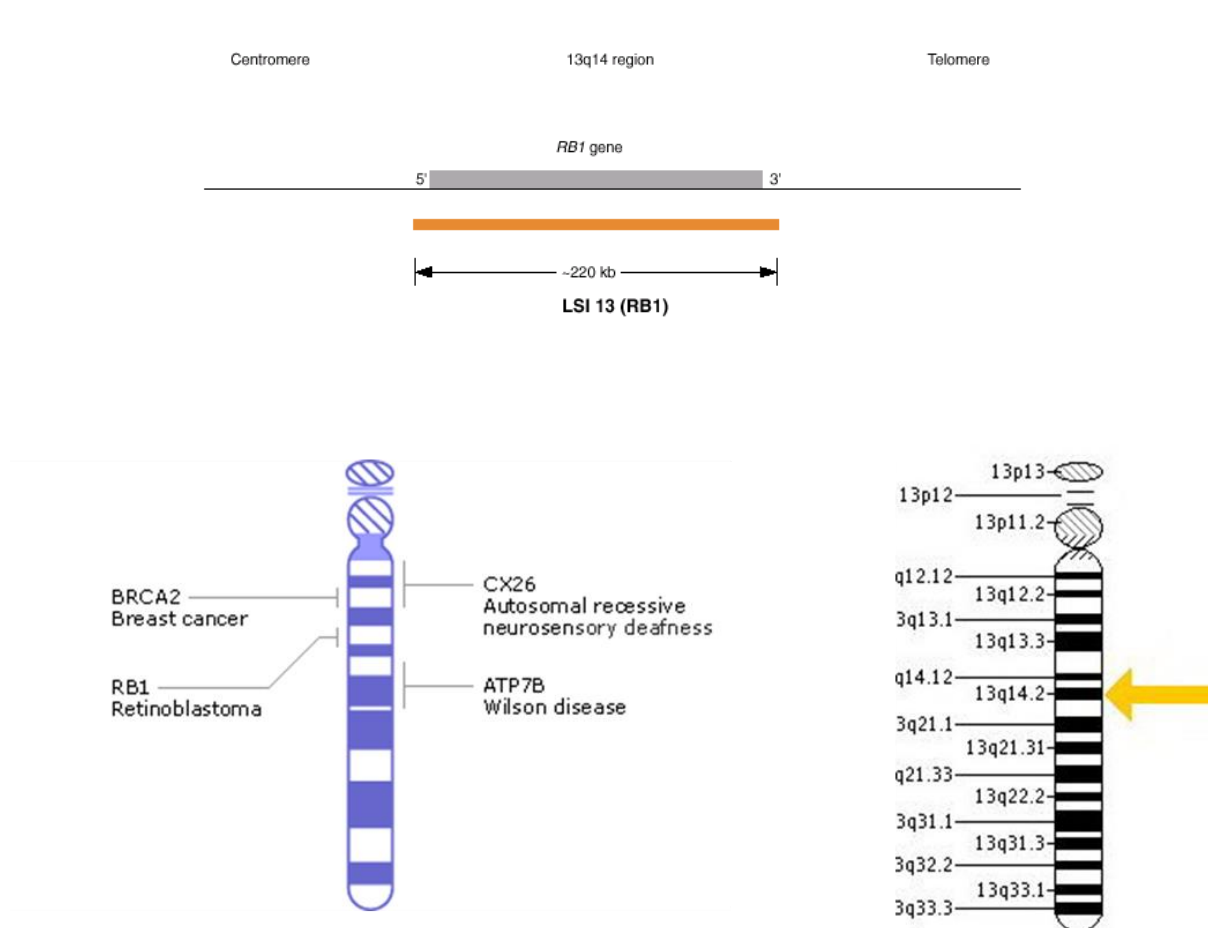
ในปัจจุบันนอกจากการรักษามะเร็งศีรษะและลำคอด้วยยาเคมีบำบัดแล้ว ยังมีข้อมูลว่าการรักษาด้วยการให้ยาในกลุ่มพุ่งเป้า (targeted therapy) เช่นยา anti-EGFR (Epidermal Growth Factor Receptor) ร่วมกับการฉายรังสีนั้นให้ผลการรักษาที่ดีกว่าการฉายรังสีเพียงอย่างเดียว โดยเพิ่มผลของการควบคุมโรคเฉพาะที่และอัตราการมีชีวิตรอดของผู้ป่วยที่ 5 ปี ประมาณร้อยละ 9(49) และยังมีการศึกษาต่อเนื่องที่ต้องการพิสูจน์ผลการรักษาด้วยการฉายรังสีร่วมกับการให้ยาเคมีบำบัดและยาในกลุ่มพุ่งเป้า (targeted therapy) ทั้งในผู้ป่วยที่ไม่สามารถผ่าตัดได้และผู้ป่วยหลังผ่าตัด

บทที่ 3

โปรตีนเรตินอบลาสโตมา

3.1 โปรตีนเรตินอบลาสโตมา (Retinoblastoma Protein, pRb)

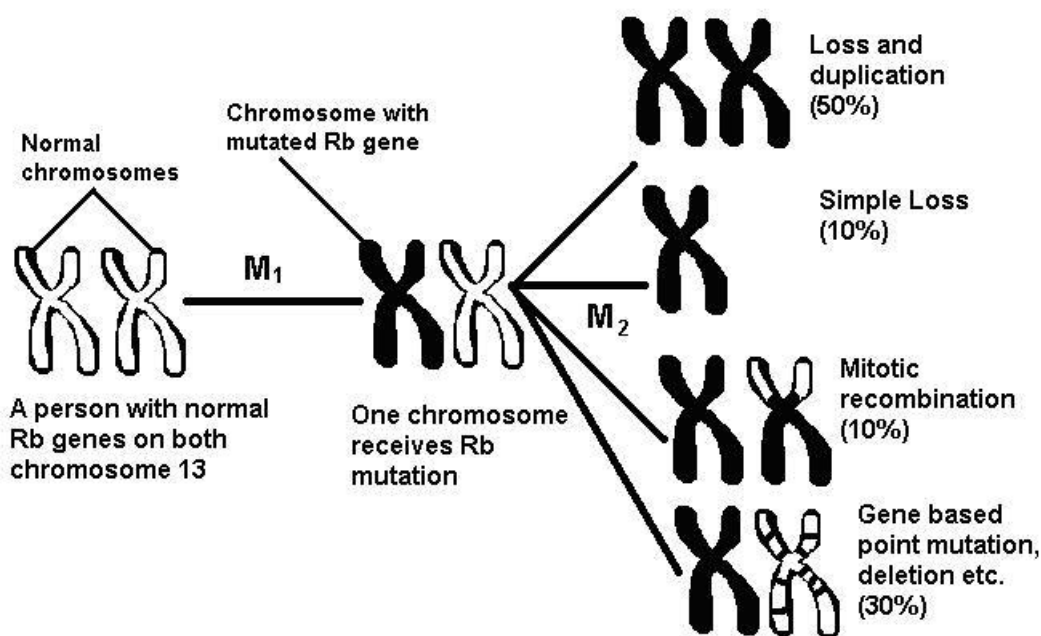
โปรตีนเรตินอบลาสโตมาเป็นฟอสโฟโปรตีน (Phosphoprotein) ชนิดหนึ่ง มีหน้าที่ในการควบคุมการแบ่งเซลล์ในวัฏจักรของเซลล์ ส่วนประกอบของโปรตีนเรตินอบลาสโตมาประกอบด้วยกรดอะมิโน (Amino acid) 928 ตัว ซึ่งสร้างจากยีน RB1 ซึ่งอยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 13 ที่ตำแหน่ง 13q14.1-q14.2



ภาพที่ 3.1 โครโมโซมคู่ที่ 13 แสดงตำแหน่งยีนเรตินอบลาสโตมา

การกลายพันธุ์ (Mutation) หรือขาดหายไป (Deletion) หากพบว่ามีการเกิด ชั้นที่ตำแหน่งยีนทั้ง 2 ยีน (Bi-allelic mutation) จะส่งผลให้ไม่เกิดการสร้างโปรตีนเรติโนบลาสโตมาหรือเกิดการสร้างที่ผิดปกติ

ความผิดปกตินี้พบได้ทั้งจากการถ่ายทอดทางกรรมพันธุ์ (Hereditary) และเกิดการกลายพันธุ์ขึ้นเองภายหลัง (Sporadic) ในกรณีที่เกิดจากการถ่ายทอดทางกรรมพันธุ์ จะเกิดมะเร็งได้เร็วกว่าเนื่องจากมียีนซึ่งมีความผิดปกติอยู่แล้วตั้งแต่แรกหนึ่งตัว เมื่อพบว่าอีกหนึ่งยีนเกิดการกลายพันธุ์ขึ้นภายหลังก็สามารถทำให้เกิดโรคได้เลย ในทางตรงกันข้ามหากโรคเกิดจากการกลายพันธุ์ภายหลัง จะใช้เวลานานกว่า เนื่องจากจะต้องเกิดกับทั้ง 2 ยีน จึงทำให้เกิดโรคหรือความผิดปกติให้เห็น (Knudson 's Hypothesis or Two-hit Hypothesis) (50)

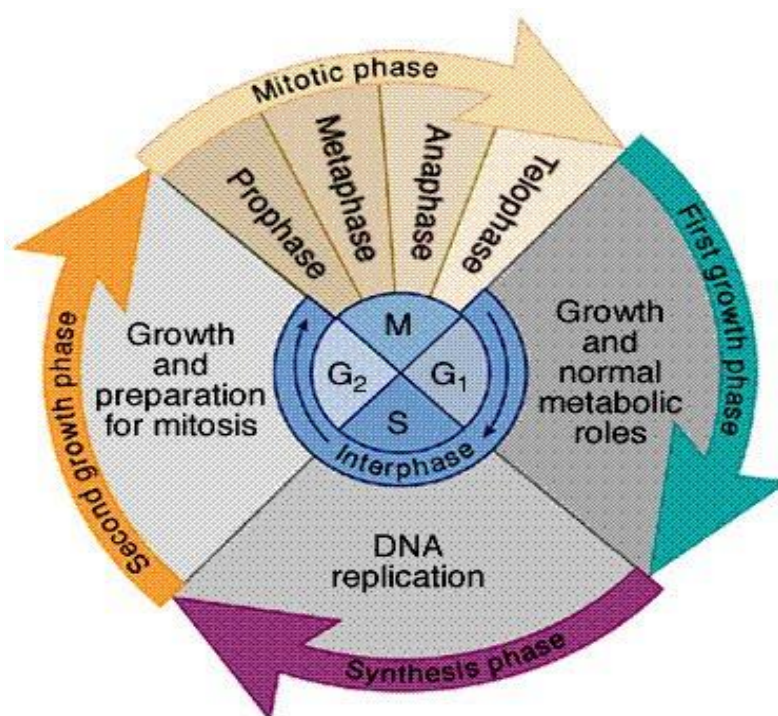


ภาพที่ 3.2 Two-hit Hypothesis ของยีนเรติโนบลาสโตมา(51, 52)

ภายในร่างกายประกอบด้วยเซลล์ต่างๆที่มีอายุแตกต่างกันไป ดังนั้นอัตราการสร้างเซลล์ใหม่จึงแตกต่างกันออกไปซึ่งอัตราการสร้างเซลล์ใหม่นั้นขึ้นอยู่กับชนิดของเซลล์นั้นๆ ในเซลล์บางชนิด เช่น เซลล์ไขกระดูกเพื่อสร้างเม็ดเลือดแดง, เซลล์เยื่อบุผิว พบว่า เซลล์จะมีการแบ่งตัวอยู่เกือบตลอดเวลา จึงอาจกล่าวได้ว่า เซลล์เหล่านี้อยู่ในวัฏจักรของเซลล์ตลอดเวลา แต่เซลล์บางชนิด เมื่อแบ่งเซลล์แล้วจะไม่แบ่งตัวอีกต่อไป นั่นคือ เซลล์จะไม่เข้าสู่วัฏจักรของเซลล์อีก เข้าสู่ Go จนกระทั่งเซลล์ชราภาพ (Cell aging) และ

ตายไป (Cell death) ในที่สุด เช่น เซลล์ประสาท, เซลล์กล้ามเนื้อ แต่เซลล์บางชนิดจะพักตัวหรืออยู่ใน G₀ ชั่วระยะเวลาหนึ่ง ถ้าจะกลับมาแบ่งตัวอีก ก็จะเข้าสู่วัฏจักรของเซลล์ต่อไป

3.2 วัฏจักรของเซลล์ (cell cycle)



ภาพที่ 3.3 วัฏจักรของเซลล์(53)

วัฏจักรของเซลล์ หมายถึง ช่วงระยะเวลาการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ ในขณะที่เซลล์มีการแบ่งตัว ซึ่งประกอบด้วย 2 ระยะได้แก่ การเตรียมตัวให้พร้อมที่จะแบ่งตัว (Interphase) และกระบวนการแบ่งเซลล์ (M-phase)

1. ระยะอินเตอร์เฟส (Interphase) ระยะนี้เป็นระยะเตรียมตัว ที่จะแบ่งเซลล์ในวัฏจักรของเซลล์ แบ่งออกเป็น 3 ระยะย่อย คือ

1.1 ระยะจี1 (G₁-phase) เป็นระยะก่อนการสร้างดีเอ็นเอ (DNA) ซึ่งเซลล์มีการเจริญเติบโตเต็มที่ ระยะนี้ จะมีการสร้างสารบางอย่าง เพื่อใช้สร้างดีเอ็นเอในระยะต่อไป

1.2 ระยะเอส (S-phase, Synthesis-phase) เป็นระยะสร้างดีเอ็นเอ (DNA replication) โดยเซลล์มีการเจริญเติบโต และมีการสังเคราะห์ดีเอ็นเออีก 1 ตัว หรือมีการจำลองโครโมโซม อีก 1 เท่าตัว

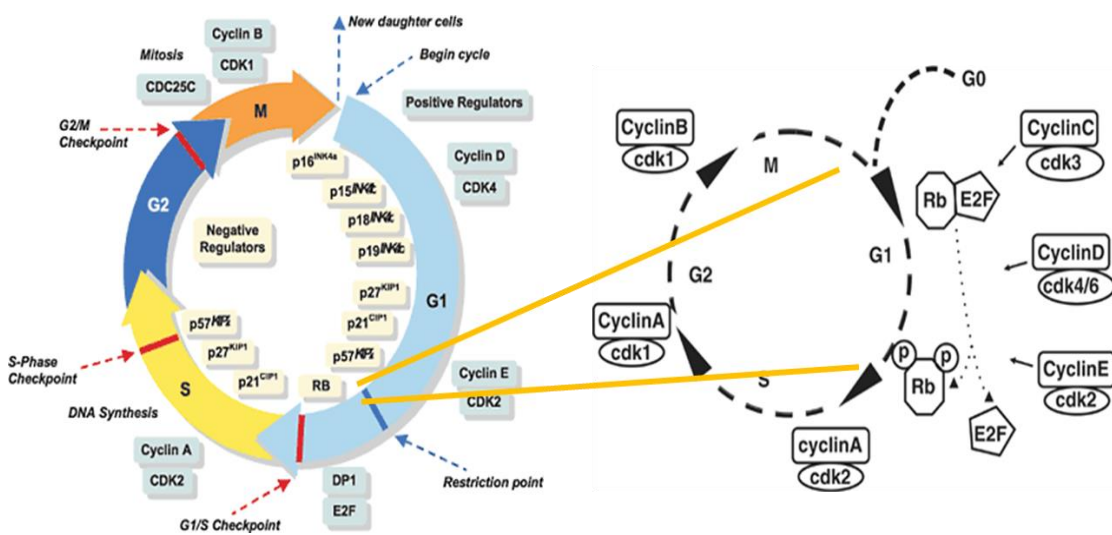
แต่โครโมโซมที่จำลองขึ้น ยังติดกับโครโมโซมที่เก่า ที่ปมเซนโทรเมียร์(Centromere) หรือไคเนโตคอร์ (Kinetochore) ระยะเวลาที่ใช้เวลานานที่สุด

1.3 ระยะจี2 (G2-phase) เป็นระยะหลังสร้างดีเอ็นเอ ซึ่งเซลล์มีการเจริญเติบโตและเตรียมพร้อมที่จะแบ่งโครโมโซม และไซโทพลาสซึม (Cytoplasm) ซ้ำต่อไป

2. ระยะ M (M-phase)

ระยะ M (M-phase) เป็นระยะที่มีการแบ่งนิวเคลียส และแบ่งไซโทพลาสซึม ซึ่งโครโมโซม จะมีการเปลี่ยนแปลงหลายขั้นตอน ก่อนที่จะถูกแบ่งแยกออกจากกัน ประกอบด้วย 4 ระยะย่อย คือ ระยะโพรเฟส (Prophase), ระยะเมทาเฟส (Metaphase), ระยะแอนาเฟส (Anaphase) และระยะเทโลเฟส (Telophase)

การควบคุมการเข้าสู่วัฏจักรของเซลล์นั้นเรียกว่า Restriction point(54) เป็นการตรวจสอบเซลล์ให้พร้อมก่อนการแบ่งตัวของเซลล์ และในขั้นตอน G1, G2 และ M phase ของวัฏจักรของเซลล์ ก็มีการตรวจสอบเช่นกัน เรียกว่า Cell cycle checkpoints โดยมีโปรตีนหลายชนิดที่เป็นตัวควบคุมการทำงานนี้

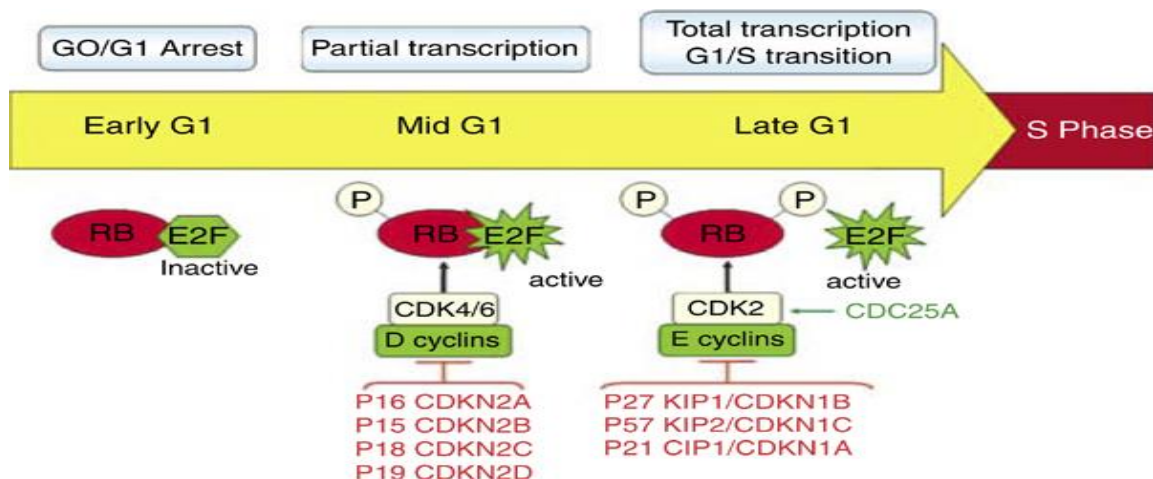


ภาพที่ 3.4 แสดง check points ในวัฏจักรของเซลล์(55)

โปรตีนเรตินอบลาสโตมา (Retinoblastoma protein, pRb) เป็นโปรตีนหนึ่งที่ทำหน้าที่ในการควบคุมในตำแหน่งใน G1 Checkpoint ของวัฏจักรของเซลล์ โดยทำหน้าที่ในการยับยั้งเซลล์ที่ผิดปกติไม่ให้เข้าสู่ในระยะ S-phase และทำให้เกิดเซลล์ตาย (Apoptosis) ดังนั้นโปรตีนเรตินอบลาสโตมาจึงทำหน้าที่สำคัญในการควบคุมวัฏจักรของเซลล์, การเปลี่ยนแปลงลักษณะของเซลล์เพื่อไปทำหน้าที่ต่างๆ (Cell differentiation) และการตายของเซลล์ (Cell Apoptosis)

ในช่วงระยะจี0 (G0-phase) และช่วงต้นของระยะจี1 (early G1-phase) โปรตีนกลุ่มอีทูเอฟ (E2F) ซึ่งมีหน้าที่กระตุ้นการดำเนินต่อไปของวัฏจักรของเซลล์และทำให้เกิดการแบ่งเซลล์ขึ้น จะถูกจับไว้ด้วยโปรตีนเรตินอบลาสโตมาภายในนิวเคลียส ทำให้โปรตีน E2F ไม่เป็นอิสระและไม่สามารถทำงานได้ เมื่อเซลล์ถูกกระตุ้นจะมีการเติมหมู่ฟอสเฟต (Phosphorylation) ให้กับโปรตีนเรตินอบลาสโตมา ทำให้โปรตีนเรตินอบลาสโตมาอยู่ในรูปของ Phosphorylated retinoblastoma protein ซึ่งจะเกิดการปล่อยโปรตีน E2F ให้เป็นอิสระ ทำให้เกิดการเกิดกระบวนการแบ่งเซลล์ได้ต่อไป

ขั้นตอนการเติมหมู่ฟอสเฟตนี้จะต้องอาศัยโปรตีน Cyclin D จับกับ Cyclin D-cyclin dependent kinase (CDK)-4 และ -6 ซึ่งการทำงานของ CDK-4 และ CDK-6 จะถูกควบคุมจากหลายปัจจัย ได้แก่ ตัวยับยั้ง CDK-4 (INK4) เช่น โปรตีน p15, p16, p21, p57 เป็นต้น โปรตีนเหล่านี้จะควบคุมให้วัฏจักรของเซลล์ดำเนินไปตามปกติ หากโปรตีนเหล่านี้ทำงานไม่สมบูรณ์จะทำให้ไม่สามารถควบคุมการแบ่งเซลล์ได้ ซึ่งเป็นสาเหตุหนึ่งให้เกิดมะเร็ง(56)

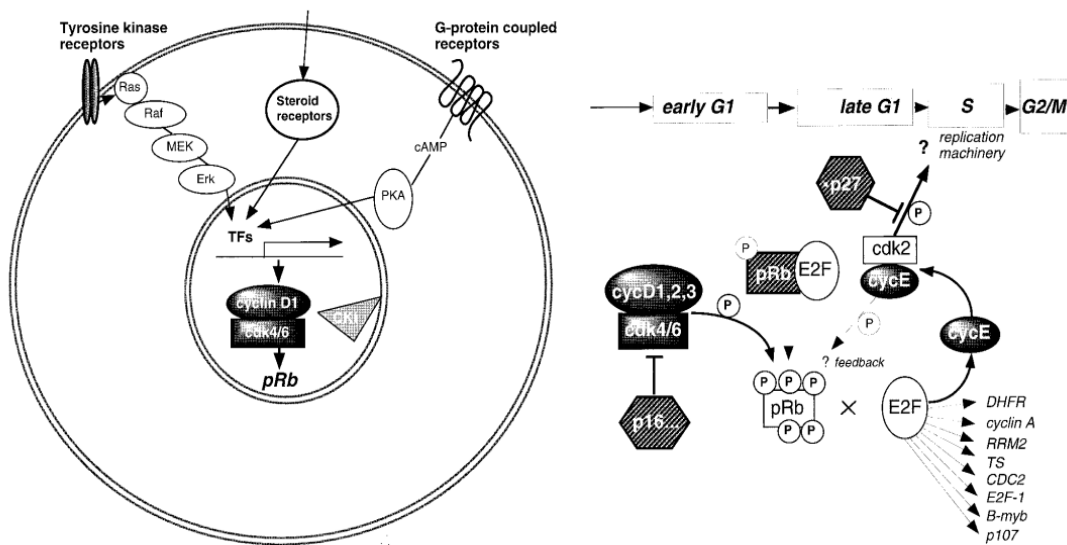


ภาพที่ 3.5 แสดงการควบคุมวัฏจักรเซลล์ในระยะ G1 phase(57)

