# บทที่ 2
# ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

## I ขบวนการเกิดโรคมะเร็ง

ขบวนการเกิดโรคมะเร็งเป็นขบวนการที่มีหลายขั้นตอน (multistep tumorigenesis) โดยมีการเปลี่ยนแปลงจากระยะก่อนมะเร็ง (premalignant) จนถึงการเปลี่ยนแปลงเป็นมะเร็ง (malignant conversion) ระยะเวลาที่ใช้ในการสะสมความผิดปกติในระดับเซลล์นี้กินเวลานานเป็นปีหรือหลายปี บางครั้งหากมีการกระตุ้นของสารบางชนิดอาจจะให้ระยะเวลาสั้นลงได้

multistage carcinogenesis [47,48,49] ประกอบไปด้วยขั้นตอนที่สำคัญ 4 ขั้นตอนได้แก่

1.Tumor initiation เป็นขั้นตอนที่สารก่อมะเร็งไปก่อให้เกิดความผิดปกติแบบถาวรต่อโครงสร้างของ DNA สารเคมีที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในขั้นตอนนี้เรียกว่า initiators

2.Tumor promotion เป็นขั้นตอนที่ประกอบด้วยขบวนการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนและเจริญเติบโตของเซลล์ที่มีความผิดปกติในขั้นตอนแรก และทุกครั้งที่มีการแบ่งตัวความผิดปกติก็จะเพิ่มมากขึ้นเรื่อย ๆ สารเคมีที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในขั้นตอนนี้เรียกว่า promotors ซึ่งไม่มีคุณสมบัติเป็นสารก่อมะเร็งแต่จะไปเร่งขบวนการเกิดมะเร็งให้เร็วขึ้น

3. Malignant conversion เป็นขั้นตอนที่เกิดการเปลี่ยนแปลงของรูปร่างของเซลล์จากระยะก่อนเซลล์มะเร็งให้เป็นลักษณะของเซลล์มะเร็ง จะเกิดการเปลี่ยนแปลงและมีความผิดปกติของยีนในร่างกายเพิ่มเติมโดยการกระตุ้นของสารที่เป็น promotors ทั้งการกระตุ้นยีนก่อมะเร็งและยับยั้งยีนต้านมะเร็ง

4.Tumor progression มีการเปลี่ยนแปลงเป็นเซลล์มะเร็งและแสดงคุณลักษณะต่าง ๆ ของเซลล์มะเร็ง อันได้แก่ความสามารถในการลุกลามอวัยวะข้างเคียงโดยการสร้างและหลั่งสารที่สามารถย่อยสลายโปรตีนได้

มะเร็งเป็นโรคที่เกิดจากความผิดปกติในระดับยีน ความผิดปกตินี้อาจจะเกิดตั้งแต่ระดับเซลล์สืบพันธุ์ (germ line mutation) หรือมาเกิดความผิดปกติภายหลังในระดับเซลล์ร่างกายธรรมดา (somatic cell mutation) ความผิดปกติที่เกิดขึ้นนี้จะทำให้ยีนที่ผิดปกติทำหน้าที่มากขึ้นหรือน้อยลงขึ้นอยู่กับชนิดของยีน ยีนที่ควบคุมการเกิดโรค แบ่งออกได้เป็นสองกลุ่มใหญ่ ๆ ตาม

หน้าที่ ได้แก่ ยีนก่อมะเร็ง (oncogenes) และยีนต้านมะเร็ง (tumor suppressor genes) ทำให้การควบคุมวัฏจักรของเซลล์ (cell cycle) และการแบ่งตัว (proliferation) ผิดปกติไปก่อให้เซลล์เกิดการสะสมยีนผิดปกติตามมาและเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ และกลายเป็นเซลล์มะเร็งในที่สุด

II **ยีนต้านมะเร็ง** (tumor suppressor genes)

ยีนต้านมะเร็งในภาวะปกติจะทำหน้าที่คอยยับยั้งการเจริญเติบโตและการแบ่งตัวของเซลล์ ยีนต้านมะเร็งมีคุณสมบัติเป็นยีนด้อย (recessive genes) จะต้องเสียหน้าที่ไปทั้งสองอัลลีนจึงจะพบความผิดปกติซึ่งจะแตกต่างจากยีนก่อมะเร็งที่เป็นยีนเด่นการเสียหน้าที่ของยีนก่อมะเร็งเพียงอัลลีนเดียวก็สามาถทำให้เกิดความผิดปกติได้