จากการศึกษาในอดีตพบว่าการขาดหายไป หรือความผิดปกติของยีน INK4 และยีน RB1 ซึ่งเป็นยีนที่ควบคุมการสร้างโปรตีนเรตินอโบลาสโตมา หรือมีการแสดงออกของยีน Cyclin-D1 หรือ CDK-4 มากเกินไป(58) ส่งผลให้การสร้างโปรตีนเรตินอโบลาสโตมาลดลง ผลลัพธ์ที่เกิดขึ้น คือ ไม่สามารถควบคุมการแบ่งเซลล์ได้

บทบาทของโปรตีนเรตินอโบลาสโตมา นอกเหนือจากการยับยั้งการทำงานของโปรตีนกลุ่ม E2F แล้ว ยังสามารถยับยั้งการทำงานของยีนที่สร้าง Cyclin-E ซึ่งช่วยเติมหมู่ฟอสเฟตให้กับโปรตีนเรตินอโบลาสโตมา โดยการเพิ่มระดับของปัจจัยต่างๆที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครมาติน (Chromatin remodeling factors) เช่น เอ็นไซม์ Histone deacetylase 1 (HDAC1) (61) และเอ็นไซม์ Histone methyl transferase (62) ซึ่งทำงานในตำแหน่งที่โปรตีนกลุ่ม E2F จับกับโปรตีนเรตินอโบลาสโตมา (Pocket domain) และในกรณีนี้หน้าที่ของโปรตีน E2F จะกลายเป็นยับยั้งการแบ่งเซลล์แทนที่กระตุ้นการแบ่งเซลล์ตามปกติ(59)

จากข้อมูลหลายการศึกษาที่ให้ผลสอดคล้องกันว่าการทำงานของโปรตีนเรตินอโบลาสโตมานั้นเป็นผลมาจากสัญญาณกระตุ้นการแบ่งเซลล์ (Upstream cellular mitogenic signals or Growth-promoting signals) ผ่านตัวรับ (Receptors) 3 ชนิด คือ Membrane tyrosine kinase receptors, Nuclear steroid receptors และ G-protein coupled receptors (60) (61) (62) (63)



ภาพที่ 3.6 การกระตุ้นการทำงานของโปรตีนเรตินอบลาสโตมาผ่านตัวรับต่างๆ

ในทางตรงกันข้าม การทำงานของโปรตีนเรตินอบลาสโตมาก็ยังถูกควบคุมโดยสัญญาณที่ยับยั้งการแบ่งเซลล์ (Proliferation inhibitory cascades) เช่น p15 CDK inhibitor จาก TGF-beta (64) และการลดลงของ Cyclin-D1 จาก cAMP elevating agents (65)

3.3 ความสัมพันธ์ระหว่างโปรตีนเรตินอบลาสโตมาและการเกิดมะเร็ง

เซลล์มะเร็งมีลักษณะที่สำคัญคือ เซลล์มะเร็งมีความสามารถในการแบ่งตัวภายใต้สภาวะที่เซลล์ปกติไม่สามารถกระทำได้ ซึ่งเป็นผลมาจากการสูญเสียการควบคุมในวัฏจักรของเซลล์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในระยะ G1 phase และระยะ G1 ต่อ S phase

สาเหตุของการสูญเสียความสามารถในการควบคุมในขั้นตอนดังกล่าว อาจเกิดจากการทำหน้าที่ที่มากเกินไปของยีนสร้างมะเร็ง (Protooncogene) ได้แก่ Cyclin-D, CDK4/6 และ Cyclin-E หรือการทำหน้าที่บกพร่องไปของยีนยับยั้งการเกิดมะเร็ง (Tumor suppressor gene) ได้แก่ p15, p16, p27, p57, CDK inhibitors และ RB1 ซึ่งทำให้มีโปรตีนเรตินอบลาสโตมาลดลงหรือขาดไป

จากการศึกษาพบว่ามะเร็งหลายชนิดที่สัมพันธ์กับการทำงานที่ลดลงของโปรตีนเรตินوبลาสโตมา เช่น มะเร็งของกระดูก (Osteosarcoma) และมะเร็งปอดชนิดเซลล์เล็ก (Small cell lung cancer), มะเร็งลูกตาชนิดเรตินอบลาสโตมา (Retinoblastoma) เป็นต้น โดยพบว่าในมะเร็งลูกตาชนิดเรตินอบลาสโตมามีการทำงานของโปรตีนเรตินอบลาสโตมาลดลง อันเป็นผลมาจากการกลายพันธุ์หรือการขาดยีน RB1(66)

ไวรัสบางชนิดเมื่อพบว่ามีกรดดีเอ็นเอจะส่งผลกับการทำงานของโปรตีนเรตินอบลาสโตมา โดยดีเอ็นเอของไวรัสจะไปจับกับโปรตีนเรตินอบลาสโตมาในตำแหน่ง Pocke domain ทำให้โปรตีนเรตินอบลาสโตมาไม่สามารถไปจับและยับยั้งการทำงานของโปรตีนในกลุ่ม E2F ได้ ส่งผลให้เกิดการแบ่งเซลล์ที่ผิดปกติ เนื่องจากขาดการควบคุมวัฏจักรของเซลล์ ส่งผลให้เกิดมะเร็งขึ้น ตัวอย่างของการเกิด มะเร็งกลุ่มนี้ เช่น การติดเชื้อไวรัสเอชพีวี (Human papilloma virus, HPV) ซึ่งไวรัสชนิดนี้สร้างโปรตีนกระตุ้นการเกิดมะเร็งชนิด E7 (E7 oncoprotein) ที่จะไปจับกับ Pocket domain ของโปรตีนเรตินอบลาสโตมา ทำให้เกิดมะเร็งปากมดลูก(67) (68), มะเร็งของเยื่อหุ้มปอด (Mesothelioma) และมะเร็งต่อมน้ำเหลืองชนิด Burkitt (Burkitt's lymphoma) ในผู้ป่วยเอดส์ ซึ่งเกิดจากการติดเชื้อไวรัสเอชไอวี (HIV virus) (69) (70)

การสร้าง Cyclin-D1 และ CDK4 ที่มากผิดปกติ(71) , การขาดหายไปของตัวยับยั้ง Cyclin-D/CDK (Cyclin-D/CDK inhibitor) และ p16/INK4A ยังพบได้ในมะเร็งเต้านม, มะเร็งตับ (Hepatocellular carcinoma) รวมทั้งมะเร็งปอดบางชนิด โดยเฉพาะชนิดเซลล์เล็ก(72) (73) นอกจากนี้ยังพบการขาดและการกลายพันธุ์ของโปรตีนเรตินอบลาสโตมาในมะเร็งหลังโพรงจมูก (Nasopharyngeal carcinoma) อีกด้วย(74)

ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่าหน้าที่ของโปรตีนเรตินอบลาสโตมา คือ ควบคุมวัฏจักรของเซลล์, การแบ่งตัวของเซลล์ และรวมถึงการเจริญของมะเร็ง

3.4 ความสัมพันธ์ระหว่างมะเร็งศีรษะและลำคอชนิดสควamousเซลล์และโปรตีนเรตินอบลาสโตมา

เนื่องจากหน้าที่สำคัญของโปรตีนเรตินอบลาสโตมาคือการควบคุมวัฏจักรของเซลล์ ถึงแม้ว่าโปรตีนเรตินอบลาสโตมาจะลดลงจนไม่สามารถควบคุมการแบ่งเซลล์ได้ตามปกติและเกิดเป็นมะเร็งขึ้น แต่จากการข้อมูลศึกษาพบว่า มะเร็งเหล่านี้มักจะไวต่อการให้ยาเคมีบำบัด (Chemosensitive tumors) และการรักษาด้วยเคมีบำบัดร่วมกับการฉายรังสี (Concurrent chemoradiation) (75)ซึ่งเชื่อว่าเกิดจากการที่เซลล์มะเร็งไม่สามารถซ่อมแซมดีเอ็นเอที่ถูกทำลายจากยาเคมีบำบัดและการฉายรังสีได้ จนเป็นสาเหตุทำให้เกิดการตายของเซลล์ในที่สุด(76)

จากการทบทวนวรรณกรรมอื่นๆที่เกี่ยวข้องพบว่า ในผู้ป่วยร้อยละ 70 ของมะเร็งศีรษะและลำคอ ชนิดสความเซลล์มักเป็นผู้ป่วยในระยะที่ 3 และ 4 และไม่สามารถผ่าตัดได้ ดังนั้นการรักษาหลักของผู้ป่วยกลุ่มนี้จึงเป็นการรักษาด้วยการให้ยาเคมีบำบัดและการฉายรังสี

จากข้อมูลการศึกษาในอดีตเกี่ยวกับตัวบ่งชี้ทางชีวภาพ (Biomarker) พบว่ามีตัวบ่งชี้ที่มีความสัมพันธ์กับผลการรักษาที่ดีในผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและลำคอชนิดสความเซลล์ อันได้แก่ ตัวบ่งชี้เกี่ยวกับการควบคุมวัฏจักรของเซลล์ (Cell Cycle Control) เช่น Cyclin D1, retinoblastoma gene product (RB), P16, P21 และ P27, ตัวบ่งชี้เกี่ยวกับการตายของเซลล์ (Apoptosis) เช่น TP53, MDM2, TP73 และ BCL-2, และตัวบ่งชี้อื่นๆ เช่น EGFR, cyclooxygenase-2 (COX-2 and ki-67), focal adhesion signaling (cortactin), hypoxia (CA9, HIF-1a) และ sensitivity to chemotherapy (XPA, MRP2 and MDR1) (77) (78) (79)

Guido B. และคณะ(80) จึงได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับตัวบ่งชี้ทางชีวภาพ (Biomarker) ว่ามีตัวบ่งชี้ใดสามารถใช้ในการพยากรณ์ผลการรักษาต่อยาเคมีบำบัดและการฉายรังสี, การควบคุมโรคเฉพาะที่ และอัตราการรอดชีวิตของผู้ป่วยกลุ่มที่ไม่พบการติดเชื้อไวรัสเอชพีวี พบว่า Retinoblastoma protein (pRb), p16 และ Multidrug resistance protein2 (MRP2) ทั้ง 3 ปัจจัยนี้สามารถใช้เป็นตัวพยากรณ์ในการรักษาและการควบคุมโรคเฉพาะที่ (Local control) แต่เมื่อนำปัจจัยอื่นๆมาร่วมวิเคราะห์ด้วย (Multivariate analysis) ได้แก่ ขนาดของก้อน (Tumor size), การแพร่กระจายไปต่อมน้ำเหลือง (Nodal involvement), และตำแหน่งของก้อนมะเร็ง นั้นกลับพบว่า มีเพียง pRb และ MRP2 เท่านั้นที่สามารถใช้เป็นตัวพยากรณ์ในการรักษาต่อยาเคมีบำบัด, การฉายรังสีและการควบคุมโรคเฉพาะที่ (Local control) ได้ แต่ก็ไม่สามารถเป็นตัวพยากรณ์อัตราการรอดชีวิต (Overall survival) มีเพียง Hypoxic induced factor-1 alpha (HIF-1alpha) เท่านั้นที่สามารถเป็นตัวพยากรณ์อัตราการรอดชีวิตของผู้ป่วยได้

เนื่องจากการวิเคราะห์หายีนที่ทำหน้าที่ควบคุมการสร้างโปรตีนเรตินอบลาสโตมาค่อนข้างซับซ้อน ในการศึกษาครั้งนี้ จึงหาโปรตีนที่สร้างจากยีนนี้แทน ซึ่งทำได้ง่ายกว่าและเหมาะสมกับการนำไปใช้ในสิ่งส่งตรวจจริง โดยใช้วิธีอิมมูโนฟลูออโรสโกปีในการตรวจโปรตีนเรตินอบลาสโตมา

บทที่ 4

อิมมูโนพยาธิวิทยา

(Immunohistochemistry, IHC)

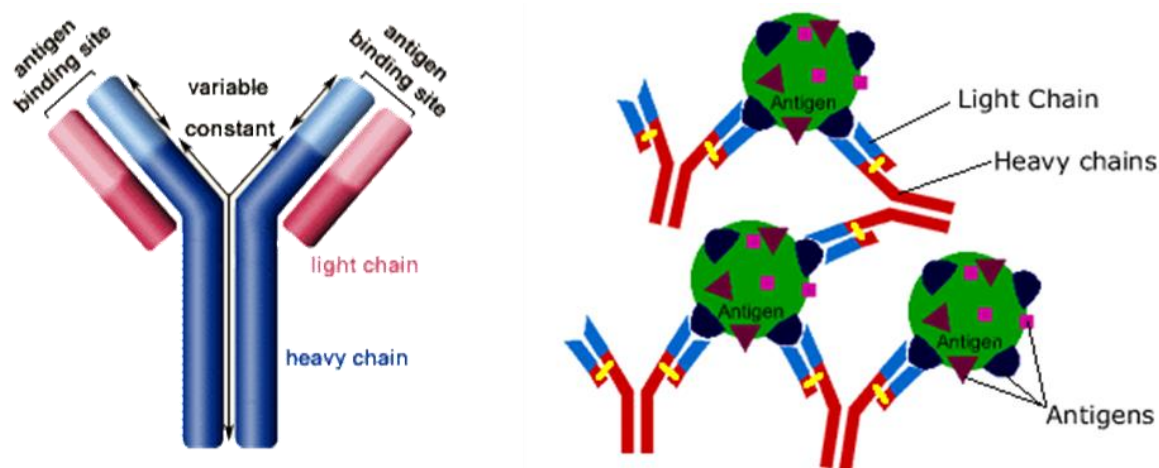
การตรวจชิ้นเนื้อทางพยาธิวิทยานั้น โดยทั่วไปจะใช้วิธีการย้อมด้วยสีฮีมาโตซิลินและอีโอซิน (Hematoxylin & Eosin, H&E) แต่ในบางครั้งมีความจำเป็นต้องย้อมสีพิเศษต่างๆ เพื่อช่วยในการวินิจฉัยโรค เช่น การย้อม Iron เพื่อศึกษาเหล็กในเนื้อเยื่อ, การย้อม AFB เพื่อศึกษาเชื้อไมโคแบคทีเรียที่ทนกรดได้ดี (Acid fast mycobacteria), การย้อม (Gomori's methenamine silver -GMS) เพื่อศึกษาเชื้อรา แต่จะมีเนื้อเยื่อที่ยังไม่สามารถวินิจฉัยได้แน่นอน เช่น ในโรคติดเชื้อ และในโรคมะเร็งหลายชนิดซึ่งแต่ละชนิดมีความแตกต่างกันทั้งตำแหน่งและโครงสร้างของเซลล์ ดังนั้นถ้ามีการแพร่กระจายหรือรูปร่างเปลี่ยนแปลงก็ทำให้แปลผลทำได้ยาก ดังนั้นจึงจำเป็นต้องอาศัยการตรวจด้วยวิธีทางอิมมูโนพยาธิวิทยา (Immunohistochemistry) เพื่อตรวจหาแอนติเจน (Antigen) ต่างๆ ทั้งที่อยู่บนผิวเซลล์, ภายในเซลล์ และภายในนิวเคลียส ซึ่งปัจจุบันได้มีการนำวิธีนี้มาใช้ในการวินิจฉัยโรคอย่างแพร่หลาย สามารถตรวจหาสารบ่งชี้มะเร็ง (Tumour markers), ฮอรโมน, เอ็นไซม์, โปรตีน, แบคทีเรีย และไวรัส ช่วยพยาธิแพทย์ในการบ่งชี้และแบ่งแยกเซลล์เนื้องอกว่าเป็นเนื้องอกธรรมดา หรือชนิดร้ายแรง ทำให้การตรวจทาง immunohistochemistry เป็นวิธีที่ได้รับความนิยมแพร่หลายอย่างรวดเร็วในปัจจุบัน

4.1 หลักการของ Immunohistochemistry

อาศัยปฏิกิริยาการจับกันระหว่างแอนติเจน (Antigen) และแอนติบอดี (Antibody) ที่เกิดขึ้นโดยวิธีทางตรงและวิธีอ้อม ทำได้โดยการติดฉลาก ได้แก่ สี Fluorescence, เอ็นไซม์, Colloidal gold เป็นต้น วัสดุที่แอนติบอดีและทำการตรวจสอบโดยใช้กล้องจุลทรรศน์ Image analyser หรือกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน อย่างไรก็ตามในปัจจุบันนิยมใช้เอ็นไซม์ซึ่งจะทำปฏิกิริยากับ substrate ที่จำเพาะเจาะจงกับเอ็นไซม์นั้นๆ เกิดเป็นสีต่างๆ และทำการตรวจสอบโดยใช้กล้องจุลทรรศน์ (81) (82)

4.2 ปฏิกริยาระหว่างแอนติเจนและแอนติบอดีในการตรวจทางอิมมูโนพยาธิวิทยา

แอนติบอดีจะมีตำแหน่งที่สามารถยึดเกาะกับแอนติเจนอย่างน้อย 2 ด้าน (Antigen binding sites or bivalent) ส่วนแอนติบอดีจะมีตำแหน่งที่สามารถยึดเกาะกับแอนติบอดีได้หลายด้าน (Epitope)

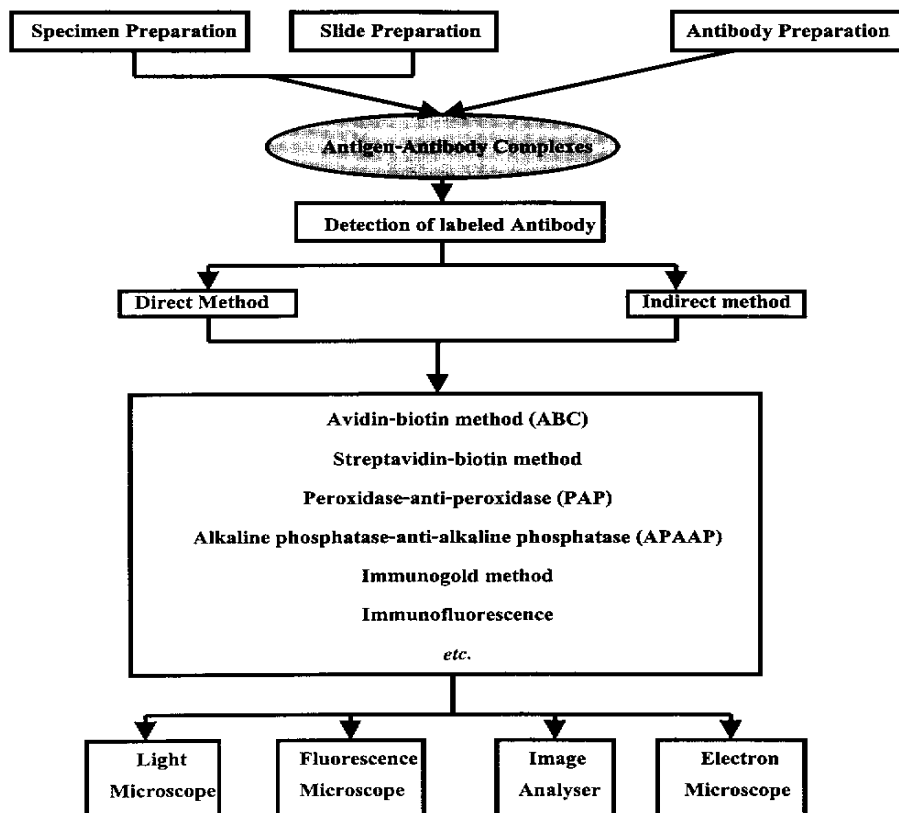


ภาพที่ 4.1 แสดงการยึดเกาะระหว่างแอนติเจนและแอนติบอดี

แอนติบอดีจะทำปฏิกริยากับแอนติเจนที่จำเพาะเจาะจงและแสดงลักษณะของปฏิกริยาออกมาในรูปแบบต่างๆ อาจก่อให้เกิดผลที่มองเห็นได้ด้วยตาเปล่า เช่น เป็นตะกอน หรือมีการเกาะกลุ่มของแอนติเจนขึ้น และบางกรณีจะต้องมีการติดฉลากที่แอนติเจน หรือแอนติบอดีด้วยสารบางชนิดที่ทำให้เห็นปฏิกริยาได้ชัดเจนขึ้น (83)

ในช่วงระยะแรก การศึกษาทางอิมมูโนวิทยาสำหรับชิ้นเนื้อ มีเฉพาะวิธีอิมมูโนฟลูออเรสเซนซ์ ซึ่งเป็นการใช้สารเรืองแสง (Fluorescein) ติดกับแอนติบอดี วิธีนี้มีข้อจำกัดคือ ต้องใช้ชิ้นเนื้อที่สด, ต้องทำการตัดชิ้นเนื้อด้วยเครื่อง cryostat และต้องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนซ์เท่านั้น นอกจากนี้สารเรืองแสงจะเสื่อมสภาพเมื่อถูกแสงสว่าง ดังนั้นจึงต้องเก็บสไลด์ในตู้เย็น และเก็บได้ไม่นาน จะเก็บได้เฉพาะรูปถ่ายเท่านั้น

ในช่วงระยะต่อมา มีการค้นคว้าและนำเอ็นไซม์มาเชื่อมติดกับแอนติบอดีเพื่อใช้แทนสารเรืองแสง ซึ่งเมื่อเอ็นไซม์ทำปฏิกิริยากับสารตั้งต้น (Substrate) คือ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) เมื่อหยดสารที่ทำให้เกิดสี (Chromogen) จะปรากฏสีที่ตำแหน่งของเนื้อเยื่อที่มีแอนติบอดีไปจับอยู่กับแอนติเจน วิธีนี้สามารถดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ธรรมดา และศึกษาจาก Paraffin section ได้ และสามารถเก็บสไลด์เป็นสไลด์ถาวรได้



แผนภูมิที่ 4.2 แสดงแผนผังขั้นตอนทางอิมมูโนพยาธิวิทยา (84)

4.3 สิ่งส่งตรวจ

สิ่งส่งตรวจที่สามารถนำมาตรวจด้วยเทคนิค immunohistochemistry มีหลายชนิด ยกตัวอย่างเช่น Fresh frozen sections, Cytological preparations, Formalin-fixed, paraffin-embedding specimens, Fine-needle aspiration (FNA) specimens

4.4 วิธีการทาง Immunohistochemistry (IHC)

วิธีการทาง Immunohistochemistry นั้นแบ่งเป็นหลายขั้นตอน ดังต่อไปนี้

1. การเตรียมสไลด์ (Slide preparation)

เป็นการเตรียมสไลด์สำหรับใช้ในงาน IHC โดยการเคลือบสไลด์ด้วยสารที่มีคุณสมบัติเป็น Adhesive agent เพื่อการป้องกันการหลุดลอกของเซลล์หรือชิ้นส่วนของชิ้นเนื้อในระหว่างขั้นตอนการทำ โดยทั่วไปนิยมเคลือบสไลด์ด้วย Poly-L-lysine Aminoalkylsilane (85) เป็นต้น

2. การเตรียมสิ่งส่งตรวจ (Specimen preparation)

ต้องคำนึงถึงคุณสมบัติของการเป็นแอนติเจน กล่าวคือ ต้องรักษาส่วนของ epitope ให้คงอยู่ สิ่งส่งตรวจสำหรับ IHC อาจเป็นสิ่งส่งตรวจที่เพิ่งได้มาใหม่ๆ ซึ่งอาจจะถูกตรึง (Fixed) หรือยังไม่ได้ถูกตรึงก็ได้ สิ่งส่งตรวจที่เก็บไว้นานแล้ว ส่วนใหญ่เป็นชิ้นเนื้อซึ่งถูกตรึงด้วยฟอร์มาลิน เรียกว่า Formalin-fixed, Paraffin-embedded specimens(81) (82) การใช้ fixative ที่มีคุณสมบัติการเป็นแอนติเจน จึงจำเป็นต้องเลือกใช้ fixative ที่ไม่มีผลหรือมีผลน้อยต่อคุณสมบัติดังกล่าว

Fixative ที่นิยมได้แก่(81, 82)

1) Coagulating fixatives ตัวอย่างของกลุ่มนี้ ได้แก่ Ethanol, Methanol, Carnoy's solution เป็นต้น สารเหล่านี้จะเข้าไปแทนที่น้ำในเนื้อเยื่อ โดยไม่เปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโปรตีนและคุณสมบัติการเป็นแอนติเจน

2) Cross-linking fixatives ได้แก่ ฟอร์มาลิน นิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย โดยเฉพาะอย่างยิ่งกับชิ้นเนื้อที่เก็บไว้นานๆ เป็น fixative ที่ก่อให้เกิด การจับตัวกัน (Bridging) ระหว่างกรดอะมิโนภายในโมเลกุลเดียวกันและโมเลกุลข้างเคียงของโปรตีนทำให้โครงสร้างเปลี่ยนแปลงไปและมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงหรือบดบัง Antigen determinant เป็นการปิดกั้นไม่ให้แอนติบอดีจับกับแอนติเจน (Masking of antigen)

3. การเตรียมแอนติบอดี (Antibody preparation)

แอนติบอดีที่นิยมใช้ใน IHC เป็น Monoclonal antibody เพราะมีความจำเพาะสูงและช่วยลดปัญหาจากผลบวกลวงจาก Non-specific reactions ต่างๆ รวมทั้งลดปัญหาการบวกรวมทั้งจาก Background การจับกันของแอนติเจนและแอนติบอดี เป็นปฏิกิริยาแบบย้อนกลับได้ (Reversible) กล่าวคือการจับกันนี้อาจหลุดออกจากกันได้ หากมีการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรดและด่างของสารบัฟเฟอร์ที่ใช้ ความเข้มข้นของเกลือบัฟเฟอร์ หรืออุณหภูมิที่ใช้ในขั้นตอนต่างๆของวิธีทำ ฉะนั้นแอนติบอดีที่ใช้จึงต้องจับกับแอนติเจนได้อย่างแข็งแรง นั่นคือต้องมีคุณสมบัติ High-avidity หรือ Good affinity

ปฏิกิริยา IHC นี้ไม่เกี่ยวข้องกับปรากฏการณ์ Agglutination หรือ Precipitation ของ Antigen-antibody complexes ดังนั้นการเจือจางแอนติบอดีที่ใช้ในปฏิกิริยา IHC จึงไม่มีปัญหาจากปรากฏการณ์ Prozone หรือ Postzone ซึ่งเกิดจากการเจือจางแอนติบอดีน้อยเกินไปหรือมากเกินไป มีผลให้อัตราส่วนของแอนติเจนต่อแอนติบอดีไม่เหมาะสมต่อการจับกันเพื่อตกตะกอนให้เห็นได้ (86) อย่างไรก็ตามการเจือจางปริมาณแอนติบอดีให้เหมาะสมกับปริมาณแอนติเจนใน IHC ช่วยลดความเสี่ยงของการใช้แอนติบอดีเพื่อให้เกิด Antigen-antibody complexes ลง รวมทั้งช่วยลด Background ลง นอกจากนี้ยังช่วยให้ปฏิกิริยาระหว่างแอนติเจนและแอนติบอดีเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์ชัดเจน

การใช้แอนติบอดีปริมาณสูงช่วยลดระยะเวลาบ่มฟัก (Incubation period) ลง ปกติอาจใช้ระยะเวลาเป็นนาทีไปจนกระทั่งถึง 48 ชั่วโมง เวลาและอุณหภูมิที่เหมาะสมนั้นนิยมใช้ที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที หรือ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลาหนึ่งคืน อย่างไรก็ตามเวลาและอุณหภูมิที่เหมาะสมนั้นมีการปรับใช้ตามสภาพและความเหมาะสมของห้องปฏิบัติการแต่ละแห่ง อัตราการเจือจางแอนติบอดีนั้นแตกต่างกันได้มาก ควรเลือกใช้ตามคำแนะนำของบริษัทผู้ผลิต หรือหากเตรียมขึ้นเองก็ต้องทดสอบหาอัตราส่วนที่เหมาะสมทุกครั้ง (82)

4. ขั้นตอนเตรียมสิ่งส่งตรวจ (Pretreatment)

เป็นขั้นตอนเตรียมสิ่งส่งตรวจให้มีความเหมาะสมต่อการเกิดปฏิกิริยา เพื่อให้ได้ Antigen-antibody complexes ต่อไป รวมทั้งลดหรือขจัดสิ่งรบกวนที่อาจเกิดขึ้น แบ่งออกเป็นขั้นตอนย่อยๆดังนี้

4.1 Background staining prevention เพื่อกำจัดและลดสิ่งรบกวนต่อการเกิด Antigen-antibody complexes

1) Endogenous enzyme inactivation (82) เนื่องจากการตรวจหา Antigen-antibody complexes เป็นการตรวจโดยการทำให้เกิดสีและนิยมใช้เอนไซม์ซึ่งพบได้ในเซลล์หรือเนื้อเยื่อของสิ่งส่งตรวจ จึงจำเป็นต้อง inactivate สารจำพวกเอนไซม์ที่อยู่ข้างในเซลล์หรือเนื้อเยื่อที่ตรวจนั้น (Endogenous enzyme) เช่น ถ้าใช้ Peroxidase นิยมทำ Endogenous enzyme inactivation ด้วย 1% H_2O_2 ใน Methanol นาน 30 นาที ถ้าใช้ Alkaline phosphatase เป็น Hapten นิยมใช้ Levamisol สำหรับทำ Endogenous enzyme inactivation เป็นต้น

2) Non-specific blocking เพื่อลดการรบกวนสัญญาณการตรวจ (Signal-to-noise ratio) ลงจาก Non-specific binding นิยมทำโดยการ incubate สิ่งส่งตรวจก่อนด้วย Normal horse serum

4.2 Antigen unmasking นิยมทำเมื่อมีการใช้ Cross-link fixative โดยเฉพาะ Formaldehyde หรือ Formalin เพื่อกำจัด Methylene bridges ที่ทำให้เกิดกระบวนการ Fixation การทำ antigen unmasking มีชื่อเรียกอีกชื่อว่า Antigen retrieval ซึ่งมีวิธีการดังต่อไปนี้(87) (88)

1) กระบวนการใช้เอนไซม์ (Enzymatic treatment) เป็นวิธีการที่ใช้เอนไซม์ เช่น Trypsin, Protease, Pronase เป็นต้น เพื่อย่อยโปรตีน เป็นวิธีการที่ต้องระมัดระวังค่อนข้างมาก เพราะหากย่อยน้อยไป (Under-digestion) จะทำให้เกิด False negative ได้ แต่หากย่อยนานเกินไป (Over-digestion) เนื้อเยื่อจะถูกทำลายจนเสียหายไป

2) กระบวนการไม่ใช้เอนไซม์ (Non-enzymatic treatment) เป็นวิธีการที่ใช้ความร้อน วิธีที่นิยม เช่น การใช้คลื่นไมโครเวฟ (Microwave) ต้มสิ่งส่งตรวจใน Pressure cooker, Hot plate หรือ Dry oven เป็นต้น วิธีการเหล่านี้นิยมต้มในน้ำกลั่นหรือสารละลายต่างๆ เช่น สารละลาย Carboxylic หรือ Organic เช่น Sodium carbonate, Urea, Citric acid กลุ่มสารละลายเกลือหรือโลหะหนัก เช่น Sodium chloride, Zinc sulphate, Nickel chloride เป็นต้น

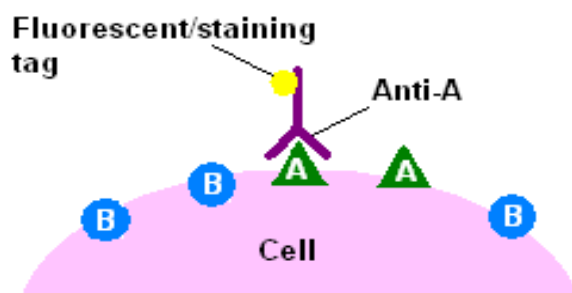
5. Antigen-antibody complexes formation

เป็นการเกิดปฏิกิริยาจับกันระหว่างแอนติเจนและแอนติบอดี โดยต้องมีระยะเวลา อุณหภูมิ ปริมาณ หรือชนิดของแอนติเจนและแอนติบอดีที่เหมาะสม เพื่อให้การจับกันเกิดความสำเร็จและไม่หลุดออกจากกันโดยง่าย

6. Detection

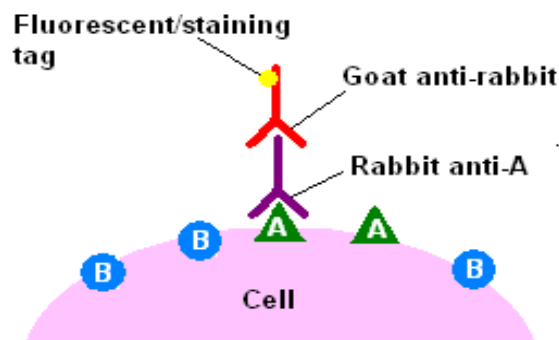
คือการตรวจหา Antigen-antibody complexes ที่เกิดขึ้นนี้ได้ทั้งวิธีทางตรงและวิธีทางอ้อม วิธีทางตรงนั้นง่ายกว่า ใช้ระยะเวลาที่สั้นกว่า มีความจำเพาะเจาะจงที่สูงกว่าแต่มีข้อเสียคือมีความไวที่ต่ำกว่าและมีข้อจำกัดที่ต้องใช้ Labeled primary antibody ที่มีความจำเพาะต่อแอนติเจนนั้นๆเสมอ เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีทางอ้อมซึ่งเป็นวิธีการที่ซับซ้อนกว่า ใช้เวลาในการตรวจที่นานกว่า มีความจำเพาะเจาะจงต่ำกว่า แต่ความไวที่สูงกว่าและไม่มีข้อจำกัดที่ต้องใช้ Labeled secondary antibody ที่มีความจำเพาะต่อ Primary antibody วิธีการนี้ทำให้มีความสะดวกในการติดฉลากโดยการติดเอาไว้ที่ Secondary antibody เท่านั้น และสามารถนำมาใช้กับ Primary antibody ต่างๆที่มีความจำเพาะต่อแอนติเจนต่างๆได้มากมาย และระบบที่นิยมใช้แบ่งเป็น 2 ระบบ ได้แก่

6.1. Direct method ทำโดยการใช้แอนติบอดีที่เชื่อมกับเอนไซม์ (horse radish peroxidase หรือ alkaline phosphatase) มาจับกับแอนติเจน แล้วทำให้เกิดสี วิธีการนี้จะมี ความไว (sensitivity) น้อย



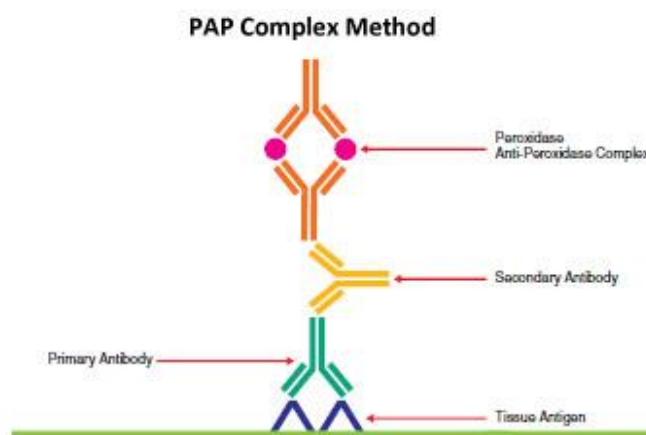
ภาพที่ 4.2 แสดงวิธีการ Direct method

6.2. Indirect method ใช้แอนติบอดีสองชนิด ชนิดแรก (Primary antibody) จะมีความจำเพาะต่อสิ่งที่ต้องการจะตรวจหา นั่นๆ โดยแอนติบอดีชนิดที่สอง (Secondary antibody) จะเชื่อมกับเอ็นไซม์ไว้แล้ว วิธีการนี้ทำให้ความไวดีขึ้น



ภาพที่ 4.3 แสดงวิธีการ Indirect method

1) Unlabelled antibody method เป็นการใช้อันติบอดีชนิดที่สองเป็นสะพานเชื่อมระหว่างแอนติบอดีชนิดที่แรกกับแอนติบอดีชนิดที่สามที่มีกลุ่มของเอ็นไซม์เชื่อมอยู่ วิธีการนี้ได้แก่ Peroxidase antiperoxidase complex (PAP), Alkaline phosphatase antialkaline phosphatase complex (APAAP)



ภาพที่ 4.4 แสดง PAP method

2) (Strept)avidin-biotin technology เป็นวิธีการที่อาศัยคุณสมบัติในการจับตัวกันของ อวิดิน (avidin) และไบโอติน (biotin) ที่จะยึดตัวกันอย่างแน่นหนาและจำเพาะเจาะจง

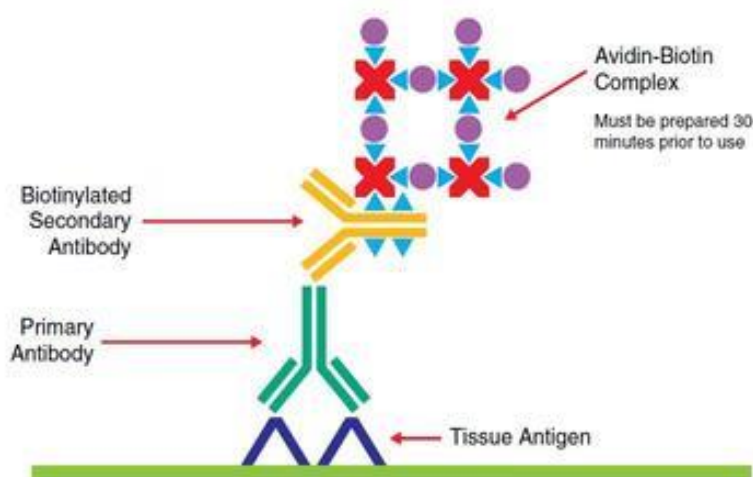
อวิดินเป็นส่วนประกอบของไข่ขาว มีโครงสร้างเป็นรูปสี่เหลี่ยมมี 4 หน่วยย่อย ที่จะให้ไบโอตินเกาะได้ ไบโอตินเป็นวิตามินที่น้ำหนักโมเลกุลน้อย (Low molecular weight vitamin)ซึ่งสามารถเชื่อมกับแอนติบอดีและเอ็นไซม์ได้ง่าย จึงทำให้สามารถใช้ไบโอตินเชื่อมกับแอนติบอดีตัวที่สองและสร้าง Avidin biotin enzyme complex เพื่อใช้แทน PAP หรือ APAAP complex

ตัวอวิดินจะมีน้ำตาลโมเลกุลเล็ก(Oligosaccharide residue) ของไข่ขาวติดมาด้วย สารตัวนี้มักจะไปจับกับเลซิทีน(lecithin)บนเนื้อเยื่อได้ ทำให้เกิดการติดสีที่ไม่จำเพาะ จึงมีการทดแทนอวิดิน ด้วยสารสเตรปตาอวิดิน (Streptavidin) ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces avidinii* สารตัวนี้ไม่มีน้ำตาลโมเลกุลเล็กและสามารถจับกับไบโอตินเช่นเดียวกับอวิดิน

วิธีการนี้ ได้แก่ - Avidin-biotin complex (ABC) method

- Labeled avidin-biotin (LAB) method

- Labeled streptavidin-biotin (LSAB) method



ภาพที่ 4.5 แสดง Avidin-biotin complex (ABC) method

3) Chain polymer-conjugate Technology เป็นเทคนิคที่ใช้เอ็นไซม์, แอนติบอดีตัวแรกและตัวที่สอง มาติดบนโมเลกุลของเด็กซ์แทรน (Dextran) โดยที่ 1 โมเลกุลของเด็กซ์แทรน สามารถติดเอ็นไซม์ได้อย่างน้อย 70 โมเลกุล พร้อมกับแอนติบอดีอีก 10 โมเลกุล ด้วยเหตุนี้ เทคนิคนี้จึงช่วยเพิ่มความไว ลดเวลา และขั้นตอนในการทำอิมมูโนพยาธิวิทยาได้

เนื่องจากเทคนิคนี้ไม่มีการใช้อิโอดีนและไปโอไดนจึงไม่ทำให้เกิดการติดสีที่ไม่จำเพาะจากไปโอไดนภายในเซลล์เอง

7. โครโมเจน (Chromogens)

เป็นสารตั้งต้น (Substrate) และสารที่ใช้ทำปฏิกิริยากับเอ็นไซม์เพื่อให้ได้สีต่างๆ

ตารางที่ 4.1 แสดงโครโมเจน (Chromogen) ที่นิยมใช้กับเอ็นไซม์ในวิธี IHC(84)

Enzymes	Chromogens	Color / Detection
1. Peroxidase	H ₂ O ₂ /DAB H ₂ O ₂ /TMB ACE	Brown / Light microscope Green / Light microscope Red / Light microscope
2. Alkaline phosphatase	BCIP / NBT New fuchsin	Blue / Light microscope Red / Light microscope
3. Glucose oxidase	INT NBT TNBT	Red / Light microscope Blue / Light microscope Brown / Light microscope

DAB=diaminobenzide ; TMB=tetramethylbenzidine ; ACE=3-amino-9-ethylcarbazole ;

BCIP=bromo-chloro-indolyphosphate ; NBT=nitroblue tetrazolium ; INT=iodophenyl nitrophenyl

tetrazolium ; TNBT=tetranitroblue tetrazolium

8. Counterstains

เป็นการย้อมเนื้อเยื่อที่ไม่ติดสีจากปฏิกิริยา IHC เพื่อให้เนื้อเยื่อที่ติดสี Counterstain ซึ่งทำให้เห็นโครงสร้างเนื้อเยื่อที่ชัดเจนและเปรียบเทียบกับส่วนที่ติดสีจากปฏิกิริยา IHC จึงสะดวกในการตรวจวิเคราะห์สี Counterstain ที่นิยม เช่น Hematoxylin, Methyl green, Nuclear fast red เป็นต้น

4.5 การอ่านผล

การอ่านผลตรวจขึ้นอยู่กับฉลากที่ใช้ติดไว้ที่ Labeled antibody นิยมใช้การนับจำนวนเซลล์ที่เกิดปฏิกิริยาเปรียบเทียบกับเซลล์ที่ไม่เกิดปฏิกิริยาในเนื้อเยื่อบริเวณที่ทำการศึกษาจริงๆ เซลล์ที่ติดสีตามเกณฑ์ที่กำหนดไว้จะอ่านเป็นผลบวก ส่วนเซลล์ที่ไม่ติดสีตามเกณฑ์ที่กำหนดไว้จะอ่านผลเป็นลบ เช่น โปรตีน p53 เป็น Nuclear phosphoprotein สี IHC จะติดสีที่นิวเคลียสของเซลล์ หรือโปรตีน c-erb B2 เป็น Cellular membrane protein สี IHC จะติดที่ผิวหรือผนังของเซลล์? เป็นต้น โดยทั่วไปจะมีการให้คะแนน (Grading scales) ได้หลายวิธี โดยการนับจำนวนเซลล์ที่ให้เกิดปฏิกิริยาบวกหรือลบ เช่น

1. การให้คะแนนเป็นร้อยละ (0-100%)

- ร้อยละ 0 (0%, negative) หมายถึง ไม่มีเซลล์ที่ติดสี IHC ในเนื้อเยื่อบริเวณที่ตรวจเลย

- ร้อยละ 10 (10%) หมายถึง มีเซลล์ที่ติดสี IHC ในเนื้อเยื่อบริเวณที่ตรวจอยู่ร้อยละ 10

- ร้อยละ 100 (100%) หมายถึง มีเซลล์ที่ติดสี IHC ในเนื้อเยื่อบริเวณที่ตรวจอยู่ร้อยละ 100 คือติดสีทั้งหมด

2. การให้คะแนนเป็นบวกหรือลบ (-, +, ++, +++)

- (Negative) หมายถึง ไม่มีเซลล์ที่ติดสี IHC ในเนื้อเยื่อบริเวณที่ตรวจเลย

+ (Weakly positive) หมายถึง มีเซลล์ที่ติดสี IHC ในเนื้อเยื่อที่ตรวจอยู่บ้างเพียงเล็กน้อย (ประมาณ 5-10%)

++ (Positive) หมายถึง มีเซลล์ที่ติดสี IHC ในเนื้อเยื่อที่ตรวจอยู่บ้างพอประมาณ(ประมาณ 10-30%)

+++ (Intermediate positive) หมายถึง มีเซลล์ที่ติดสี IHC ในเนื้อเยื่อที่ตรวจอยู่ค่อนข้างมาก (ประมาณ 40-60%)

++++ (Strongly positive) หมายถึง มีเซลล์ที่ติดสี IHC ในเนื้อเยื่อที่ตรวจอยู่มากกว่า 60-100%

วิธีการนี้ไม่นิยมให้คะแนนตามความเข้มของการติดสีเพราะมีปัจจัยแปรปรวนหลายประการ เช่น ทักษะของผู้ย้อม ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยากับสี เป็นต้น เข้ามาเกี่ยวข้อง

4.6 ประโยชน์ของอิมมูโนพยาธิวิทยาในโรคมะเร็ง

เนื่องจากเทคนิคนี้เป็นการตรวจหาแอนติเจนภายในเซลล์ โดยที่โครงสร้างของเซลล์และเนื้อเยื่อไม่ถูกทำลาย จึงเป็นเทคนิคที่ใช้อย่างแพร่หลายในการศึกษาโรคมะเร็ง ใช้วิเคราะห์ต้นกำเนิดของเซลล์มะเร็ง รวมทั้งจัดแบ่งชนิดของมะเร็งตามต้นกำเนิดเพื่อให้เกิดความเข้าใจในกระบวนการเกิดและดำเนินของโรคมะเร็ง ความเปลี่ยนแปลงของยีนก่อมะเร็งและยีนต้านมะเร็งแต่ละขั้นตอนของการเกิดมะเร็งและการดำเนินโรค การพยากรณ์โรคและความรุนแรงของมะเร็ง ใช้ศึกษาวิเคราะห์การกระจายของมะเร็ง เป็นต้น