กลไกที่ทำให้ยีนต้านมะเร็งสูญเสียหน้าที่

1.ความผิดปกติครั้งแรก (first inactivating event) มักจะเป็นความผิดปกติเพียงเล็กน้อยซึ่งจะเกิดอย่างจำเพาะตรงบริเวณตำแน่งของยีนนั้นหรือตรงตำแหน่งของ DNA ที่อยู่ข้างเคียงนั้นซึ่งกลไกอาจเกิดจากความผิดปกติระดับโมเลกุลได้หลายชนิด เช่น point mutation, gene deletions และ gene rearrangements

2.ความผิดปกติครั้งที่สอง (second inactivating event) ของยีนต้านมะเร็งมักจะเป็นความผิดปกติที่มีขนาดใหญ่ (large mutation) มีจำนวนน้อยมากที่ความผิดปกติของอัลลีนที่สองจะเป็นลักษณะที่เหมือนกับความผิดปกติครั้งแรกที่จะเกี่ยวข้องเฉพาะยีนนั้น ในทางตรงข้ามมักจะเกี่ยวข้องกับการขาดหายไปของชิ้นส่วนของโครโมโซมหรือแม้กระทั่งโครโมโซมทั้งสองข้างซึ่งเป็นที่อยู่ของอัลลีนที่สองของยีนต้านมะเร็ง

กลไกที่ทำให้เกิดการสูญเสียหน้าที่ครั้งที่สองอาจเกิดได้จากกลไกทั้งหมด 6 ประการคือ [50, 51, 52]

1. Non-disjunction and chromosome loss คือมีการขาดหายไปของโครโมโซมที่บรรจุอัลลีลที่ทำหน้าที่ทั้งอัน
2. Non-disjunction and reduplication คือมีการขาดหายไปของโครโมโซมที่บรรจุอัลลีลที่ทำหน้าที่ทั้งสองข้างและโครโมโซมอีกข้าที่ไม่มีอัลลีลที่ทำหน้าที่มีการแบ่งตัวเพิ่มขึ้นมาแทน
3. Mitotic recombination คือมีการขาดหายไปของชิ้นส่วนของโครโมโซมที่มียีนต้านมะเร็งทำหน้าที่บรรจุอยู่และมีชิ้นส่วนของโครโมโซมอีกข้างที่ไม่มีอัลลีลที่ทำหน้าที่เข้ามาแทนที่

4. Gene conversion
5. Chromosomal deletion คือมีการขาดหายไปเฉพาะส่วนของโครโมโซมที่บรรจุอัลลีลที่ทำหน้าที่
6. Point mutation ไม่ได้มีการขาดหายไปของชิ้นส่วนของโครโมโซมเลย แต่ตรงตำแหน่งของยีนต้านมะเร็งมีการผ่าเหล่าเฉพาะจุดเกิดขึ้นทำให้ยีนต้านมะเร็งไม่ทำงาน

III **โครงสร้างและหน้าที่ของยีน *p53*** [53]

p53 ถูกค้นพบมาเกือบ 20 ปี โดยพบจากความสามารถในการจับ simian virus 40 (SV 40) กับ adenovirus oncoprotein ปัจจุบันเราทราบว่า โปรตีน p53 เป็นโปรตีนที่มีหน้าที่หลายอย่าง และเกี่ยวข้องกับกระบวนทางชีววิทยาหลายอย่าง เช่น การหยุดการเติบโต (growth arrest) การตาย (apoptosis) การวิวัฒนาการ (differentiation) และการแก่ของเซลล์ (senescence) แม้ว่าหน้าที่ของโปรตีน p53 ในการเจริญเติบโตปกติจะยังไม่ชัดเจน แต่เชื่อว่าหน้าที่หลักคือ ควบคุมการแบ่งตัวของเซลล์ ผ่านการกระตุ้นการหยุดยั้งการเจริญเติบโต (growth arrest) หรือการตายของ (apoptosis) ในการตอบสนองต่อสิ่งที่มากระตุ้น เช่น การทำลาย DNA และภาวะอ็อกซิเจนต่ำ (hypoxia) โปรตีน p53 ยังเป็น transcription factor ซึ่งกระตุ้นการแสดงออกของยีนจำนวนมาก การกระตุ้น cyclin-dependent kinase inhibitor 21 $^{waf1/cip1}$ ซึ่งเป็นหนึ่งในผลหลักที่มีต่อการหยุดการเติบโต แม้ว่ายีนเป้าหมายอื่นของ โปรตีน p53 จะมีผลยับยั้งการเจริญเติบโตได้เช่นกัน ความสามารถของโปรตีน p53 ในการทำหน้าที่เป็น transcription factor จะมีส่วนสำคัญในการกระตุ้นการตายของเซลล์ ในหลาย ๆ ราย แม้ว่าจะมีหลักฐานบางอย่างว่าทั้ง transcriptional repression และ transcriptionally independent activities ของโปรตีน p53 ที่จะสามารถทำให้เกิดการตายของเซลล์ (apoptosis)