1. ไขว้เคราะห์มะเร็งที่ไม่ทราบสาเหตุหรือมะเร็งปฐมภูมิ (Unknown primary origin) หรือมะเร็งที่มีปัญหาในการจัดแบ่งชนิด (89)

โดยวิธี IHC ทำให้สามารถศึกษามะเร็งได้จากการที่เซลล์มะเร็งมีแอนติเจนที่แตกต่างกันตามเนื้อเยื่อเซลล์ต้นกำเนิด เช่น กลุ่มเซลล์ต้นกำเนิดจาก Epithelium, Mesenchyma, Neural origins เป็นต้น ยกตัวอย่างเช่น

Epithelial tumors

- Breast: Alpha-lactalbumin, GCDP-15, Estrogen/progesterone (ER/PgR)

- Ovary: CA 125

- Liver: Alpha-fetoprotein (AFP), Keratin (Cam5.2)

- Thyroid: Thyroglobulin, Calcitonin

Germ cell tumors: Human chorionic gonadotropin (HCG), Alpha-fetoprotein (AFP)

Mesenchymal tumors

- Myogenous tumors: Actin, Smooth muscle specific actin, Desmin, Myoglobin

- Melanomas: S-100, HMB 45

- B cell lymphomas: LCA, L-26, LN1, LN2, Immunoglobulin, Kappa, Lambda

Neuroendocrine tumors: Neuron-specific enolase (NSE), Chromogranin, Synaptophysin

2. ใช้ในการศึกษาพยาธิกำเนิดของมะเร็ง

มีการใช้วิธีการทาง IHC ศึกษาโปรตีนซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ของยีนก่อมะเร็งและยีนต้านมะเร็ง ทำให้เกิดความเข้าใจในเรื่องพยาธิกำเนิดและกลไกการเกิดมะเร็งมากยิ่งขึ้น รวมทั้งทำให้การศึกษาเรื่องวัฏจักรของเซลล์และการเกิดมะเร็งมีความกระจ่างมากขึ้น เช่น ความสำคัญของโปรตีน p53 ต่อการเกิดมะเร็งศีรษะและลำคอ บทบาทของโปรตีนเรตินوبลาสโตมา (pRb) ต่อการเกิดมะเร็งหลังโพรงจมูก เป็นต้น

3. ใช้พยากรณ์โรคและความรุนแรงของโรคมะเร็ง

การศึกษาแอนติเจนของเซลล์มะเร็งต่างๆโดยวิธี IHC สามารถนำมาใช้พยากรณ์โรค เช่น การศึกษาโปรตีน p53 โปรตีน c-erb B2 โปรตีน Rb เป็นต้น

4. ใช้ศึกษาการกระจายของโรค

มะเร็งเป็นโรคที่มีการลุกล้ำและแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งไปได้ทั่วบริเวณรอบๆเนื้อเมื่อนั้นและสามารถลุกล้ำกระจายไปยังอวัยวะอื่นๆได้ ระยะเริ่มแรกของการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งนั้นยากต่อการตรวจวิเคราะห์ เนื่องจากมีลักษณะที่ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า (Microinvasion) วิธี IHC ช่วย

ในการตรวจวิเคราะห์การแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งในลักษณะดังกล่าวกระทำได้ดีขึ้น ปัจจุบันมีการนำมาตรวจหา Occult metastasis ไปยังกระดูกและต่อมน้ำเหลืองของมะเร็งหลายชนิด เช่น มะเร็งเต้านม มะเร็งลำไส้ใหญ่ มะเร็งรังไข่ มะเร็งลูกอัณฑะ มะเร็งปอด เป็นต้น

บทที่ 5

วิธีการทางอิมมูโนฮิสโตเคมีสตรี้ที่ใช้ในการศึกษา

ตัวอย่างที่นำมาศึกษาได้มาจากบล็อกชิ้นเนื้อและสไลด์ของผู้ป่วย 53 รายซึ่งส่งตรวจที่

ภาควิชาพยาธิวิทยา โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ และได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นมะเร็งศีรษะและลำคอชนิด
สความัสเซลล์ที่ไม่ใช่มะเร็งหลังโพรงจมูกและไม่พบการติดเชื้อไวรัสเอชพีวี

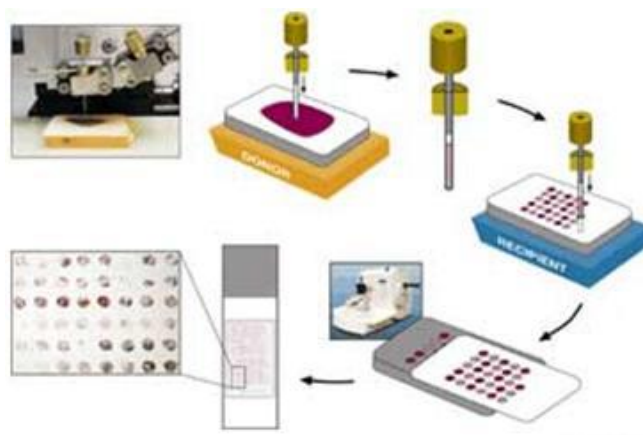
การศึกษานี้เตรียมสไลด์ด้วยเทคนิคไมโครแอเรย์ (Tissue microarray technique or TMA) ซึ่งทำ
ได้โดยการเจาะบล็อกชิ้นเนื้อส่วนที่เป็นเนื้องอก (Core) แล้วนำไปฝังไว้ในบล็อกชิ้นเนื้อเปล่าที่เจาะช่องไว้
ซึ่งในการศึกษานี้ 1 บล็อกเปล่าจะฝังได้ 21 ช่องโดย 20 ช่องจะเป็นเนื้อเยื่อที่ใช้ในการศึกษา 1 ช่องต่อ 1
ราย ส่วนช่องสุดท้ายจะเป็นเนื้อเยื่อในช่องปากปกติ ซึ่งเป็น Positive control และเป็นจุดอ้างอิงในการอ่าน
ชิ้นเนื้อ

ในการศึกษานี้บล็อกชิ้นเนื้อจากการเตรียมด้วยเทคนิคไมโครแอเรย์ จะถูกตัดเพื่อย้อมสี

ฮีมาโตซึลีนและอีโอซิน (Hematoxylin & Eosin-H&E) และตรวจยืนยันทางกล้องจุลทรรศน์ว่ามี

เนื้องอกอยู่ในทุกช่องที่ตัดมาแล้วจึงนำไปศึกษาทางอิมมูโนพยาธิวิทยา (Immunohistochemistry)

บล็อกชิ้นเนื้อจากการเตรียมด้วยเทคนิคไมโครแอเรย์ จะมีการจัดเรียงเนื้อเยื่อเป็นแถวเป็นจำนวน
มากพร้อมกัน ดังรูปที่ 20 (90) ซึ่งทำให้สามารถตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างได้เป็นจำนวนมากภายในระยะเวลา
อันสั้นและสามารถตรวจสอบซ้ำได้หลายครั้ง เนื่องจากความต้องการปริมาณตัวอย่างจำนวนน้อย



ภาพที่ 5.1 เทคนิคไมโครแอเรย์ (90)

ในการศึกษานี้ตรวจหาโปรตีนเรตินอบลาสโตมาโดยใช้ Monoclonal antibody ของหนูโคลน (Clone designation) 1F8/Rb1 ซึ่งเป็นอิมมูโนโกลบูลินจี-1 (IgG1) ซึ่งเป็นแอนติบอดีต่อโปรตีนเรตินอบลาสโตมา-1 (pRB-1) ผลิตโดยบริษัท NeoMarkers, LabVision โดยผสมให้เจือจางในอัตราส่วน 1:50 ซึ่งจะต้องมีการคืนสภาพแอนติเจนด้วยคลื่นไมโครเวฟ (Microwave antigen retrieval treatment) ในภาวะเป็นด่าง เพื่อให้สามารถจับกับแอนติบอดีได้ ซึ่งแอนติบอดีชนิดนี้จะจับกับโปรตีนเรตินอบลาสโตมาได้ทุกแบบ ได้แก่ ชนิดที่ไม่ถูกเติมหมู่ฟอสเฟต, ชนิดที่มีการเติมหมู่ฟอสเฟตและชนิดที่มีการเติมหมู่ฟอสเฟตเล็กน้อย (Unphosphorylated, Phosphorylated or Underphosphorylated retinoblastoma protein)

การอ่านผลจะมีตัวควบคุมที่เป็นบวก (Positive control) คือ เซลล์เนื้อเยื่อในช่องปากปกติและเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ โดยจะอ่านผลจากเซลล์มะเร็งศีรษะและลำคอที่มีการติดสีของโปรตีนเรตินอบลาสโตมาในนิวเคลียส โดยอนุมานว่า การกระจายตัว (Distribution) ของโปรตีนเรตินอบลาสโตมาในนิวเคลียสของเซลล์เท่ากัน การอ่านผล แบ่งเป็นผลบวกและผลลบ(10) ดังนี้ (รูปการติดสีเกรดต่างๆ แสดงในภาคผนวก ข)

- ถ้าการย้อมสีติดสีที่นิวเคลียสมากกว่าร้อยละ 10 ของเซลล์มะเร็งทั้งหมด ถือว่าเป็นผลบวก
- ถ้าการย้อมสีติดสีที่นิวเคลียสน้อยกว่าร้อยละ 10 ของเซลล์มะเร็งทั้งหมด ถือว่าเป็นผลลบ

บทที่ 6

วัสดุและวิธีการ

6.1 ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง (Population and sample)

ประชากรเป้าหมาย (Target population) หมายถึง ผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นมะเร็งศีรษะและลำคอชนิดสความัสเซลล์ที่ไม่ใช่มะเร็งหลังโพรงจมูกและไม่พบการติดเชื้อไวรัสเอชพีวีทุกราย

ประชากรที่ใช้ในการศึกษา (Study population) หมายถึง ประชากรเป้าหมายทุกคนที่ได้เข้ารับการรักษแบบผู้ป่วยในหรือผู้ป่วยนอก โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทย ระหว่างเดือนมกราคม 2543 ถึงธันวาคม 2554

เกณฑ์ในการคัดเลือกผู้ป่วยเข้าการศึกษา (Inclusion criteria)

1. ผู้ป่วยต้องมีผลการตรวจทางพยาธิวิทยายืนยันว่าเป็นมะเร็งศีรษะและลำคอชนิดสความัสเซลล์
2. ผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและลำคอชนิดสความัสเซลล์ที่ระยะที่ 1 – 4
3. ผู้ป่วยที่สามารถติดตามขึ้นเนื้อพาราฟินและมีลักษณะของชิ้นเนื้อที่สมบูรณ์เพียงพอต่อการส่งตรวจย้อมสถานะไวรัสเอชพีวีและโปรตีนเรติโนบลาสโตมาโดยเป็นชิ้นเนื้อพยาธิที่ได้รับการวินิจฉัยและมีชิ้นเนื้อเก็บรักษาในคณะแพทยศาสตร์ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ระหว่าง ปี พ.ศ.2543 ถึง ปี พ.ศ.2554

เกณฑ์ในการคัดเลือกผู้ป่วยออกจากการศึกษา (Exclusion criteria)

1. ผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและลำคอชนิดสความัสเซลล์ที่ตำแหน่งหลังโพรงจมูก
2. ผู้ป่วยที่มีประวัติตรวจพบการติดเชื้อไวรัสเอชพีวีจากชิ้นเนื้อทางพยาธิวิทยา

การคำนวณขนาดตัวอย่าง

จากสูตร
$$n = Z^2 \frac{P(1-P)}{d^2}$$

n = จำนวนตัวอย่างในผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและลำคอชนิดสความัสเซลล์ที่ไม่ใช่
มะเร็งหลังโพรงจมูกและตรวจไม่พบการติดเชื้อไวรัสเอชพีวี

$$Z_{\infty/2} = Z_{0.05/2} = 1.96 \text{ (two tail)}$$

P = อุบัติการณ์โปรตีนเรตินوبลาสโตมาในผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและลำคอเฉลี่ย เท่ากับ 84%

d = acceptable error between 2 group = 10%

$$n = (1.96)^2 \frac{0.84(0.16)}{(0.10)^2} = 52 \text{ ราย}$$

6.2 วิธีการศึกษา

1. การเข้าถึงเวชระเบียนและชิ้นเนื้อผู้ป่วย เนื่องจากในการวิจัยนี้ ผู้วิจัยไม่มีการติดต่อกับผู้ป่วยโดยตรง ผู้วิจัยจึงต้องการขอยกเว้นการขอความยินยอมจากผู้ป่วย โดยจะขออนุญาตจากผู้อำนวยการโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ เพื่อใช้เวชระเบียนและตัวอย่างชิ้นเนื้อของผู้ป่วย
2. ติดตามประวัติผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยมะเร็งศีรษะและลำคอชนิดสความัสเซลล์ที่ไม่ใช่มะเร็งหลังโพรงจมูก ในระบบทะเบียนประวัติ ICD10รหัส C00.0-C14.8, C32.0-C32.9
3. ติดตามประวัติการตรวจสถานะการติดเชื้อไวรัสเอชพีวีของผู้ป่วยในข้อที่ 2 ที่ไม่พบการติดเชื้อ จากข้อมูลผลการศึกษาเรื่องความชุกของไวรัสเอชพีวีในมะเร็งศีรษะและลำคอชนิดสความัสเซลล์ที่ไม่ใช่มะเร็งหลังโพรงจมูก ในผู้ป่วยที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์อายุไม่เกิน 45 ปี เมื่อ พ.ศ.2555
4. ตรวจสอบชิ้นเนื้อพาราฟิน ในผู้ป่วยทุกรายในข้อ 3

5. ผู้ป่วยทุกรายที่สามารถตรวจสอบชิ้นเนื้อพาราฟินได้ จะทำการบันทึกในแบบบันทึกข้อมูล (เอกสารภาคผนวก)
6. ชิ้นเนื้อที่ได้ส่งตรวจหาสถานะโปรตีนเรตินโนบลาสโตมาโดยวิธีอิมมูโนพยาธิวิทยา (IHC) โดยทำการตรวจที่ห้องปฏิบัติการวิจัย สถาบันพยาธิวิทยา โรงพยาบาลพระมงกุฎเกล้า
7. การแปลผลการตรวจการตรวจ IHC
 - ถ้าการย้อมสีติดสีที่นิวเคลียสมากกว่าร้อยละ 10 ของเซลล์มะเร็งทั้งหมด ถือว่าเป็นผลบวก
 - ถ้าการย้อมสีติดสีที่นิวเคลียสน้อยกว่าร้อยละ 10 ของเซลล์มะเร็งทั้งหมด ถือว่าเป็นผลลบ
8. นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์

วิธีเก็บรวบรวมข้อมูล (Data collection)

ข้อมูลทั้งหมด ผลการตรวจสถานะโปรตีนเรตินโนบลาสโตมา ผลทางพยาธิวิทยา จะได้รับการบันทึกลงในแบบบันทึกข้อมูลดังกล่าว โดยผู้วิจัยเป็นผู้เก็บและบันทึกข้อมูล

6.3 การวิเคราะห์ข้อมูล (Data analysis)

1. ลักษณะทางคลินิกและพยาธิวิทยา, อัตราความชุกของสถานะโปรตีนเรตินโนบลาสโตมา นำเสนอในรูปแบบค่าเฉลี่ย, ส่วน, ร้อยละ, ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และแผนภูมิ
2. คำนวณความแตกต่างของตัวแปร ใช้วิธี Chi-square test
3. อัตราการรอดชีวิต ใช้วิธี Kaplan-Meier test

4. ความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรทางคลินิก, การตรวจทางห้องปฏิบัติการสถานะโปรตีนเรตินอบลาสโตมา กับอัตราการรอดชีวิต โดยวิธี Log rank test

5. คำนวณค่าทางสถิติทั้งหมดโดยโปรแกรม SPSS statistical software package version 17.0 (Statistical Package for Social Science, SPSS Inc., Chicago, IL)

6. ที่ค่าความเชื่อมั่นร้อยละ 95 จะถือว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อ $p < 0.05$

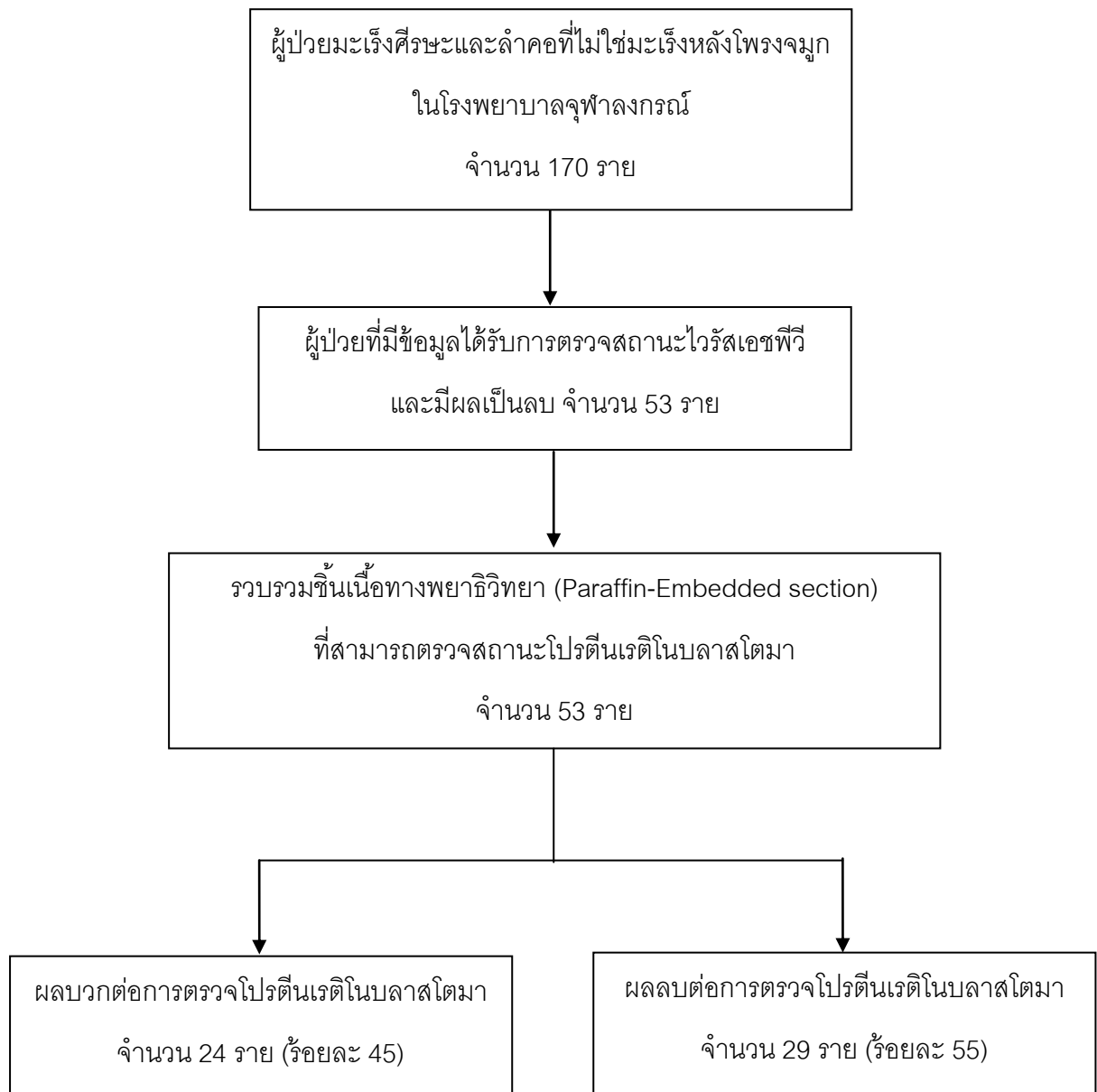
บทที่ 7

ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

การศึกษานี้เป็นการศึกษาเชิงบรรยาย ณ ช่วงเวลาหนึ่ง (Cross-sectional descriptive study) เพื่อศึกษาความชุกของโปรตีนเรตินอบลาสโตมาในผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและลำคอที่ไม่ใช่มะเร็งหลังโพรงจมูก และไม่พบการติดเชื้อไวรัสเอชพีวีที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ รวมถึงศึกษาความสัมพันธ์ของการตรวจพบสถานะโปรตีนเรตินอบลาสโตมากับพยากรณ์และการดำเนินโรค

การหาโปรตีนเรตินอบลาสโตมา ทำโดยการตรวจทางอิมมูโนพยาธิวิทยาเพิ่มเติมจากชิ้นเนื้อของผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและลำคอที่ไม่ใช่มะเร็งหลังโพรงจมูกที่ได้รับการวินิจฉัยแล้วว่าไม่พบการติดเชื้อไวรัสเอชพีวี (มีสถานะไวรัสเอชพีวีเป็นลบ) ที่เข้ารับการรักษาในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทย ตั้งแต่เดือนมกราคม พ.ศ. 2543 จนถึงเดือนธันวาคม พ.ศ. 2554 และเปรียบเทียบลักษณะของผู้ป่วย รวมทั้งติดตามการดำเนินโรคโดยวัดจากระยะเวลารอดชีวิต (Overall survival)

จากการเก็บข้อมูลย้อนหลัง ตั้งแต่เดือนมกราคม พ.ศ. 2543 ถึงเดือนธันวาคม พ.ศ.2554 มีจำนวนผู้ป่วย 170 ราย ที่สามารถค้นหาชิ้นเนื้อพาราฟิน และมีข้อมูลว่าได้รับการตรวจสถานะไวรัสเอชพีวีและมีผลเป็นลบ ร่วมกับชิ้นเนื้อที่มีคุณภาพพอที่สามารถนำมาวิเคราะห์เพื่อนำมาตรวจสถานะโปรตีนเรตินอบลาสโตมาได้ทั้งสิ้น 53 ราย ดังแสดงในรูปที่ 21



ภาพที่ 7.1 แสดงการรวบรวมชิ้นเนื้อมะเร็งศีรษะและลำคอที่ไม่ใช่มะเร็งหลังโพรงจมูกเพื่อทำการตรวจสถานะโปรตีนเรตินอบลาสโตมา

7.1 ข้อมูลพื้นฐานทั่วไป (Baseline Demographics)

ผู้ป่วยทั้งหมด 53 ราย เป็นเพศชาย 43 ราย คิดเป็นร้อยละ 81 เป็นเพศหญิง 10 ราย คิดเป็นร้อยละ 19 อายุที่เริ่มวินิจฉัยเฉลี่ย 42 ปี โดยมีอายุที่เริ่มวินิจฉัยน้อยสุด 27 ปี และอายุมากที่สุด 64 ปี ผู้ป่วย 3 รายมีประวัติเป็นมะเร็งชนิดอื่นก่อนการวินิจฉัยมะเร็งศีรษะและลำคอ (1 รายเป็นมะเร็งหลังโพรงจมูก, 1 รายเป็นมะเร็งไทรอยด์ และ 1 รายเป็นมะเร็งต่อมน้ำเหลือง) โดยกว่า ร้อยละ 50 ของผู้ป่วยมีประวัติการสูบบุหรี่หรือดื่มสุรา

วิธีการวินิจฉัยทั้งหมด ได้ขึ้นเนื้องอกจากตำแหน่งรอยโรคโดยตรง โดยพบในตำแหน่งช่องปากมากที่สุด รองลงมาเป็นกล่องเสียง คอหอยช่องปากและคอหอยส่วนล่างตามลำดับ (ร้อยละ 38, ร้อยละ 34, ร้อยละ 26 และร้อยละ 2) ทั้งนี้ส่วนใหญ่ของลักษณะทางพยาธิวิทยาเป็นชนิด Moderated differentiated คิดเป็นร้อยละ 51

ระยะของโรค ร้อยละ 80 ของผู้ป่วย มาตรวจในระยะที่ 3 หรือ 4 โดยพบว่า ร้อยละ 66 มีระยะของก้อนอยู่ในระยะที่ 3 หรือ 4 (T3 หรือ T4) และมีการกระจายไปต่อมน้ำเหลืองข้างเคียงกว่าร้อยละ 56 (N1 หรือ N2 หรือ N3)

ในด้านการรักษา ผู้ป่วยส่วนใหญ่ได้รับการรักษามากกว่า 1 วิธี โดยส่วนใหญ่เป็นการรักษาด้วยการฉายรังสีร่วมกับเคมีบำบัด หรือการผ่าตัดตามด้วยการฉายรังสี สำหรับสูตรเคมีบำบัดที่มีการใช้มากที่สุด คือ แพลตินัม (Cisplatin หรือ Carboplatin)

วัตถุประสงค์หลักของการศึกษานี้ คือ การหาความชุกของโปรตีนเรตินอบลาสโตมาในผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและลำคอที่ไม่ใช่มะเร็งหลังโพรงจมูกและไม่พบการติดเชื้อไวรัสเอชพีวี พบว่ามีผู้ป่วยเพียงร้อยละ 45 ที่มีการตรวจพบโปรตีนเรตินอบลาสโตมา ซึ่งพบน้อยกว่าการศึกษาในต่างประเทศที่พบถึงร้อยละ 84 (10) ซึ่งเมื่อนำผลการศึกษามาทดสอบสมมติฐานที่ตั้งไว้ จะสามารถคำนวณค่า $Z = 4.5$ ซึ่งปฏิเสธ H_0 ซึ่งตั้งไว้ว่า ความชุกของโปรตีนเรตินอบลาสโตมาในผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและลำคอที่ไม่ใช่มะเร็งหลังโพรงจมูกและไม่พบการติดเชื้อไวรัสเอชพีวีเท่ากับร้อยละ 84 ดังนั้น จึงสรุปได้ว่า ความชุกของโปรตีนเรตินอบลาสโตมาในผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและลำคอที่ไม่ใช่มะเร็งหลังโพรงจมูกและไม่พบการติดเชื้อไวรัสเอชพีวีไม่เท่ากับร้อยละ

ตารางที่ 7.1 แสดงข้อมูลพื้นฐานทั่วไปของผู้ป่วยทั้งหมด

Characteristics	n =53 (%)
Gender	
Male	43 (81)
Female	10 (19)
Median age (year)(IQR)	42 (27-64)
History of previous cancer	
No	48 (90)
Yes	3 (6)
Unknown	2 (4)
Co morbidities	
No	47 (89)
Yes	4 (7)
Unknown	2 (4)
Tobacco habit	
Ever	34 (64)
Never	11 (20)
Unknown	8 (16)
Alcohol drinking habit	
Ever	29 (55)
Never	14 (26)
Unknown	10 (19)
Anatomical site	
Oral cavity	20 (38)
Larynx	18 (34)
Oropharynx	14 (26)
Hypopharynx	1 (2)

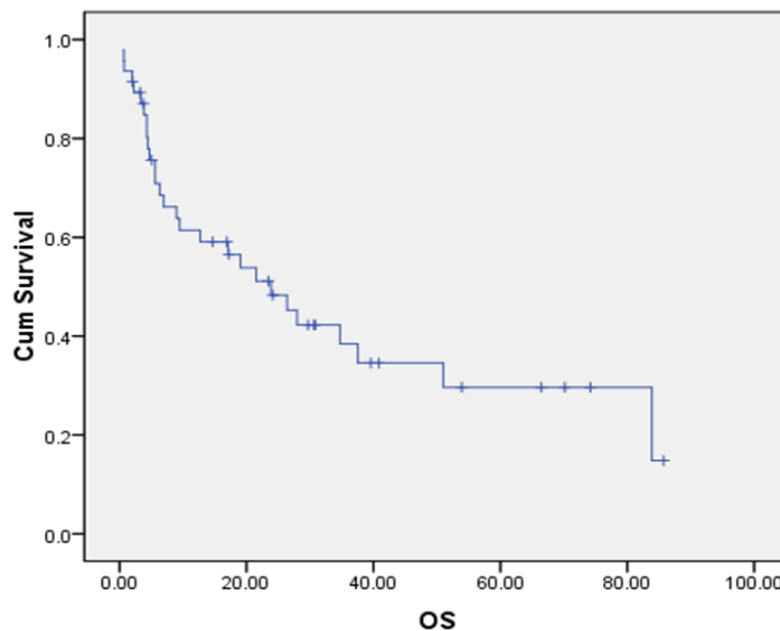
ตารางที่ 7.1 (ต่อ) แสดงข้อมูลพื้นฐานทั่วไปของผู้ป่วยทั้งหมด

Characteristics	n=53 (%)
Tumor grade	
Well differentiated	13 (25)
Moderate differentiated	27 (51)
Poor/undifferentiated	5 (10)
Unknown	8 (14)
T stage	
T1/T2	14 (28)
T3/T4	36 (66)
Unknown	3 (6)
N stage	
N0	20 (38)
N1/N2/N3	30 (56)
Unknown	3 (6)
AJCC stage	
I/II	7 (14)
III/IV	43 (80)
Unknown	3 (6)
Treatment modality	
No treatment	4 (8)
Surgery alone	6 (11)
Surgery followed by RT	9 (17)
Surgery followed by CRT	8 (15)
Curative RT alone	2 (4)
Palliative RT	5 (9)
Definitive CRT	10 (19)
Induction chemotherapy followed by CRT	3 (6)
Unknown	6 (11)

ตารางที่ 7.1 (ต่อ) แสดงข้อมูลพื้นฐานทั่วไปของผู้ป่วยทั้งหมด

Characteristics	n=53 (%)
Retinoblastoma protein status	
Positive	24 (45)
Negative	29 (55)

เมื่อทำการวิเคราะห์ข้อมูลถึงเดือนธันวาคม พ.ศ.2554 พบผู้ป่วยเสียชีวิตทั้งหมด 30 รายคิดเป็นร้อยละ 57 ทั้งนี้ มีผู้ป่วยจำนวน 6 ราย (ร้อยละ 11) ที่ไม่สามารถติดตามข้อมูลการดำเนินโรคได้ สำหรับค่ามัธยฐานของการรอดชีวิตโดยประมาณ (Estimated median overall survival) 24.14 เดือน และอัตราการรอดชีวิตที่ 5 ปี (5- year overall survival) ร้อยละ 32 ดังรูป 7.2 และค่ามัธยฐานของระยะเวลาการติดตามผู้ป่วยโดยประมาณ (Estimated median follow-up time) 41 เดือน



แผนภูมิที่ 7.2 แสดงกราฟการรอดชีวิตรวมของผู้ป่วยทั้งหมด

7.2 ข้อมูลพื้นฐานทั่วไปเปรียบเทียบตามสถานะโปรตีนเรตินอบลาสโตมา

จากการศึกษา พบผลบวกต่อการตรวจโปรตีนเรตินอบลาสโตมาในผู้ป่วย 24 ราย คิดเป็นร้อยละ 45 โดยเมื่อแบ่งตามความชุกของโปรตีนเรตินอบลาสโตมาในแต่ละตำแหน่งรอยโรค พบผลบวกต่อโปรตีนเรตินอบลาสโตมาร้อยละ 38 ในมะเร็งคอหอยส่วนช่องปาก, ร้อยละ 33 ในมะเร็งช่องปาก และร้อยละ 29 ในมะเร็งกล่องเสียง

ทั้งนี้ ไม่พบความแตกต่างของลักษณะพื้นฐานระหว่างกลุ่มที่ให้ผลบวกและผลลบต่อการตรวจโปรตีนเรตินอบลาสโตมา แต่พบว่าในกลุ่มที่ให้ผลลบต่อโปรตีนเรตินอบลาสโตมา มีแนวโน้มเป็นผู้ป่วยเพศชาย ดัชนีสูรามากกว่า มีลักษณะมะเร็งที่มี N-stage ที่มากกว่า รวมถึงลักษณะเกรดทางพยาธิวิทยาเป็น poorly to undifferentiated มากกว่า ดังตารางที่ 7.2

ตารางที่ 7.2 แสดงลักษณะพื้นฐานเปรียบเทียบกลุ่มที่ให้ผลบวกและผลลบต่อการตรวจ
โปรตีนเรตินโนบลาสโตมา

Characteristics	pRb-positive n (%)	pRb-negative n (%)	<i>p-value</i>
Gender			
Male	18 (75)	25 (86)	0.29
Female	6 (25)	4 (14)	
Median age (year)(IQR)	42 (27-64)	43 (35-58)	0.69
History of previous cancer			
No	21 (88)	26 (90)	0.48
Yes	3 (12)	-	
Unknown	-	3 (10)	
Co morbidities			
No	20 (83)	24 (83)	0.8
Yes	4 (17)	3 (10)	
Unknown	-	2 (7)	
Tobacco habit			
Ever	16 (67)	18 (62)	0.08
Never	7 (29)	4 (14)	
Unknown	1 (4)	7 (24)	
Alcohol drinking habit			
Ever	12 (50)	17 (59)	0.2
Never	9 (38)	5 (17)	
Unknown	3 (12)	7 (24)	

ตารางที่ 7.2 (ต่อ) แสดงลักษณะพื้นฐานเปรียบเทียบกลุ่มที่ให้ผลบวกและผลลบต่อการตรวจ
โปรตีนเรตินโนบลาสโตมา

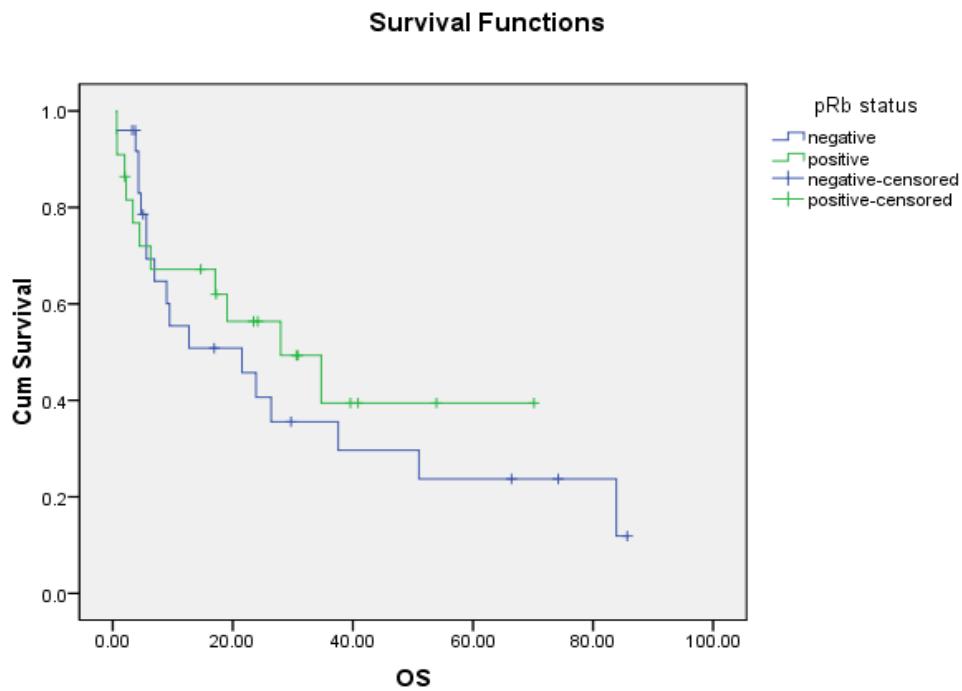
Characteristics	pRb-positive n (%)	pRb-negative n (%)	<i>p-value</i>
Anatomical site			
Oral cavity	8 (33)	12 (33)	0.72
Larynx	7 (29)	7 (24)	
Oropharynx	9 (38)	9 (31)	
Hypopharynx	-	1 (3)	
Tumor grade			
Well differentiated	4 (17)	9 (31)	0.3
Moderate differentiated	15 (63)	12 (41)	
Poor/undifferentiated	1 (4)	4 (14)	
Unknown	4 (16)	4 (16)	
T stage			
T1/T2	5 (21)	9 (31)	0.27
T3/T4	19 (79)	17 (59)	
Unknown	-	3 (10)	
N stage			
N0	12 (50)	8 (28)	0.16
N1/N2/N3	12 (50)	18 (62)	
Unknown	-	3 (10)	
AJCC stage			
I/II	5 (21)	2 (7)	0.25
III/IV	19 (79)	24 (83)	
Unknown	-	3 (10)	

ตารางที่ 7.2 (ต่อ) แสดงลักษณะพื้นฐานเปรียบเทียบกลุ่มที่ให้ผลบวกและผลลบต่อการตรวจ
โปรตีนเรตินوبลาสโตมา

Characteristics	pRb-positive n (%)	pRb-negative n (%)	<i>p-value</i>
Treatment modality			
No treatment	3 (12)	1 (3)	0.39
Surgery alone	3 (12)	3 (11)	
Surgery followed by RT	2 (9)	7 (24)	
Surgery followed by CRT	3 (12)	5 (17)	
Curative RT alone	1 (4)	1 (3)	
Palliative RT	2 (9)	3 (11)	
Definitive CRT	5 (21)	5 (17)	
Induction chemotherapy followed by CRT	3 (12)	-	
Unknown	2 (9)	4 (14)	

7.3 การดำเนินโรค แบ่งตามสถานะโปรตีนเรตินوبลาสโตมา

ไม่พบความแตกต่างของค่ามัชฌิมของการรอดชีวิตทั้งหมดโดยประมาณ เมื่อแบ่งตามสถานะโปรตีนเรตินوبลาสโตมา โดยในกลุ่มที่ให้ผลบวกต่อโปรตีนเรตินوبลาสโตมา มีค่ามัชฌิมของการรอดชีวิต 27.95 เดือน, อัตราการรอดชีวิตที่ 5 ปีร้อยละ 39 ในขณะที่กลุ่มที่ให้ผลลบต่อโปรตีนเรตินوبลาสโตมา มีค่ามัชฌิมของการรอดชีวิต 21.52 เดือน, อัตราการรอดชีวิตที่ 5 ปีร้อยละ 24 ($p=0.52$) ตามแผนภูมิ 7.3



แผนภูมิที่ 7.3 แสดงกราฟการรอดชีวิตเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่ให้ผลบวกและผลลบต่อ
โปรตีนเรตินโนบลาสโตมา

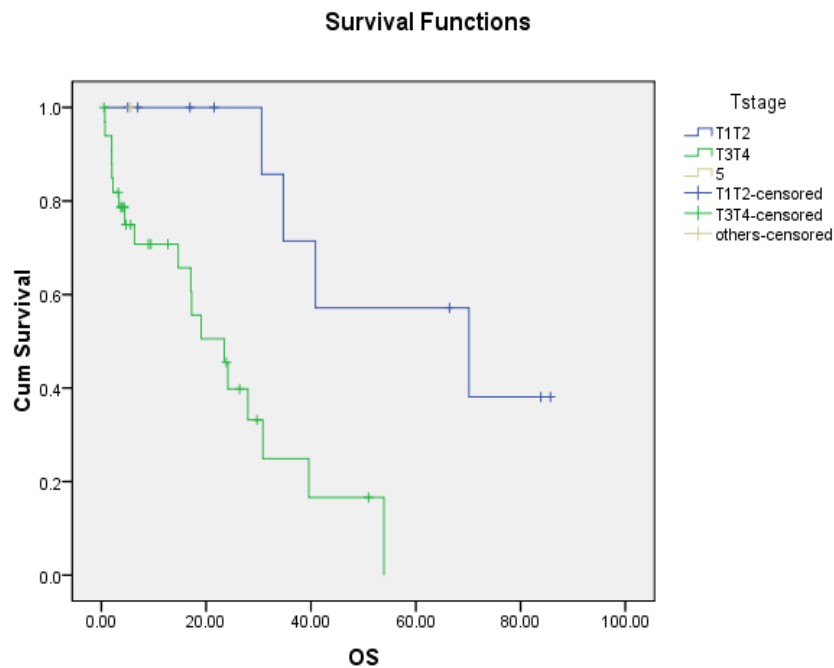
7.4 ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยเสี่ยงต่ออัตราการรอดชีวิต

เมื่อพิจารณาถึงปัจจัยเสี่ยงอื่นๆ ต่อการรอดชีวิตโดยการตรวจ Multivariate analysis พบว่า ระยะของก้อนในระยะที่ 3 หรือ 4 (OR 4.01) มีผลต่ออัตราการรอดชีวิตที่แยกกว่า ตามตาราง 7.3 และแผนภูมิที่ 7.4

ตารางที่ 7.3 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยต่างๆ กับอัตราการรอดชีวิตโดยรวม

	n	OR	OR		P value
			Lower	Upper	
Primary tumors					
Oral cavity	20	Reference			
Non-oral cavity	33	0.50	0.16	1.56	0.23
T parameter					
T1/T2	14	Reference			
T3/T4	36	4.01	1.18	13.62	0.018*
N parameter					
N0	20	Reference			
N1/N2/N3	30	2.66	0.75	9.45	0.12
AJCC stage					
I/II	7	Reference			
III/IV	43	0.36	0.03	4.41	0.41
pRb status					
Positive	24	Reference			
Negative	29	1.60	0.53	4.87	0.40

*P<0.05



แผนภูมิที่ 7.4 แสดงกราฟการรอดชีวิตเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มระยะของก้อนมะเร็ง 1/2 (T-stage 1/2) และ 3/4 (T-stage 3/4)

ทั้งนี้ เมื่อนำข้อมูลมาตรวจวิเคราะห์เกี่ยวกับอัตราการรอดชีวิตโดยแยกตามสถานะโปรตีนเวติโนบลาสโตมา พบว่าผลมีแนวโน้มไปในแนวทางเดียวกันในกลุ่มประชากรรวมของมะเร็งศีรษะและลำคอชนิดความถี่เซลล์ที่ไม่ใช่มะเร็งหลังโพรงจมูก คือไม่พบปัจจัยใดที่มีผลต่ออัตราการรอดชีวิตทั้งในกลุ่มที่สถานะโปรตีนเวติโนบลาสโตมาให้ผลบวกและลบ ยกเว้นในกลุ่มที่สถานะโปรตีนเวติโนบลาสโตมาเป็นลบ พบว่า ระยะของโรคมะเร็ง 3 และ 4 (AJCC stage 3/4) เป็นปัจจัยเดียวที่มีผลต่ออัตราการรอดชีวิต (OR 4.00, 95% CI 2.00-7.99, $p=0.02$) ดังตาราง 7.4

ตารางที่ 7.4 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยต่างๆ กับอัตราการรอดชีวิตแยกตามสถานะ
โปรตีนเรตินอบลาสโตมา

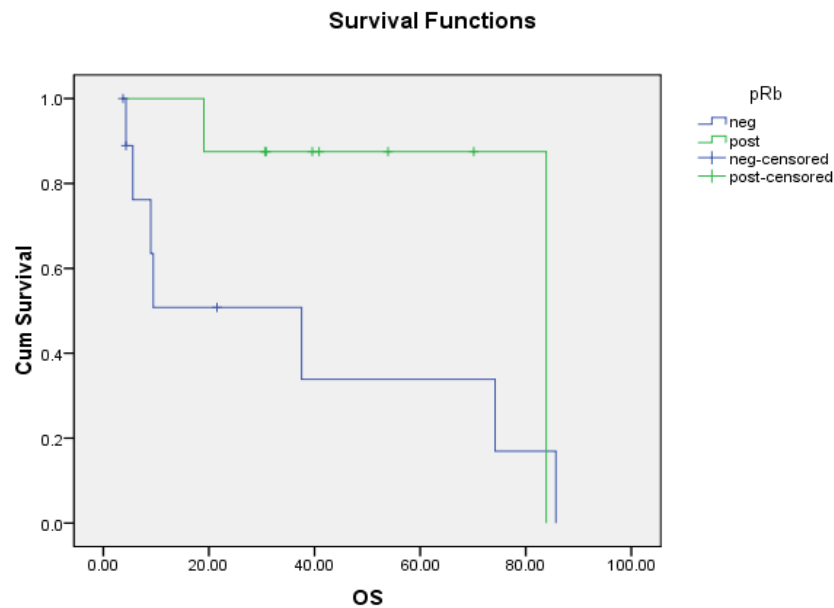
	pRb +				pRb -					
	n	OR	95% CI		P	n	OR	95% CI		P
			Lower	Upper	value			Lower	Upper	value
T-stage										
T1/T2	5	Reference				9	Reference			
T3/T4	19	5.50	0.51	59.01	0.13	17	2.60	0.46	14.63	0.27
N-stage										
N0	12	Reference				8	Reference			
	12	6.00	0.92	35.37	0.06	18	2.10	0.34	12.85	0.42
N1/N2/N3										
AJCC										
stage	5	Reference				2	Reference			
I/II	19	5.50	0.51	59.01	0.13	24	4.00	2.00	7.99	0.02*
III/IV										

* $p < 0.05$

7.5 การวิเคราะห์ตามตำแหน่งของรอยโรค

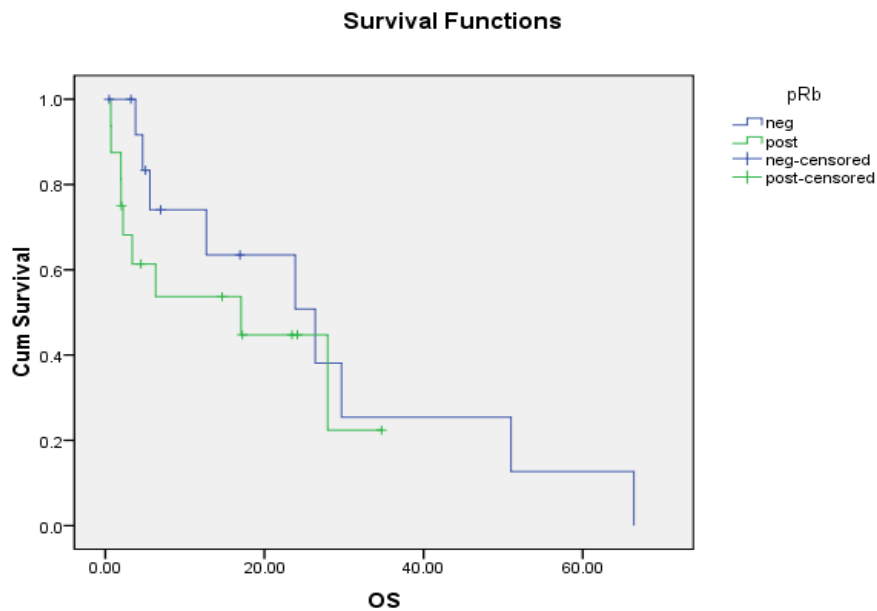
เมื่อทำการศึกษาเฉพาะกลุ่มมะเร็งช่องปาก มีจำนวนผู้ป่วยจำนวน 20 รายคิดเป็นร้อยละ 38 ของมะเร็งศีรษะและลำคอทั้งหมด โดยพบว่าร้อยละ 80 ของผู้ป่วยเป็นเพศชาย และมากกว่าร้อยละ 80 พบในระยะโรคที่ 3 หรือ 4 (ระยะก่อนที่ 3 หรือ 4 ร้อยละ 81 และ มีการกระจายไปต่อมน้ำเหลืองร้อยละ 60)