*ยีน p53* ประกอบด้วย deoxyribonucleic acid (DNA) ยาวประมาณ 16-20 kb อยู่บนแขนข้างสั้นของโครโมโซมที่ 17 ตำแหน่งที่ 17p13.1 (รูปที่ 1) แบ่งเป็น 11 exons (รูปที่ 2) ยีน *p53* ทำหน้าที่ผลิตโปรตีน p53 ซึ่งเป็น nuclear phosphoprotein ประกอบด้วยกรดอะมิโน 393 ตัว มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 53 kd *ยีน p53* ที่ปกติเรียกว่า wild-type p53 (wt-p53) ทำหน้าที่สร้างโปรตีน p53 ที่ปกติ ซึ่งมีอายุสั้น (half life 5-20 นาที) เมื่อเปรียบเทียบกับโปรตีน p53 ที่ผิดปกติที่มีอายุยาวกว่ามาก (half life 4-20 ชั่วโมง) โปรตีน p53 ประกอบด้วย domain ที่สำคัญ 5 domain (รูปที่ 3) [54] domain ที่ II ถึง V สร้างจาก exon ที่ 5 ถึง 8 ความผิดปกติที่สำคัญและพบบ่อยที่สุดที่ทำให้การสร้างโปรตีน p53 เกิดผิดปกติ และเป็นสาเหตุของการเกิดโรคมะเร็งคือ mutation และกว่าร้อยละเก้าสิบของ mutation เกิดบน exon ที่ 5 ถึง 8 และทำให้เกิดความผิดปกติต่อโปรตีน

p53 ที่ตำแหน่งระหว่าง codon ที่ 120 ถึง 290 โดยประมาณครึ่งหนึ่ง พบบน codon ที่ 175, 248, 249, 273, และ 282 (รูปที่ 4) บริเวณนี้จึงถูกเรียกว่า hot spot [55,56] นอกจากนี้ยังมีกลไกอื่น ๆที่ทำให้โปรตีน p53 เสียหน้าที่ไป เช่น ถูกจับโดยโปรตีนที่สร้างจากเชื้อไวรัสที่ก่อมะเร็ง (viral oncoprotein) เช่น SV 40 large T antigen, adenovirus E1B protein, papillomavirus E6 protein, HbxAg ของ hepatitis virus (HBV), EBNA-5 และ BZLF 1 ของ Epstein Barr virus (EBV) เกิดเป็นสารประกอบชนิดใหม่ที่ไม่สามารถทำงานได้ตามปกติ หรือถูกทำลายเร็วขึ้นด้วย E6 protein, การจับกับโปรตีน mdm 2 ซึ่งเป็นโปรตีนที่พบว่าสูงกว่าปกติในโรคมะเร็ง ชนิดเนื้อเยื่ออ่อน (soft tissue sarcoma) ทำให้โปรตีน p53 ไม่สามารถทำหน้าที่ได้ตามปกติ นอกจากนี้ในโรคมะเร็งเต้านมโปรตีน p53 ไม่สามารถถูกเคลื่อนย้ายจาก cytoplasm เข้าสู่ nucleus ทำให้โปรตีน p53 ไม่สามารถทำการควบคุมวัฏจักรของเซลล์ให้ดำเนินต่อไปอย่างเป็นปกติ [57]