พบความชุกของโปรตีนเรตินอบลาสโตมาจำนวน 8 ราย คิดเป็นร้อยละ 33 ของมะเร็งช่องปากทั้งหมดโดย เมื่อทำการวิเคราะห์ในกลุ่มที่สถานะเรตินอบลาสโตมาให้ผลบวก พบว่ามีผู้เสียชีวิต 2 รายและมีความชุกของการรอดชีวิตในกลุ่มที่ให้ผลบวกต่อโปรตีนเรตินอบลาสโตมาประมาณ 83.87 เดือน ในขณะที่กลุ่มที่ให้ผลลบต่อโปรตีนเรตินอบลาสโตมามีผู้เสียชีวิต 7 ราย และมีความชุกของการรอดชีวิตประมาณ 37.52 เดือน ทั้งนี้ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p=0.09$) ดังแผนภูมิ 7.5



แผนภูมิที่ 7.5 แสดงกราฟการรอดชีวิตเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่ให้ผลบวกและผลลบต่อโปรตีนเรตินอบลาสโตมาในผู้ป่วยมะเร็งช่องปาก

เมื่อทำการเปรียบเทียบกับมะเร็งศีรษะและลำคอที่ไม่ใช่มะเร็งส่วนช่องปาก พบว่าไม่มีความแตกต่างของลักษณะพื้นฐานทั้งสองกลุ่ม โดยพบความชุกของโปรตีนเรตินอบลาสโตมาในมะเร็งศีรษะและลำคอที่ไม่ใช่มะเร็งส่วนช่องปาก จำนวน 33 ราย คิดเป็นร้อยละ 62 ทั้งนี้ ค่ามัชฌิมของการรอดชีวิตในกลุ่มที่ให้ผลบวกต่อโปรตีนเรตินอบลาสโตมาประมาณ 17.08 เดือน ในขณะที่กลุ่มที่ให้ผลลบต่อโปรตีนเรตินอบลาสโตมาประมาณ 26.38 เดือน แต่พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ทางสถิติ ($p=0.37$) ดังรูป 7.6 และตารางเปรียบเทียบที่ 7.5



แผนภูมิที่ 7.6 แสดงกราฟการรอดชีวิตเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่ให้ผลบวกและผลลบต่อโปรตีนเรตินอบลาสโตมาในผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและลำคอที่ไม่ใช่มะเร็งช่องปาก

ตารางที่ 7.5 เปรียบเทียบค่ามัชฌิมการรอดชีวิต ระหว่างกลุ่มต่างๆ

ตำแหน่งรอยโรค	ค่ามัชฌิมการรอดชีวิต (เดือน)
ทุกตำแหน่ง (n=53)	
ผลบวกต่อโปรตีนเรตินอบลาสโตมา	27.95
ผลลบต่อโปรตีนเรตินอบลาสโตมา	21.52
มะเร็งช่องปาก (n=20)	
ผลบวกต่อโปรตีนเรตินอบลาสโตมา	83.87
ผลลบต่อโปรตีนเรตินอบลาสโตมา	37.52
มะเร็งศีรษะและลำคอ ที่ไม่ใช่มะเร็งช่องปาก (n=33)	
ผลบวกต่อโปรตีนเรตินอบลาสโตมา	17.08
ผลลบต่อโปรตีนเรตินอบลาสโตมา	26.38

บทที่ 8

อภิปรายผลการวิจัย

แม้ว่าในปัจจุบัน จะพบสัดส่วนของผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและลำคอในกลุ่มที่พบการติดเชื้อไวรัสเอชพีวีเพิ่มมากขึ้น แต่ผู้ป่วยส่วนใหญ่ยังคงเป็นผู้ป่วยกลุ่มที่ไม่พบการติดเชื้อไวรัสเอชพีวี แต่ยังคงพบปัจจัยเสี่ยงอื่นๆต่อการเกิดโรคเป็นสัดส่วนที่สูงอยู่ เช่น ประวัติสูบบุหรี่หรือดื่มสุรา เป็นต้น ซึ่งส่วนหนึ่งเชื่อว่าอาจเป็นผลจากการเกิดการกลายพันธุ์ของยีนที่ควบคุมการเกิดโรคมะเร็ง เช่น ยีนเรตินوبลาสโตมา เป็นต้น แม้ว่าบางการศึกษาจะมีรายงานเกี่ยวกับผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและลำคอที่ไม่พบการติดเชื้อไวรัสเอชพีวีว่ามีอายุเฉลี่ย, ประวัติการสูบบุหรี่หรือดื่มสุรา, ลักษณะทางพยาธิวิทยา, ตำแหน่งรอยโรคและระยะของโรค ไม่พบความแตกต่างเมื่อเทียบกับประชากรกลุ่มที่พบการติดเชื้อไวรัสเอชพีวี

อย่างไรก็ตาม การศึกษาความชุกของการกลายพันธุ์ของยีนเรตินوبลาสโตมาโดยเฉพาะในกลุ่มประชากรที่ไม่พบการติดเชื้อไวรัสเอชพีวีนั้นนี้ ไม่ได้มีการศึกษาที่ชัดเจน รวมถึงความสำคัญของสถานะโปรตีนเรตินوبลาสโตมากับการพยากรณ์และการดำเนินโรค

การทราบความชุกของสถานะโปรตีนเรตินوبลาสโตมาในประชากรกลุ่มนี้ อาจช่วยในการวางแผนการรักษาเฉพาะรายเพื่อลดผลข้างเคียงจากการรักษา และทราบการพยากรณ์โรคมะเร็งศีรษะและลำคอต่อไปในอนาคต

8.1 ลักษณะพื้นฐานของผู้ป่วย

จากการเก็บข้อมูลพบว่าผู้ป่วยมีอายุโดยเฉลี่ยค่อนข้างน้อย, เพศชาย, ประวัติการสูบบุหรี่,เกรดของชิ้นเนื้อในทางพยาธิวิทยาของเซลล์อยู่ในระดับต่ำถึงปานกลาง (Well to moderate differentiation), และระยะของโรค ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับข้อมูลกับการศึกษาอื่น พบว่าลักษณะพื้นฐานของผู้ป่วยใกล้เคียงกัน ดังตารางที่ 8.1

ตารางที่ 8.1 แสดงข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและลำคอที่ไม่พบการติดเชื้อไวรัสเอชพีวี
เปรียบเทียบแต่ละการศึกษา

Characteristics	Nemes (10)	Ringstrom E (91)	Current study
Gender			
Male	80%	69%	81%
Female	20%	31%	19%
Median age (year)	< 65 yr, 74% > 65 yr, 26%	< 59 yr, 42% > 59 yr, 58%	42
History of previous cancer			
No	-	-	90%
Yes	-	-	6%
Tobacco habit			
Ever	76%	87%	64%
Never	24%	13%	20%
Alcohol drinking habit			
Ever	72%	74%	55%
Never	28%	25%	26%
Anatomical site			
Oral cavity	100%	55%	38%
Larynx	-	13%	34%
Oropharynx	-	20%	26%
Hypopharynx	-	6%	2%
Tumor grade			
Well differentiated	46%	28%	25%
Moderate differentiated	44%	52%	51%
Poor/undifferentiated	10%	15%	10%

ตารางที่ 8.1(ต่อ) แสดงข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและลำคอที่ไม่พบการติดเชื้อไวรัส
เอชพีวีเปรียบเทียบแต่ละการศึกษา

Characteristics	Nemes (10)	Ringstrom E (91)	Current study
T stage			
T1/T2	61%	34%	28%
T3/T4	39%	61%	66%
N stage			
N0	67%	35%	38%
N1/N2/N3	33%	65%	56%
AJCC stage			
I/II	50%	20%	14%
III/IV	50%	80%	80%

จากข้อมูลการศึกษาของผู้ทำการวิจัยพบว่าลักษณะพื้นฐานของประชากรที่ทำการศึกษามีแนวโน้มใกล้เคียงกับการศึกษาอื่น ยกเว้นข้อมูลพื้นฐานด้านอายุที่มีค่ามัธยฐานน้อยกว่าการศึกษาอื่น เนื่องจาก ข้อมูลประชากรส่วนใหญ่ที่เข้าร่วมการศึกษาในครั้งนี้เป็นข้อมูลผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและลำคอ ชนิดสควมัสเซลล์ที่ไม่ใช่มะเร็งหลังโพรงจมูกที่ทราบผลการตรวจสถานะไวรัสเอชพีวีว่ามีผลเป็นลบ จากการศึกษาวิจัยเรื่อง ความชุกของไวรัสเอชพีวีในมะเร็งศีรษะและลำคอชนิดสควมัสเซลล์ที่ไม่ใช่มะเร็งหลังโพรงจมูก ในผู้ป่วยที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์อายุไม่เกิน 45 ปี (92)

8.2 ความชุกของโปรตีนเรตินอบลาสโตมาในมะเร็งศีรษะและลำคอที่ไม่พบการติดเชื้อไวรัสเอชพีวี

วัตถุประสงค์หลักของการศึกษานี้ คือ การหาความชุกของโปรตีนเรตินอบลาสโตมาในมะเร็งศีรษะและลำคอชนิดสควมัสเซลล์ที่ไม่ใช่มะเร็งหลังโพรงจมูก พบว่ามีผู้ป่วยเพียงร้อยละ 45 ที่มีสถานะโปรตีนเรตินอบลาสโตมาให้ผลบวก ซึ่งพบน้อยกว่าการศึกษาในต่างประเทศที่พบถึงร้อยละ 84(10)

การพบความชุกในการศึกษานี้้น้อยกว่าในการศึกษาจากต่างประเทศ อาจเป็นเพราะลักษณะพื้นฐานของผู้ป่วยที่ศึกษาแตกต่างกันจริง ซึ่งสาเหตุหนึ่งที่อธิบายจากกลุ่มประชากรมะเร็งศีรษะและลำคอชนิด สความัสเซลล์ที่ไม่ใช่มะเร็งหลังโพรงจมูกในการศึกษานี้มีอายุเฉลี่ยต่ำกว่า โดยมีค่ามัชฌิมา 42 ปี ซึ่งน้อยกว่าเมื่อเทียบกับต่างประเทศ คือ มักเป็นผู้ป่วยที่มีอายุมากกว่า นอกจากนี้ปัจจัยด้านอายุที่แตกต่างกัน ปัจจัยด้านเชื้อชาติก็อาจเป็นตัวแปรที่ทำให้สถานะของโปรตีนเรติโนบลาสโตมาที่มีความแตกต่างกัน ทำให้ลักษณะพื้นฐานของประชากรที่ทำการศึกษามีความแตกต่างกัน

ในทางตรงกันข้าม ลักษณะพื้นฐานของผู้ป่วยที่ศึกษาอาจไม่ได้แตกต่างกับการศึกษาในต่างประเทศจริง แต่ผลการศึกษาซึ่งไม่สอดคล้องกัน เนื่องจากวิธีการศึกษาที่แตกต่างกัน โดยในการศึกษาของต่างประเทศ ไม่ได้ออกแบบการศึกษาเพื่อหาความชุกของการขาดโปรตีนเรติโนบลาสโตมาเฉพาะในผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและลำคอชนิดสความัสเซลล์ที่ไม่ใช่มะเร็งหลังโพรงจมูก แต่ยังเก็บข้อมูลในทุกกลุ่มประชากรทั้งพบและไม่พบการติดเชื้อไวรัสเอชพีวี โดยกลุ่มที่ไม่พบการติดเชื้อไวรัสเอชพีวีเป็นเพียงกลุ่มย่อยกลุ่มหนึ่งเท่านั้น

นอกจากนี้ ปัจจัยที่มีผลต่อความชุกของโปรตีนเรติโนบลาสโตมาในการศึกษานี้ ที่พบความชุกน้อยกว่าเมื่อเทียบกับต่างประเทศ เนื่องมาจากเทคนิคและประสบการณ์ของผู้ทำการย้อมสี IHC ในห้องปฏิบัติการ เพราะว่า การย้อมสี IHC ของโปรตีนเรติโนบลาสโตมานั้นไม่ได้มีการให้บริการเป็นงานประจำ ทำให้เทคนิคการย้อมสี IHC อาจมีการคลาดเคลื่อน ทำให้การติดสีโปรตีนเรติโนบลาสโตมาอาจติดสีจางและน้อยกว่าความเป็นจริง ทางผู้วิจัยและพยาธิแพทย์ได้ทำการย้อมสี IHC ใหม่อีกครั้ง พบว่าการติดสีมีลักษณะใกล้เคียงกันทั้ง 2 ครั้ง และการแปรผลมีการนำตัวควบคุมบวกและลบ (Positive and negative control) มาเป็นตัวเปรียบเทียบในการแปรผล

จากข้อมูลการศึกษาครั้งนี้พบว่า ประชากรที่ทำการศึกษาตรวจพบสถานะโปรตีนเรติโนบลาสโตมาร้อยละ 45 นั้น มีแนวโน้มความสัมพันธ์กับลักษณะของมะเร็งศีรษะและลำคอที่มีการดำเนินโรคที่รุนแรงกว่า เช่น อายุน้อย, เพศชาย, ระยะของก้อนเนื้องอก (T-stage) ที่สูง, การแพร่กระจายไปยังต่อมน้ำเหลือง (N-stage), ระยะของโรคที่สูง, ลักษณะเกรดทางพยาธิวิทยาที่ไม่ดี ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Pavelic และคณะ(16) ซึ่งพบว่า ในผู้ป่วยมะเร็งช่องปากที่มีการขาดหายไปของโปรตีนเรติโนบลาสโตมามากกว่า

จะสัมพันธ์กับลักษณะของผู้ป่วยและการดำเนินโรคที่รุนแรงกว่า เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่พบการขาดหายไของโปรตีนเรตินوبลาสโตมาที่น้อยกว่า ซึ่งจะมีลักษณะของผู้ป่วยและการดำเนินโรคที่ดีกว่า

และเมื่อทำการวิเคราะห์ลักษณะประชากรจากการศึกษาของ Nemes และคณะ(10) ซึ่งตรวจพบสถานะของโปรตีนเรตินوبลาสโตมาถึงร้อยละ 84 พบว่า มีลักษณะประชากรมีอายุมากกว่า, มีระยะของก้อนเนื้อออก (T-stage) และการแพร่กระจายไปยังต่อมน้ำเหลือง (N-stage) ที่น้อยกว่า รวมถึงมีลักษณะเกรดทางพยาธิวิทยาที่ดีกว่า แต่พบปัจจัยกระตุ้นการเกิดโรค เช่น การสูบบุหรี่และการดื่มสุราที่มากกว่า เมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาในครั้งนี้ จึงอาจสรุปได้ว่า การตรวจพบสถานะโปรตีนเรตินوبลาสโตมาร้อยละ 45 ซึ่งน้อยกว่าในการศึกษานี้ สัมพันธ์กับลักษณะของประชากรและการดำเนินโรคที่รุนแรงกว่าในประชากรไทยเมื่อเทียบกับต่างประเทศ ซึ่งอาจอนุมานได้ว่า ในประชากรไทยที่ไม่พบการติดเชื้อไวรัสเอชพีวี มีกลไกการเกิดโรคมะเร็งศีรษะและลำคอจากความผิดปกติของยีนเรตินوبลาสโตมามากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาในต่างประเทศ

เนื่องจากไม่มีการศึกษาใดในอดีตที่ตั้งวัตถุประสงค์ และออกแบบมาเพื่อหาความชุกของโปรตีนเรตินوبลาสโตมาในผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและลำคอชนิดสความัสเซลล์ที่ไม่ใช่มะเร็งหลังโพรงจมูกเพียงชนิดเดียว การศึกษานี้จึงสามารถสรุปได้ว่าความชุกของโปรตีนเรตินوبลาสโตมาในผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและลำคอชนิดสความัสเซลล์ที่ไม่ใช่มะเร็งหลังโพรงจมูกในประเทศไทยเท่ากับร้อยละ 45 แต่ไม่สามารถสรุปได้อย่างชัดเจนว่าข้อมูลของผู้ป่วยในประเทศไทยมีความเหมือนหรือแตกต่างกับต่างประเทศหรือไม่

8.3 การพยากรณ์และดำเนินโรค

จากข้อมูลการศึกษาสถานะของโปรตีนเรตินوبลาสโตมาในมะเร็งบางชนิดพบว่า การตรวจพบสถานะของโปรตีนเรตินوبลาสโตมาเป็นปัจจัยการพยากรณ์โรคที่ดีในมะเร็งกระเพาะปัสสาวะและมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็ก (Non-small cell) และการตรวจไม่พบสถานะของโปรตีนเรตินوبลาสโตมามีความสัมพันธ์กับการพยากรณ์โรคที่แย่กว่า

จากข้อมูลการศึกษาของ Dokiya และคณะ(15) ที่ทำการศึกษถึงการแสดงออกของโปรตีนเรตินอบลาสโตมาในผู้ป่วยมะเร็งกล่องเสียง พบว่าในผู้ป่วยที่ตรวจพบการย้อมติดโปรตีนเรตินอบลาสโตมา มากกว่าร้อยละ 50 ด้วยวิธีอิมมูโนพยาธิวิทยา ของเซลล์มะเร็งที่ทำการศึกษามีอัตราการรอดชีวิตที่ 5 ปี ร้อยละ 26 ซึ่งดีกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่พบการย้อมติดโปรตีนเรตินอบลาสโตมาน้อยกว่าร้อยละ 50 ซึ่งมีอัตราการรอดชีวิตที่ 5 ปี ร้อยละ 11 ($P=0.043$) ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาในครั้งนี้พบว่าแนวโน้มไปในทางเดียวกัน คือ กลุ่มที่ตรวจพบสถานะโปรตีนเรตินอบลาสโตมามีอัตราการรอดชีวิตที่ 5 ปีดีกว่ากลุ่มที่ตรวจไม่พบสถานะโปรตีนเรตินอบลาสโตมา แต่ไม่พบว่ามี ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่จากข้อมูลทั้ง 2 การศึกษาไม่สามารถเปรียบเทียบอัตราการรอดชีวิตที่ 5 ปี ได้อย่างชัดเจน เนื่องด้วยกลุ่มประชากรที่แตกต่างกันและวิธีการระบุสถานะโปรตีนเรตินอบลาสโตมาที่แตกต่างกัน

ในแง่ของการพยากรณ์โรคและการดำเนินโรค ในการศึกษาที่ไม่พบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทั้งนี้อาจเป็นผลมาจากความไม่สมดุลของกลุ่มประชากร ทั้งการเลือกประชากรที่อายุน้อย, จำนวนประชากรที่ศึกษาไม่มากพอที่จะตรวจสอบอัตราการรอดชีวิตว่ามีความแตกต่างกันหรือไม่ นอกจากนี้แล้วจากลักษณะพื้นฐานของประชากรพบว่า ในกลุ่มที่สถานะโปรตีนเรตินอบลาสโตมาเป็นลบ มีประชากรเพศชาย, ตี๋มสุรา, และลักษณะเกรดทางพยาธิวิทยาที่ไม่ดี (poorly to undifferentiated histology) มากกว่ากลุ่มที่สถานะโปรตีนเรตินอบลาสโตมาเป็นบวก แม้ลักษณะดังกล่าวจะไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งลักษณะดังกล่าวเป็นลักษณะที่บ่งชี้ว่าการพยากรณ์โรคไม่ดี ดังนั้นอาจส่งผลให้กลุ่มที่สถานะโปรตีนเรตินอบลาสโตมาเป็นลบมีการพยากรณ์โรคที่ไม่ดีอยู่แล้ว

เมื่อพิจารณาในแต่ละปัจจัย เช่น ระยะ T-stage, การพบต่อมน้ำเหลือง (N-stage), ระยะของโรค และบริเวณที่เกิดรอยโรค เปรียบเทียบในทั้ง 2 กลุ่มที่สถานะเรตินอบลาสโตมาให้ผลบวกและลบ พบว่าไม่พบความแตกต่างกันในทั้ง 2 กลุ่มประชากร ดังนั้นจึงไม่พบว่ามีปัจจัยใดที่สามารถเป็นตัวพยากรณ์การดำเนินโรคและอัตราการรอดชีวิตของผู้ป่วยกลุ่มนี้ได้

ดังนั้นจึงสรุปได้ว่า ความชุกของสถานะเรตินอบลาสโตมาโดยการตรวจวิธีเทคนิคอิมมูโนพยาธิวิทยา (Immunohistochemistry) ในผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและลำคอที่ไม่ใช่มะเร็งหลังโพรงจมูก ในประชากรไทย พบได้น้อยกว่าการศึกษาอื่นในต่างประเทศ และความสำคัญในการพยากรณ์การดำเนินโรค ไม่พบ

ความแตกต่างในทั้ง 2 กลุ่มผู้ป่วย แต่พบว่ามีความโน้มเอียงการพยากรณ์โรคที่ดีในกลุ่มที่สถานะโปรตีน
เรตินอบลาสโตมาเป็นบวก

บทที่ 9

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

การศึกษานี้ เป็นการศึกษาเชิงบรรยาย ณ ช่วงเวลาหนึ่ง (Cross-sectional descriptive study) โดยมีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาความชุกของโปรตีนเรตินอบลาสโตมาในผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและลำคอ ไม่ใช่มะเร็งหลังโพรงจมูกและไม่พบการติดเชื้อไวรัสเอชพีวี ในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์รวมถึงศึกษาความสัมพันธ์ของการตรวจพบสถานะโปรตีนเรตินอบลาสโตมากับพยากรณ์และการดำเนินโรค

การหาโปรตีนเรตินอบลาสโตมาทาโดยการตรวจทางอิมมูโนพยาธิวิทยา (Immunohistochemistry) เพิ่มเติมจากชิ้นเนื้อเดิมที่มีอยู่แล้ว และเปรียบเทียบกับลักษณะของผู้ป่วย รวมทั้งติดตามอัตราการรอดชีวิตของผู้ป่วยที่ 5 ปี

ขั้นตอนที่สำคัญ คือ การตรวจทางอิมมูโนพยาธิวิทยา เพื่อหาการแสดงออกของโปรตีนเรตินอบลาสโตมาและนำมาคำนวณหาความชุกของสถานะโปรตีนเรตินอบลาสโตมาในผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและลำคอ ไม่ใช่มะเร็งหลังโพรงจมูกและไม่พบการติดเชื้อไวรัสเอชพีวี ซึ่งชิ้นเนื้อทางพยาธิวิทยา (Paraffin-Embedded section) ที่ตรวจแล้วมีคุณภาพดีพอ สามารถนำมาวิเคราะห์ได้มีจำนวนเพียงพอ คือ 53 ราย เป็นผลให้ข้อมูลที่ได้จากการศึกษานี้มีความน่าเชื่อถือและเพียงพอในการบอกความชุกของสถานะโปรตีนเรตินอบลาสโตมาในผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและลำคอไม่ใช่มะเร็งหลังโพรงจมูกและไม่พบการติดเชื้อไวรัสเอชพีวี

วิธีการตรวจทางอิมมูโนพยาธิวิทยา โดยการใช้ชุดการตรวจสำเร็จรูป ทาบนชิ้นเนื้อที่ได้รับการเตรียมด้วยวิธีไมโครแอเรย์ (Microarray) เป็นวิธีมาตรฐานที่ใช้ในการศึกษาก่อนหน้านี้ แต่อาจมีความแตกต่างกันในแง่การอ่านและการแปลผล เนื่องจากใช้ชุดการตรวจสำเร็จรูปจากต่างบริษัทกัน อย่างไรก็ตามการตรวจทางอิมมูโนพยาธิวิทยา การศึกษานี้ก็มีตัวควบคุมที่ชัดเจนและมีความแตกต่างกันระหว่างการมีและไม่มีการแสดงออกของโปรตีนเรตินอบลาสโตมา โดยดูจากสัดส่วนของเซลล์มะเร็งศีรษะและลำคอที่มีการติดสีในนิวเคลียสเทียบกับเซลล์มะเร็งศีรษะและลำคอทั้งหมด ซึ่งสามารถบอกได้ว่าการติดสีหรือไม่ ดังนั้นผลการตรวจที่ได้ในการศึกษานี้จึงมีความน่าเชื่อถือและน่าจะสามารถนำไปใช้ในการตรวจครั้งต่อไป

จากผลการวิเคราะห์ข้อมูลทั้งหมด สามารถสรุปได้ว่า ความชุกของโปรตีนเรตินอบลาสโตมาในผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและลำคอไม่ใช่มะเร็งหลังโพรงจมูกและไม่พบการติดเชื้อไวรัสเอชพีวีจากการศึกษานี้คือร้อยละ 45 โดยลักษณะพื้นฐานและการดำเนินโรคโดยรวมของผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและลำคอไม่ใช่มะเร็งหลังโพรงจมูกและไม่พบการติดเชื้อไวรัสเอชพีวี น้อยกว่าผลจากการศึกษาในต่างประเทศ

กลุ่มที่สถานะโปรตีนเรตินอบลาสโตมาเป็นลบ มีลักษณะของโรคที่รุนแรงกว่าเมื่อแรกวินิจฉัย ได้แก่ เพศชาย, ต้มสุรา, ระยะรอยโรค (T-stage), และลักษณะเกรดทางพยาธิวิทยาที่ไม่ดี (poorly to undifferentiated histology) แต่อย่างไรก็ตามข้อมูลพื้นฐานส่วนบุคคลและปัจจัยทางคลินิกระหว่างผู้ป่วยที่มีและไม่มีการแสดงออกของโปรตีนเรตินอบลาสโตมาไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เมื่อสิ้นสุดการติดตามผู้ป่วยตามที่กำหนดไว้พบว่ากลุ่มที่มีสถานะโปรตีนเรตินอบลาสโตมาเป็นบวก อัตราการรอดชีวิตที่ 5 ปี นานกว่ากลุ่มที่สถานะโปรตีนเรตินอบลาสโตมาเป็นลบ (27.95 และ 21.52 เดือนตามลำดับ) แต่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เมื่อศึกษาเฉพาะกลุ่มย่อยปัจจัยต่างๆที่มีผลต่อการรอดชีวิตของผู้ป่วย ไม่พบว่าปัจจัยใดที่มีผลต่อการรอดชีวิตเมื่อเปรียบเทียบกันประชากรทั้ง 2 กลุ่ม

ข้อเสนอแนะ

1. ทำการศึกษาในกลุ่มตัวอย่างที่มากขึ้น ทุกกลุ่มอายุ เพื่อให้ได้ผลที่ถูกต้องขึ้นในแง่ของการหาความชุกในผู้ป่วยชาวไทย และได้ผลที่ชัดเจนขึ้น โดยเฉพาะในแง่ของความแตกต่างของการดำเนินโรคของผู้ป่วยแต่ละกลุ่ม
2. การศึกษาติดตามไปข้างหน้า ซึ่งจะช่วยให้สามารถเก็บข้อมูลทั้งลักษณะทางคลินิก ข้อมูลการดำเนินโรคที่ครบถ้วน
3. ติดตามกลุ่มตัวอย่างที่ทำการศึกษาต่อไปในระยะยาวเพื่อศึกษาถึงการดำเนินโรคของผู้ป่วยแต่ละกลุ่ม แล้วจึงรวบรวมและวิเคราะห์ข้อมูลอีกครั้ง

รายการอ้างอิง

1. A Langerman EC, EA Blair, et al.,. Head and neck cancer in the young patient. 2009; Available from: <http://www.oralcancerfoundation.org/hpv/pdf/Head-and-Neck-Carcinoma-Young-Patient.pdf>.
2. Shiboski CH, Schmidt BL, Jordan RC. Tongue and tonsil carcinoma: increasing trends in the U.S. population ages 20-44 years. *Cancer*. 2005;103(9):1843-9. Epub 2005/03/18.
3. Dayyani F, Etzel CJ, Liu M, Ho CH, Lippman SM, Tsao AS. Meta-analysis of the impact of human papillomavirus (HPV) on cancer risk and overall survival in head and neck squamous cell carcinomas (HNSCC). *Head & neck oncology*. 2010;2:15. Epub 2010/07/01.
4. Fakhry C, Gillison ML. Clinical implications of human papillomavirus in head and neck cancers. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2006;24(17):2606-11. Epub 2006/06/10.
5. Jung AC, Briolat J, Millon R, de Reynies A, Rickman D, Thomas E, et al. Biological and clinical relevance of transcriptionally active human papillomavirus (HPV) infection in oropharynx squamous cell carcinoma. *International journal of cancer Journal international du cancer*. 2010;126(8):1882-94. Epub 2009/10/02.
6. D'Souza G, Kreimer AR, Viscidi R, Pawlita M, Fakhry C, Koch WM, et al. Case-control study of human papillomavirus and oropharyngeal cancer. *The New England journal of medicine*. 2007;356(19):1944-56. Epub 2007/05/15.
7. Goon PK, Stanley MA, Ebmeyer J, Steinstrasser L, Upile T, Jerjes W, et al. HPV & head and neck cancer: a descriptive update. *Head & neck oncology*. 2009;1:36. Epub 2009/10/16.
8. Haddad RI, Shin DM. Recent advances in head and neck cancer. *The New England journal of medicine*. 2008;359(11):1143-54. Epub 2008/09/12.
9. Moody CA, Laimins LA. Human papillomavirus oncoproteins: pathways to transformation. *Nature reviews Cancer*. 2010;10(8):550-60. Epub 2010/07/02.
10. Nemes JA, Deli L, Nemes Z, Marton IJ. Expression of p16(INK4A), p53, and Rb proteins are independent from the presence of human papillomavirus genes in oral squamous cell

carcinoma. Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics. 2006;102(3):344-52. Epub 2006/08/22.

11. El-Naggar AK, Lai S, Clayman GL, Zhou JH, Tucker SA, Myers J, et al. Expression of p16, Rb, and cyclin D1 gene products in oral and laryngeal squamous carcinoma: biological and clinical implications. *Human pathology*. 1999;30(9):1013-8. Epub 1999/09/24.

12. Koontongkaew S, Chareonkitkajorn L, Chanvitan A, Leelakriangsak M, Amornphimoltham P. Alterations of p53, pRb, cyclin D(1) and cdk4 in human oral and pharyngeal squamous cell carcinomas. *Oral oncology*. 2000;36(4):334-9. Epub 2000/07/19.

13. Sartor M, Steingrimsdottir H, Elamin F, Gaken J, Warnakulasuriya S, Partridge M, et al. Role of p16/MTS1, cyclin D1 and RB in primary oral cancer and oral cancer cell lines. *British journal of cancer*. 1999;80(1-2):79-86. Epub 1999/07/02.

14. Ostwald C, Gogacz P, Hillmann T, Schweder J, Gundlach K, Kundt G, et al. p53 mutational spectra are different between squamous-cell carcinomas of the lip and the oral cavity. *International journal of cancer Journal international du cancer*. 2000;88(1):82-6. Epub 2000/08/30.

15. Dokiya F, Ueno K, Ma S, Eizuru Y, Furuta S, Ohyama M. Retinoblastoma protein expression and prognosis in laryngeal cancer. *Acta oto-laryngologica*. 1998;118(5):759-62. Epub 1998/12/05.

16. Pavelic ZP, Lasmar M, Pavelic L, Sorensen C, Stambrook PJ, Zimmermann N, et al. Absence of retinoblastoma gene product in human primary oral cavity carcinomas. *European journal of cancer Part B, Oral oncology*. 1996;32B(5):347-51. Epub 1996/09/01.

17. Lyon L, Gleich M, and Frank N. Salamone, MD. *Molecular Genetics of Head and Neck Cancer*. *Cancer Control*. 2002;9:369-78.

18. Institute NC. *Head and Neck Cancers*. 2013; Available from: (A) <http://www.cancer.gov/cancertopics/factsheet/Sites-Types/head-and-neck>.

19. Ragin CC, Modugno F, Gollin SM. The epidemiology and risk factors of head and neck cancer: a focus on human papillomavirus. *Journal of dental research*. 2007;86(2):104-14. Epub 2007/01/26.

20. Hartwig S, Syrjanen S, Dominiak-Felden G, Brotons M, Castellsague X. Estimation of the epidemiological burden of human papillomavirus-related cancers and non-malignant diseases in men in Europe: a review. *BMC cancer*. 2012;12:30. Epub 2012/01/21.
21. Schantz SP, Yu GP. Head and neck cancer incidence trends in young Americans, 1973-1997, with a special analysis for tongue cancer. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 2002;128(3):268-74. Epub 2002/03/12.
22. P BA. Cancer registry 2008. National Cancer Institute. 2009:1-18.
23. T.Khuhaprema PS, P Attasara. Cancer in Thailand. 2010;V.
24. Jay F. Piccirillo IC. Cancers of the Head and Neck, SEER Survival Monograph. National Cancer Institute.
25. John Andrew Ridge R, Miriam N. University of Maryland Medical Center.
26. Llewellyn CD, Johnson NW, Warnakulasuriya KA. Risk factors for oral cancer in newly diagnosed patients aged 45 years and younger: a case-control study in Southern England. *Journal of oral pathology & medicine : official publication of the International Association of Oral Pathologists and the American Academy of Oral Pathology*. 2004;33(9):525-32. Epub 2004/09/11.
27. Sisk EA, Bradford CR, Jacob A, Yian CH, Staton KM, Tang G, et al. Human papillomavirus infection in "young" versus "old" patients with squamous cell carcinoma of the head and neck. *Head & neck*. 2000;22(7):649-57. Epub 2000/09/26.
28. Koch WM, Lango M, Sewell D, Zahurak M, Sidransky D. Head and neck cancer in nonsmokers: a distinct clinical and molecular entity. *Laryngoscope*. 1999;109(10):1544-51. Epub 1999/10/16.
29. Llewellyn CD, Linklater K, Bell J, Johnson NW, Warnakulasuriya KA. Squamous cell carcinoma of the oral cavity in patients aged 45 years and under: a descriptive analysis of 116 cases diagnosed in the South East of England from 1990 to 1997. *Oral Oncol*. 2003;39(2):106-14. Epub 2003/01/03.
30. Jang SJ, Chiba I, Hirai A, Hong WK, Mao L. Multiple oral squamous epithelial lesions: are they genetically related? *Oncogene*. 2001;20(18):2235-42. Epub 2001/06/13.

31. Braakhuis BJ, Tabor MP, Kummer JA, Leemans CR, Brakenhoff RH. A genetic explanation of Slaughter's concept of field cancerization: evidence and clinical implications. *Cancer research*. 2003;63(8):1727-30. Epub 2003/04/19.
32. Jin C, Jin Y, Wennerberg J, Akervall J, Dictor M, Mertens F. Karyotypic heterogeneity and clonal evolution in squamous cell carcinomas of the head and neck. *Cancer genetics and cytogenetics*. 2002;132(2):85-96. Epub 2002/02/19.
33. El-Naggar AK, Hurr K, Huff V, Luna MA, Goepfert H, Batsakis JG. Allelic loss and replication errors at microsatellite loci on chromosome 11p in head and neck squamous carcinoma: association with aggressive biological features. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*. 1996;2(5):903-7. Epub 1996/05/01.
34. Weber A, Wittekind C, Tannapfel A. Genetic and epigenetic alterations of 9p21 gene products in benign and malignant tumors of the head and neck. *Pathology, research and practice*. 2003;199(6):391-7. Epub 2003/08/20.
35. Papadimitrakopoulou VA, Izzo J, Mao L, Keck J, Hamilton D, Shin DM, et al. Cyclin D1 and p16 alterations in advanced premalignant lesions of the upper aerodigestive tract: role in response to chemoprevention and cancer development. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*. 2001;7(10):3127-34. Epub 2001/10/12.
36. Callender T, el-Naggar AK, Lee MS, Frankenthaler R, Luna MA, Batsakis JG. PRAD-1 (CCND1)/cyclin D1 oncogene amplification in primary head and neck squamous cell carcinoma. *Cancer*. 1994;74(1):152-8. Epub 1994/07/01.
37. Gasco M, Crook T. The p53 network in head and neck cancer. *Oral oncology*. 2003;39(3):222-31. Epub 2003/03/06.
38. Arlene F KW, Andrew T. Medical progress: Head and neck cancer. *The New England journal of medicine*. 2001;345.
39. Tandon S, Shahab R, Benton JI, Ghosh SK, Sheard J, Jones TM. Fine-needle aspiration cytology in a regional head and neck cancer center: comparison with a systematic review and meta-analysis. *Head & neck*. 2008;30(9):1246-52. Epub 2008/06/06.
40. Pisharodi LR. False-negative diagnosis in fine-needle aspirations of squamous-cell carcinoma of head and neck. *Diagnostic cytopathology*. 1997;17(1):70-3. Epub 1997/07/01.

41. Righi PD, Kopecky KK, Caldemeyer KS, Ball VA, Weisberger EC, Radpour S. Comparison of ultrasound-fine needle aspiration and computed tomography in patients undergoing elective neck dissection. *Head & neck*. 1997;19(7):604-10. Epub 1997/10/10.
42. Sakata K, Hareyama M, Tamakawa M, Oouchi A, Sido M, Nagakura H, et al. Prognostic factors of nasopharynx tumors investigated by MR imaging and the value of MR imaging in the newly published TNM staging. *International journal of radiation oncology, biology, physics*. 1999;43(2):273-8. Epub 1999/02/25.
43. Dammann F, Horger M, Mueller-Berg M, Schlemmer H, Claussen CD, Hoffman J, et al. Rational diagnosis of squamous cell carcinoma of the head and neck region: comparative evaluation of CT, MRI, and 18FDG PET. *AJR American journal of roentgenology*. 2005;184(4):1326-31. Epub 2005/03/25.
44. McGuirt WF, Greven K, Williams D, 3rd, Keyes JW, Jr., Watson N, Cappellari JO, et al. PET scanning in head and neck oncology: a review. *Head & neck*. 1998;20(3):208-15. Epub 1998/05/07.
45. Forastiere AA, Goepfert H, Maor M, Pajak TF, Weber R, Morrison W, et al. Concurrent chemotherapy and radiotherapy for organ preservation in advanced laryngeal cancer. *The New England journal of medicine*. 2003;349(22):2091-8. Epub 2003/12/03.
46. Pignon JP, le Maitre A, Bourhis J. Meta-Analyses of Chemotherapy in Head and Neck Cancer (MACH-NC): an update. *International journal of radiation oncology, biology, physics*. 2007;69(2 Suppl):S112-4. Epub 2007/10/18.
47. Cooper JS, Pajak TF, Forastiere AA, Jacobs J, Campbell BH, Saxman SB, et al. Postoperative concurrent radiotherapy and chemotherapy for high-risk squamous-cell carcinoma of the head and neck. *The New England journal of medicine*. 2004;350(19):1937-44. Epub 2004/05/07.
48. Bernier J, Dommenege C, Ozsahin M, Matuszewska K, Lefebvre JL, Greiner RH, et al. Postoperative irradiation with or without concomitant chemotherapy for locally advanced head and neck cancer. *The New England journal of medicine*. 2004;350(19):1945-52. Epub 2004/05/07.
49. Bonner JA, Harari PM, Giralt J, Cohen RB, Jones CU, Sur RK, et al. Radiotherapy plus cetuximab for locoregionally advanced head and neck cancer: 5-year survival data from a

phase 3 randomised trial, and relation between cetuximab-induced rash and survival. *The lancet oncology*. 2010;11(1):21-8. Epub 2009/11/10.

50. Kleinerman RA, Tucker MA, Tarone RE, Abramson DH, Seddon JM, Stovall M, et al. Risk of new cancers after radiotherapy in long-term survivors of retinoblastoma: an extended follow-up. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2005;23(10):2272-9. Epub 2005/04/01.

51. Giacinti C, Giordano A. RB and cell cycle progression. *Oncogene*. 2006;25(38):5220-7. Epub 2006/08/29.

52. Bartek J, Bartkova J, Lukas J. The retinoblastoma protein pathway in cell cycle control and cancer. *Experimental cell research*. 1997;237(1):1-6. Epub 1998/01/07.

53. *Cell Cycles: Interphase, Mitosis, Cytokinesis*. St Rosemary Educational Institution. 2013.

54. Blagosklonny MV, Pardee AB. The restriction point of the cell cycle. *Cell Cycle*. 2002;1(2):103-10. Epub 2002/11/14.

55. Kong N, Fotouhi, N., Wovkulich, P.M. Cell cycle inhibitors for the treatment of cancer. *Drugs Fut* 2003;28(9):881.

56. Sherr CJ, Roberts JM. CDK inhibitors: positive and negative regulators of G1-phase progression. *Genes & development*. 1999;13(12):1501-12. Epub 1999/07/01.

57. Lelievre H, Ferrand A, Mozziconacci MJ, Birnbaum D, Delaval B. Myeloproliferative disorders: premalignant, stem cell, G1 diseases? *Leukemia*. 2006;20(9):1475-80. Epub 2006/07/01.

58. Sherr CJ, McCormick F. The RB and p53 pathways in cancer. *Cancer cell*. 2002;2(2):103-12. Epub 2002/09/03.

59. Wu L, Timmers C, Maiti B, Saavedra HI, Sang L, Chong GT, et al. The E2F1-3 transcription factors are essential for cellular proliferation. *Nature*. 2001;414(6862):457-62. Epub 2001/11/24.

60. Sherr CJ. Cancer cell cycles. *Science*. 1996;274(5293):1672-7. Epub 1996/12/06.

61. Mann DJ, Higgins T, Jones NC, Rozengurt E. Differential control of cyclins D1 and D3 and the cdk inhibitor p27Kip1 by diverse signalling pathways in Swiss 3T3 cells. *Oncogene*. 1997;14(15):1759-66. Epub 1997/04/17.

62. Lukas J, Bartkova J, Bartek J. Convergence of mitogenic signalling cascades from diverse classes of receptors at the cyclin D-cyclin-dependent kinase-pRb-controlled G1 checkpoint. *Molecular and cellular biology*. 1996;16(12):6917-25. Epub 1996/12/01.
63. Bartek J, Bartkova J, Lukas J. The retinoblastoma protein pathway and the restriction point. *Current opinion in cell biology*. 1996;8(6):805-14. Epub 1996/12/01.
64. Hannon GJ, Beach D. p15INK4B is a potential effector of TGF-beta-induced cell cycle arrest. *Nature*. 1994;371(6494):257-61. Epub 1994/09/15.
65. L'Allemain G, Lavoie JN, Rivard N, Baldin V, Pouyssegur J. Cyclin D1 expression is a major target of the cAMP-induced inhibition of cell cycle entry in fibroblasts. *Oncogene*. 1997;14(16):1981-90. Epub 1997/04/24.
66. Bignon YJ, Rio P. [The retinoblastoma gene: will therapeutic use of its tumor suppressive properties be possible?]. *Bulletin du cancer*. 1993;80(8):704-12. Epub 1993/08/01. Le gene retinoblastome: pourra-t-on utiliser en therapeutique ses proprietes suppressives de tumeur?
67. Kim YT, Zhao M. Aberrant cell cycle regulation in cervical carcinoma. *Yonsei medical journal*. 2005;46(5):597-613. Epub 2005/11/01.
68. Cobrinik D, Whyte P, Peeper DS, Jacks T, Weinberg RA. Cell cycle-specific association of E2F with the p130 E1A-binding protein. *Genes & development*. 1993;7(12A):2392-404. Epub 1993/12/01.
69. De Falco G, Bellan C, Lazzi S, Claudio P, La Sala D, Cinti C, et al. Interaction between HIV-1 Tat and pRb2/p130: a possible mechanism in the pathogenesis of AIDS-related neoplasms. *Oncogene*. 2003;22(40):6214-9. Epub 2003/09/19.
70. Cinti C, Leoncini L, Nyong'o A, Ferrari F, Lazzi S, Bellan C, et al. Genetic alterations of the retinoblastoma-related gene RB2/p130 identify different pathogenetic mechanisms in and among Burkitt's lymphoma subtypes. *The American journal of pathology*. 2000;156(3):751-60. Epub 2000/03/07.
71. Keyomarsi K, Conte D, Jr., Toyofuku W, Fox MP. Deregulation of cyclin E in breast cancer. *Oncogene*. 1995;11(5):941-50. Epub 1995/09/07.
72. Caputi M, Russo G, Esposito V, Mancini A, Giordano A. Role of cell-cycle regulators in lung cancer. *Journal of cellular physiology*. 2005;205(3):319-27. Epub 2005/06/21.