โปรตีน p53 มีหน้าที่หลายประการ (ตารางที่ 2) เพื่อควบคุมให้เซลล์ดำรงอยู่อย่างเป็นปกติ หน้าที่ที่สำคัญของโปรตีน p53 คือ ทำหน้าที่เป็นผู้ตรวจสอบความผิดปกติที่อาจจะเกิดขึ้นในระยะ G1 (G1 checkpoint) โดยเซลล์ที่เป็นปกติจะผ่านขั้นตอนต่าง ๆ ของวัฏจักรของเซลล์ไปจนแบ่งตัว โดยได้รับการตรวจหาความผิดปกติ หรืออันตรายที่อาจจะเกิดขึ้นกับเซลล์เนื่องจากถูกรังสีอัลตราไวโอเลต (UV light), สารกัมมันตรังสี, สารเคมีหรือยาเคมีบำบัด เป็นต้น โปรตีน p53 ที่ปกติจะหยุดวัฏจักรของเซลล์ไว้ที่ G1 ระยะหนึ่งเพื่อให้เซลล์ได้มีโอกาสแก้ไขความผิดปกติที่เกิดขึ้นก่อนที่เซลล์จะผ่านขั้นตอนต่าง ๆ ของวัฏจักรเซลล์ไปสู่การแบ่งตัว หรือหากไม่สามารถแก้ไขความผิดปกติได้ก็กระตุ้นให้เซลล์เข้าสู่โปรแกรมการตายที่เรียกว่า programmed cell death หรือ apoptosis เพื่อให้เซลล์ที่ปกติดำรงอยู่ต่อไป (รูปที่ 6) ฉะนั้นความผิดปกติที่เกิดขึ้นกับยีน p53 หรือโปรตีน p53 ก็ตามและทำให้หน้าที่ของโปรตีน p53 ผิดปกติไปหรือไม่ทำงาน ความผิดปกติในระดับยีนอื่น ๆ จะสะสมและทวีเพิ่มขึ้นเซลล์ที่ผิดปกติเหล่านี้จะแบ่งตัว และเพิ่มจำนวนมากขึ้นและมีการเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์มะเร็งในที่สุด [55,57,58,59]

ตารางที่ 2 แสดงหน้าที่ทางด้าน Biochemical และ biology ของโปรตีน p53

| | |
|---|---|
| Biochemical functions | Binds DNA in a sequence-specific manner<br>Activate transcription from promoters with p53 DNA-binding sites<br>Represses transcription from a variety of promoters without p53 DNA-binding sites<br>Stimulates annealing of single-stranded DNA<br>Inhibits helicase activity<br>Inhibits DNA replication |
| Biologic functions | Induces G1 growth arrest<br>Inhibits tumor-cell growth<br>Preserves genetic stability |

**กลไกที่ p53 ทำหน้าที่ตรวจสอบควบคุมการหยุดวัฏจักรของเซลล์ไว้ที่** G1

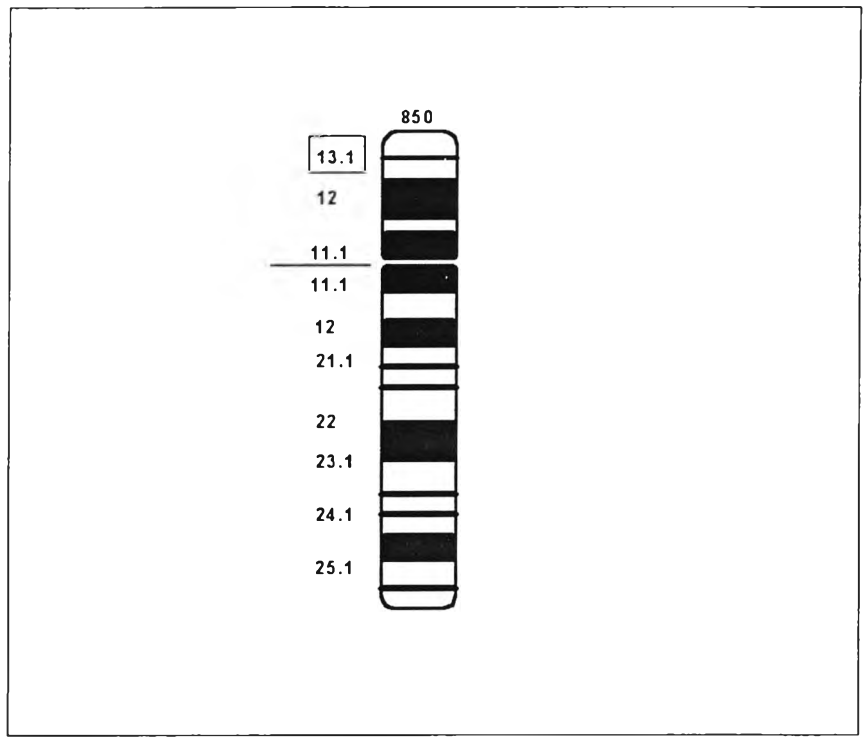
เชื่อว่าโปรตีน p53 ทำหน้าที่ควบคุมให้เกิดการหยุดของวัฏจักรของเซลล์ไว้ที่ G1 โดยการควบคุมยีน p21 WAF1/CIP1 ให้ผลิตโปรตีน p21 (21 kd) ซึ่งทำหน้าที่กดการทำงานของสารประกอบ cyclin-dependent kinase complex (cdk inhibitor) ซึ่งกดการทำงานของสารประกอบ cyclin-dependent kinase นี้ทำให้โปรตีน pRb (Retinoblastoma gene product) ไม่ถูก phosphorylation โปรตีน pRb ที่ไม่ถูก phosphorylation นี้จะจับกับ E2F เกิดเป็นสารประกอบ E2F-pRb และไปหยุดการสร้างโปรตีนอื่น ๆ ที่จำเป็นสำหรับเซลล์ที่จะเข้าสู่ระยะ S ในวัฏจักรของเซลล์ ฉะนั้นเซลล์จึงถูกหยุดไว้ที่ระยะ G1 บางคนก็เรียกว่า G1-S เพราะเป็นระยะต่อ ที่จะเข้าสู่ระยะ S นั่นเอง (รูปที่ 6) [57]

ในขณะเดียวกันพบว่าเมื่อเซลล์ได้รับอันตราย ยีน *p53* จะถูกกระตุ้นให้ทำงาน และสร้างโปรตีน p53 ขึ้นนั้นก็มีการกระตุ้นยีน *GADD 45* (Growth Arrest and DNA Damage 45) โปรตีน GADD 45 ที่ถูกสร้างมากเกินปกตินี้จะกดการเจริญของเซลล์ (proliferation) แต่กลไกยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด [57] นอกจากนี้โปรตีน p53 ยังกระตุ้นการสร้างโปรตีน mdm2 ซึ่งโปรตีน mdm2 ที่สูงกว่าปกติ นี้จะย้อนกลับมาจับกับโปรตีน p53 ทำให้โปรตีน p53 ไม่สามารถทำหน้าที่ตามปกติต่อ

ไปได้ เชื่อว่าโปรตีน mdm2 นี้ อาจทำหน้าที่เป็นผู้ควบคุมโปรตีน p53 อีกทีหนึ่ง (negative feedback control) เชื่อว่าเมื่อยีนที่ผิดปกติได้รับการซ่อมแซมแก้ไขในขณะที่เซลล์ถูกหยุดไว้ที่ระยะ G1 เสร็จลงแล้ว โปรตีน mdm2 ที่สูงขึ้นก็จะหยุดการทำงานของโปรตีน p53 ทำให้เซลล์ดำเนินไปตามวัฏจักรของมันต่อไปนั่นเอง

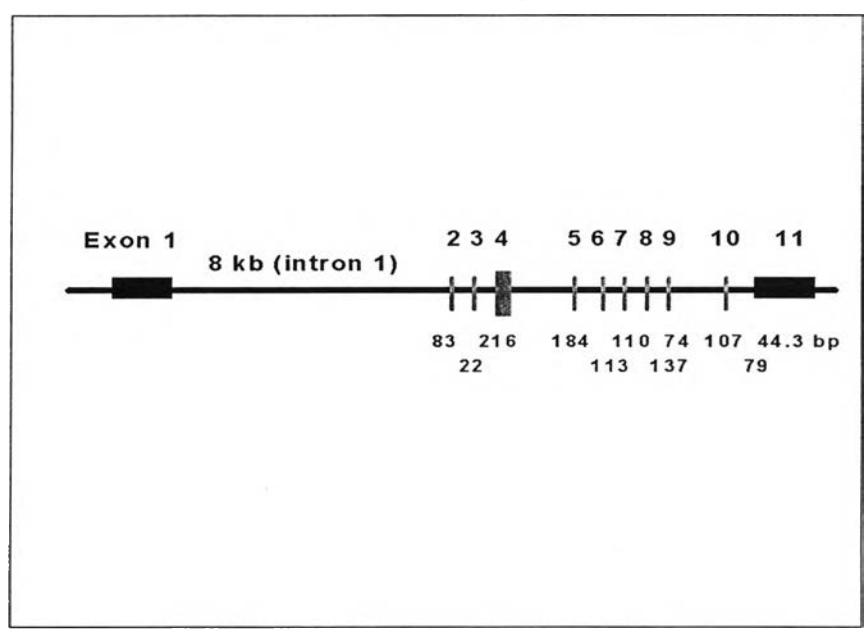
**โปรตีน p53 และการตายของเซลล์** (apoptosis)

กลไกที่โปรตีน p53 ควบคุมการตายของเซลล์ นี้ยังไม่เป็นที่ทราบกันแน่ชัด เชื่อว่า phosphorylation เป็นกลไกสำคัญ โดยกระตุ้นสารประกอบ cyclin B-cdc 2, cdc 2 เป็น serine/threonine cyclin dependent kinase ซึ่งมีหน้าที่ควบคุมวัฏจักรของเซลล์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในระยะ G2 สู่ระยะ M การกระต้น cdc 2 ทำให้เซลล์ถูกหยุดไว้ที่ระยะ G2/M และทำให้เซลล์เกิดการตายของเซลล์ไปในที่สุด [60] cdc 2 นี้ยังกระตุ้นให้เกิดการตายของเซลล์ โดยควบคุม T cell cytotoxic peptide fragmentin-2 [61] ด้วย นอกจากนี้โปรตีน p53 ยังควบคุมยีน BAX และ bcl-2 เชื่อว่าโปรตีน p53 เปลี่ยนแปลงอัตราส่วนระหว่างโปรตีน BAX และ bcl-2 โดยเพิ่ม BAX ให้สูงขึ้นทำให้เซลล์เข้าสู่การตายของเซลล์ [62]



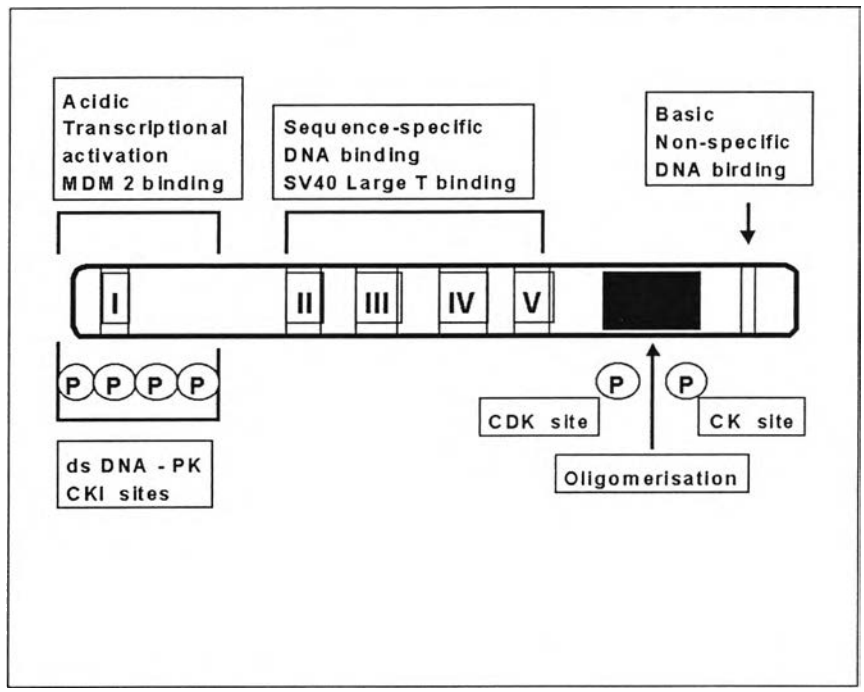

รูปที่ 1 แสดงยีน p53 บนแขนสั้นของโครโมโซมคู่ที่ 17

(ดัดแปลงมาจาก Hesketh R. The Oncogene Handbook. 1994)