73. Salgia R, Skarin AT. Molecular abnormalities in lung cancer. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 1998;16(3):1207-17. Epub 1998/03/21.
74. Claudio PP, Howard CM, Fu Y, Cinti C, Califano L, Micheli P, et al. Mutations in the retinoblastoma-related gene RB2/p130 in primary nasopharyngeal carcinoma. *Cancer research*. 2000;60(1):8-12. Epub 2000/01/26.
75. Knudsen ES, Knudsen KE. Tailoring to RB: tumour suppressor status and therapeutic response. *Nature reviews Cancer*. 2008;8(9):714-24. Epub 2009/01/15.
76. Derenzini M, Donati G, Mazzini G, Montanaro L, Vici M, Ceccarelli C, et al. Loss of retinoblastoma tumor suppressor protein makes human breast cancer cells more sensitive to antimetabolite exposure. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*. 2008;14(7):2199-209. Epub 2008/04/03.
77. van den Broek GB, Wreesmann VB, van den Brekel MW, Rasch CR, Balm AJ, Rao PH. Genetic abnormalities associated with chemoradiation resistance of head and neck squamous cell carcinoma. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*. 2007;13(15 Pt 1):4386-91. Epub 2007/08/03.
78. Aebbersold DM, Burri P, Beer KT, Laissue J, Djonov V, Greiner RH, et al. Expression of hypoxia-inducible factor-1alpha: a novel predictive and prognostic parameter in the radiotherapy of oropharyngeal cancer. *Cancer research*. 2001;61(7):2911-6. Epub 2001/04/18.
79. Buffa FM, Bentzen SM, Daley FM, Dische S, Saunders MI, Richman PI, et al. Molecular marker profiles predict locoregional control of head and neck squamous cell carcinoma in a randomized trial of continuous hyperfractionated accelerated radiotherapy. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*. 2004;10(11):3745-54. Epub 2004/06/03.
80. van den Broek GB, Wildeman M, Rasch CR, Armstrong N, Schuurin E, Begg AC, et al. Molecular markers predict outcome in squamous cell carcinoma of the head and neck after concomitant cisplatin-based chemoradiation. *International journal of cancer Journal international du cancer*. 2009;124(11):2643-50. Epub 2009/03/03.
81. JE B. *Immunocytochemistry, A Practical Approach*. Oxford Univ Press. 1993.
82. Polak JM NS. *Introduction to Immunohistochemistry*. Oxon: Information Press. 1997.

83. Shi SR, Liu C, Taylor CR. Standardization of immunohistochemistry for formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections based on the antigen-retrieval technique: from experiments to hypothesis. *The journal of histochemistry and cytochemistry : official journal of the Histochemistry Society.* 2007;55(2):105-9. Epub 2006/09/20.
84. Rattana CH NJ. Immunohistochemistry: An important Tool on Oncology. *Bull Chiang Mai Assoc Med Sci* 2000;33:98-110.
85. Rentrop M, Knapp B, Winter H, Schweizer J. Aminoalkylsilane-treated glass slides as support for in situ hybridization of keratin cDNAs to frozen tissue sections under varying fixation and pretreatment conditions. *The Histochemical journal.* 1986;18(5):271-6. Epub 1986/05/01.
86. Ricardo MJ TR. Humoral Immunity: Antibodies and Immunoglobulins. *Clinical Diagnosis & Management by Laboratory Methods* 18th ed. 1991:809-29.
87. Battifora H, Kopinski M. The influence of protease digestion and duration of fixation on the immunostaining of keratins. A comparison of formalin and ethanol fixation. *The journal of histochemistry and cytochemistry : official journal of the Histochemistry Society.* 1986;34(8):1095-100. Epub 1986/08/01.
88. Cuevas EC, Bateman AC, Wilkins BS, Johnson PA, Williams JH, Lee AH, et al. Microwave antigen retrieval in immunocytochemistry: a study of 80 antibodies. *Journal of clinical pathology.* 1994;47(5):448-52. Epub 1994/05/01.
89. Taylor CR CR. *Immunomicroscopy. A Diagnostic Tool For Surgical Pathologist* 2 ed. 1994.
90. LC DLR. Tissue Microarray Facility. What are tissue microarrays? Yale University School of Medicine
91. Ringstrom E, Peters E, Hasegawa M, Posner M, Liu M, Kelsey KT. Human papillomavirus type 16 and squamous cell carcinoma of the head and neck. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research.* 2002;8(10):3187-92. Epub 2002/10/11.
92. T.Ungtrakul SK, V. Sriuranpong. Prevalence of Human Papillomavirus in Non-Nasopharyngeal Head and Neck Squamous Cell Carcinoma in Patients Aged Not Over 45 Years at King Chulalongkorn Memorial Hospital. Present in TSCO meeting. 2012.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

แบบบันทึกการเก็บข้อมูล (Case record form)

Prevalence of Retinoblastoma Protein in Negative Human Papilloma Virus
in Non-Nasopharyngeal Head and Neck Squamous Cell Carcinomas in

Patients at King Chulalongkorn Memorial Hospital

Patient Code _ _ _

Part A: Demographic characteristics at the first visit

Date of birth (dd/mm/yyyy) _ _ / _ _ / _ _ _ _

Gender Male Female

Performance status (ECOG) 0 1 2 3 4

Body weight _ _ _ . _ Height _ _ _ . _

History of previous associated cancer Yes No

If yes specify: lung esophagus bladder other site of HNSCC
 other _____

Co-morbidities STDs HIV Heart burn/Gastric refluxes other.....
 None

Smoking status Never Former/Current Not available

If Former/Current specify: Cigarette Other.....

..... Pack/day foryrs quit.....d.....m.....yr

Alcohol drinking Yes No

Part B: Diagnosis of HNSCC

Date of first diagnosis HNSCC (1st pathology date) Date (dd/mm/yyyy) _ _ / _ _ / _ _ _ _

Histology of primary site Histology of metastasis site (LN, other)

Primary site:

Oral cavity Lips Buccal mucosa Anterior tongue Floor of the mouth

Hard palate Upper and lower gingiva

Oropharynx Tonsillar area Tongue base Soft palate

Posterior pharyngeal wall

Hypopharynx Pyriform sinuses Posterior surface of the larynx (postcricoid area)

Inferior, posterior, and lateral pharyngeal walls

Larynx Supraglottis Glottis Subglottis

Grade: well diff moderate diff poorly diff undiff not available

Perineural/lymphovascular invasion Yes No

T stage__ N stage__ M stage _

If M1: specify site of metastasis

Bone Lung Liver Brain Bone other.....

AJCC stage ____

Part C: HNSCC treatment

1) Surgery Yes No if no, skip to 2) Radiation

First surgery Date (dd/mm/yyyy) _/_/_/____

-Primary tumor resection

Final surgical Margin Positive Close Negative

Extracapsular invasion Yes No

-Neck dissection Yes No if yes, specify...

Radical Modified Selective

Bilateral Unilateral

2) Radiation Yes No if no, skip to 3) chemotherapy

- Curative radiation Adjuvant radiation
 Adjuvant chemoradiation Concurrent chemoradiation

Radiation technique 2D 3D IMRT

Total dose given ___ cGy/ Gy/ rads

3) Chemotherapy Yes No if no, skip to Part D

Adjuvant chemoradiation First date of treatment (dd/mm/yyyy) _/~/_____

- Cisplatin Carboplatin Other specify.....

Concurrent chemoradiation First date of treatment (dd/mm/yyyy) _/~/_____

- Cisplatin Carboplatin 5FU Paclitaxel Hydroxyurea
 Cetuximab Other specify.....

Induction chemotherapy First date of treatment (dd/mm/yyyy) _/~/_____

- Doxorubicin/cisplatin/5FU
 Other specify.....

Metastasis chemotherapy

Line of systemic chemotherapy 1st 2nd 3rd 4th

- Cisplatin Carboplatin 5FU Doxorubicin Paclitaxel Methotrexate
 Ifosfamide Bleomycin Cetuximab Other, specify.....

First date of treatment (dd/mm/yyyy) _/~/_____

Date of maximum response (dd/mm/yyyy) _/~/_____

Maximum response CR PR SD PD Not available

Date of progression (dd/mm/yyyy) _/~/_____ / No progression

Reason for stopping treatment PD Complete Intolerant; specify

Other.....

Part D: Recurrence/Progressive disease Yes No if no skip to Part E

Fist recurrence Second recurrence Third recurrence

Date of recurrence/progressive disease (dd/mm/yyyy) _/~/_____

Locoregional recurrence Distant metastasis Second primary cancer

1) Surgery Yes No if no, skip to 2) Radiation

Second surgery Date (dd/mm/yyyy) _/~/_____

2) Radiation Yes No if no, skip to 3) Chemotherapy

Curative radiation Adjuvant radiation

Adjuvant chemoradiation Concurrent chemoradiation

Radiation technique 2D 3D IMRT

Total dose given ___ cGy/ Gy/ rads

3) Chemotherapy Yes No if no, skip to Part D

Adjuvant chemoradiation First date of treatment (dd/mm/yyyy) _/~/_____

Cisplatin Carboplatin Other specify.....

Concurrent chemoradiation First date of treatment (dd/mm/yyyy) _/~/_____

Cisplatin Carboplatin 5FU Paclitaxel Hydroxyurea

Cetuximab Other specify.....

Induction chemotherapy First date of treatment (dd/mm/yyyy) _/~/_____

Doxetaxel/cisplatin/5FU

Other specify.....

Metastasis chemotherapy

Line of systemic chemotherapy 1st 2nd 3rd 4th

Cisplatin Carboplatin 5FU Doxetaxel Paclitaxel Methotrexate

Ifosphamide Bleomycin Cetuximab Other, specify.....

First date of treatment (dd/mm/yyyy) _/~/_____

Date of maximum response (dd/mm/yyyy) _/~/_____

Maximum response CR PR SD PD Not available

Date of progression (dd/mm/yyyy) _/~/ / No progression

Reason for stopping treatment PD Complete Intolerant; specify

Other.....

Part E: Last visit

Date of assessed (dd/mm/yyyy) _/~/

Status Death Cause of death 1) from HNSCC

2) Others.....

Alive with disease

Alive without disease

Lost to follow up

Other, specify

Date of completion of this CRF (dd/mm/yyyy) _/~/

Part F: Laboratory testing for pRb status

Primary HNSCC site pRb status Positive Negative

if tissue from Metastasis site pRb status Positive Negative

ภาคผนวก ข

รูปแสดงการติดสีย้อมทางอิมมูโนฮิสโตเคมีสตรี้ของโปรตีนเรตินอบลาสโตมา

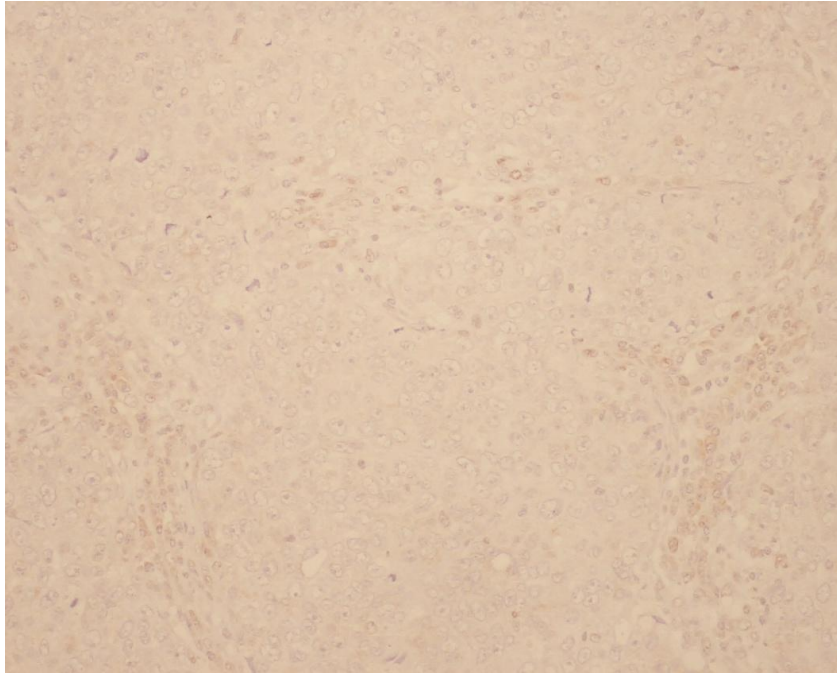
การอ่านผล จะดูจากเซลล์มะเร็งสีระยะและลำคอที่มีการติดสีของโปรตีนเรตินอบลาสโตมาในนิวเคลียส โดยอนุมานว่า การกระจายตัว (Distribution) ของโปรตีนเรตินอบลาสโตมาในนิวเคลียสของเซลล์เท่ากัน และมีตัวควบคุมที่เป็นบวก (Positive control) คือ เซลล์เนื้อเยื่อในช่องปากปกติและเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่

การอ่านผล แบ่งเป็นผลบวกและผลลบ

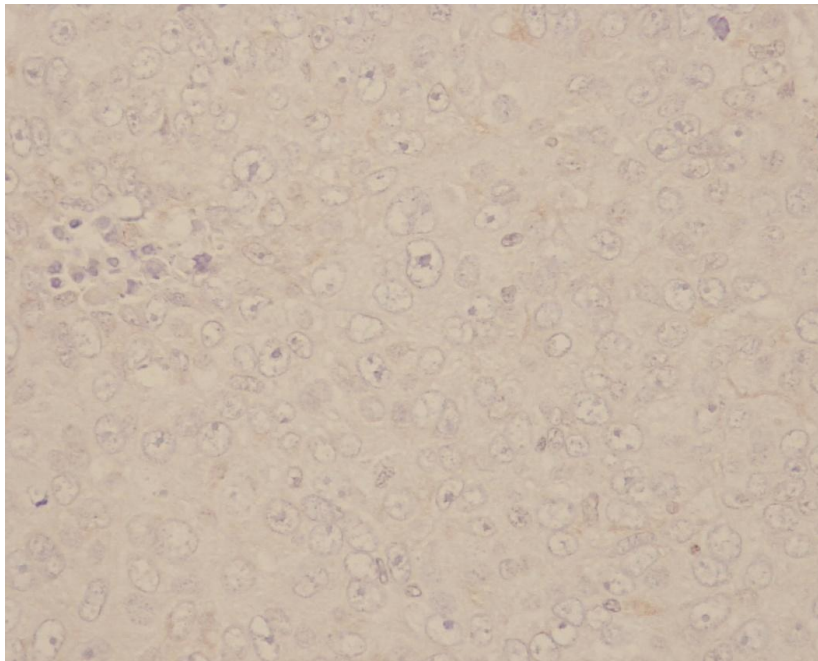
- ถ้าการย้อมสีติดสีที่นิวเคลียสมากกว่าร้อยละ 10 ของเซลล์มะเร็งทั้งหมด ถือว่าเป็นผลบวก
- ถ้าการย้อมสีติดสีที่นิวเคลียสน้อยกว่าร้อยละ 10 ของเซลล์มะเร็งทั้งหมด ถือว่าเป็นผลลบ

การแปลผล

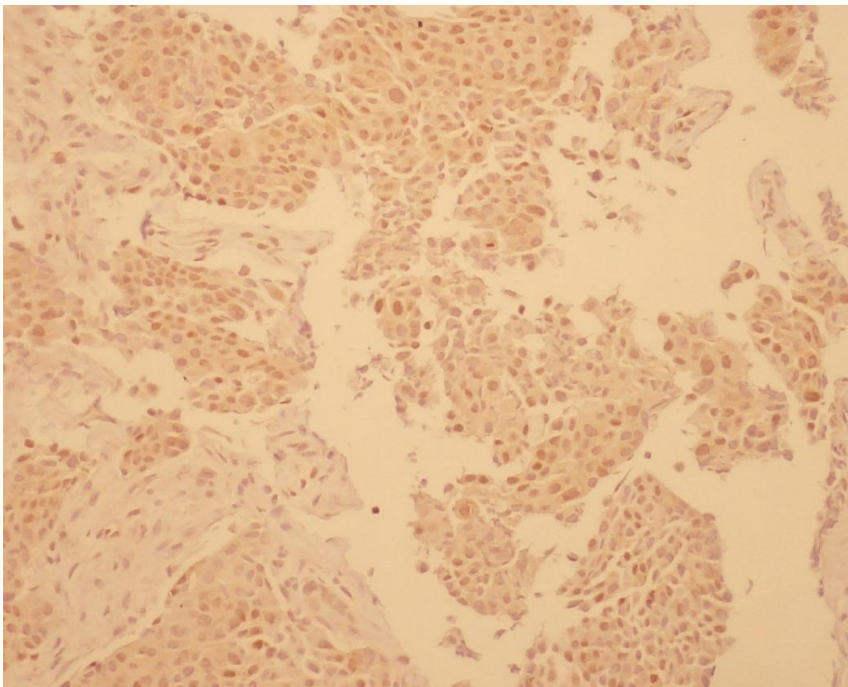
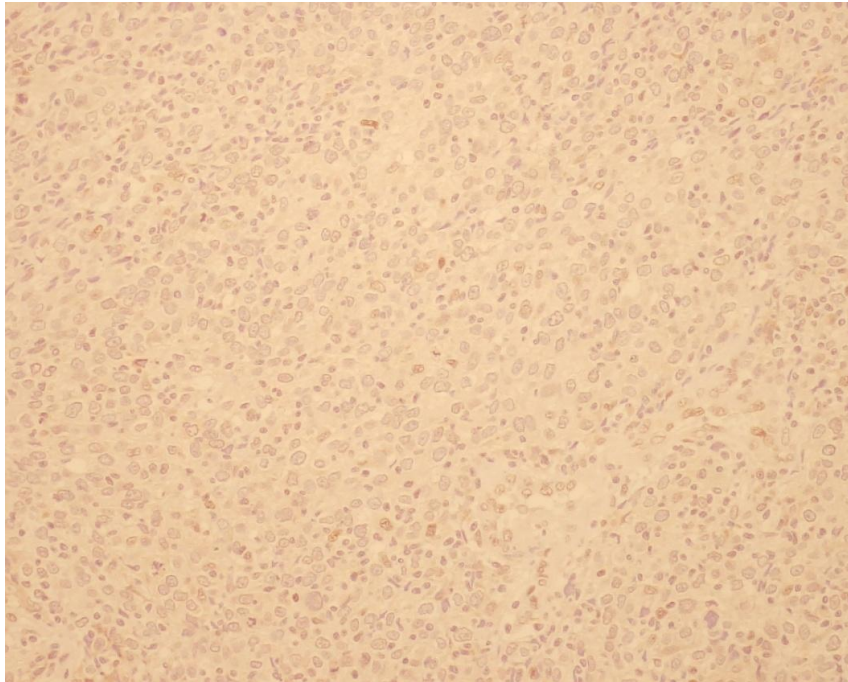
- ผลลบ (pRb-negative) คือ ไม่มีการแสดงออกของโปรตีนเรตินอบลาสโตมา
- ผลบวก (pRb-positive) คือ มีการแสดงออกของโปรตีนเรตินอบลาสโตมา



กำลังขยาย 20 เท่า แสดงการติดสีเป็นลบ

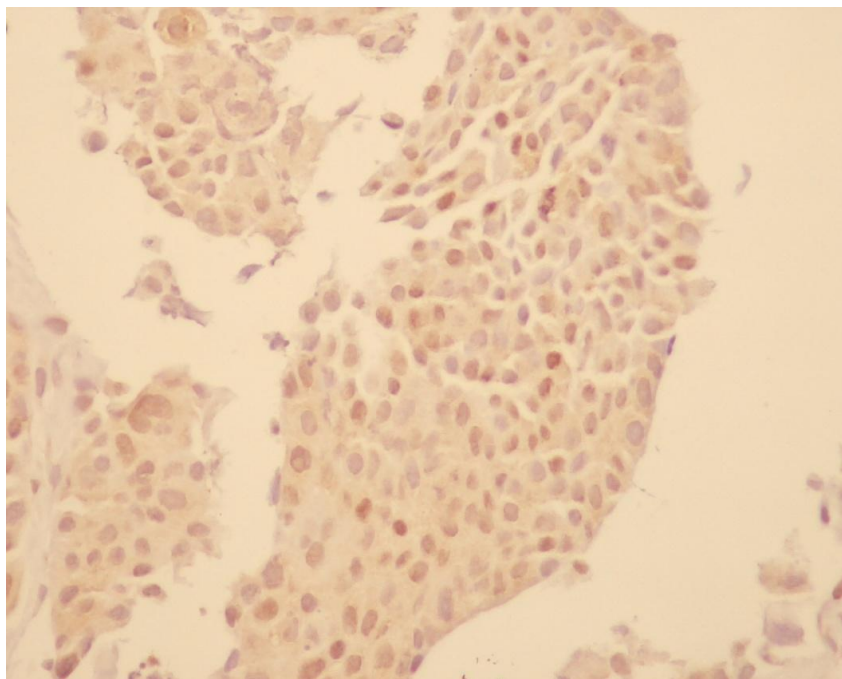
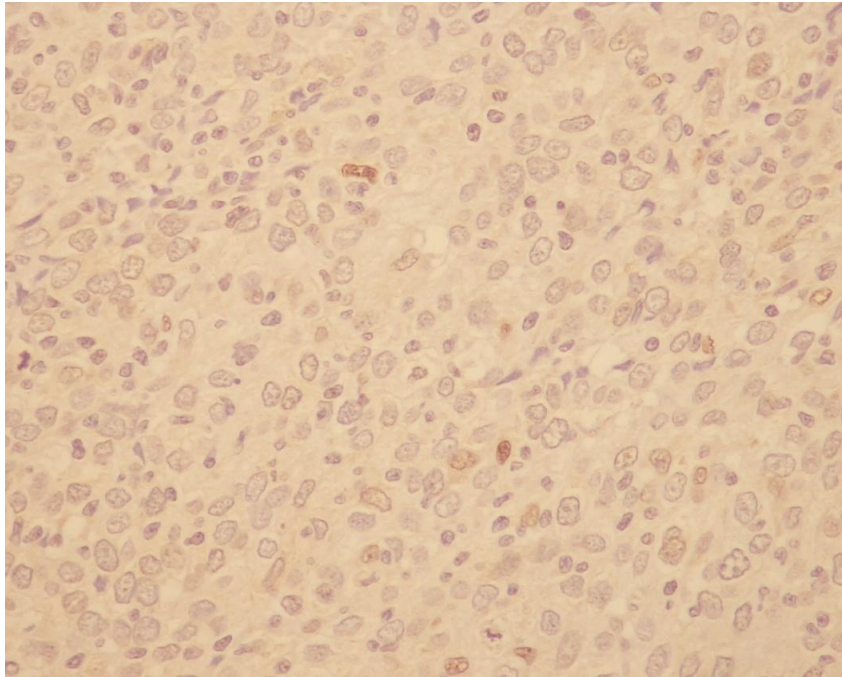


กำลังขยาย 40 เท่า แสดงการติดสีเป็นลบ



กำลังขยาย 20 เท่า แสดงการติดสีเป็นบวก

(พบการติดสีที่นิวเคลียสมากกว่าร้อยละ10)



กำลังขยาย 40 เท่า แสดงการติดสีเป็นบวก

(พบการติดสีที่นิวเคลียสมากกว่าร้อยละ10)

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

ชื่อ นายแพทย์ภานุภักดิ์ ม่วงน้อย

วัน เดือน ปีเกิด 7 กุมภาพันธ์ 2522

สถานที่เกิด จังหวัดสุพรรณบุรี

ประวัติการศึกษาและการทำงาน

2541-2546 นิสิตคณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

2547 แพทย์ฝึกหัด (Internship), โรงพยาบาลศูนย์การแพทย์สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี, นครนายก

2548-49 แพทย์ใช้ทุน, ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์
มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ, นครนายก

2550-2552 แพทย์ประจำบ้านอายุรศาสตร์, โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

2553-2554 อาจารย์, ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์
มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ, นครนายก

2554-ปัจจุบัน แพทย์ประจำบ้านต่อยอด สาขาวิชามะเร็งวิทยา

ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปริญญาและประกาศนียบัตร

- 2546 แพทยศาสตรบัณฑิต (เกียรตินิยมอันดับสอง) มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
- 2555 ป.บัณฑิต สาขาอายุรศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
- 2552 วุฒิบัตรแสดงความรู้ความชำนาญในการประกอบวิชาชีพเวชกรรม
สาขาอายุรศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย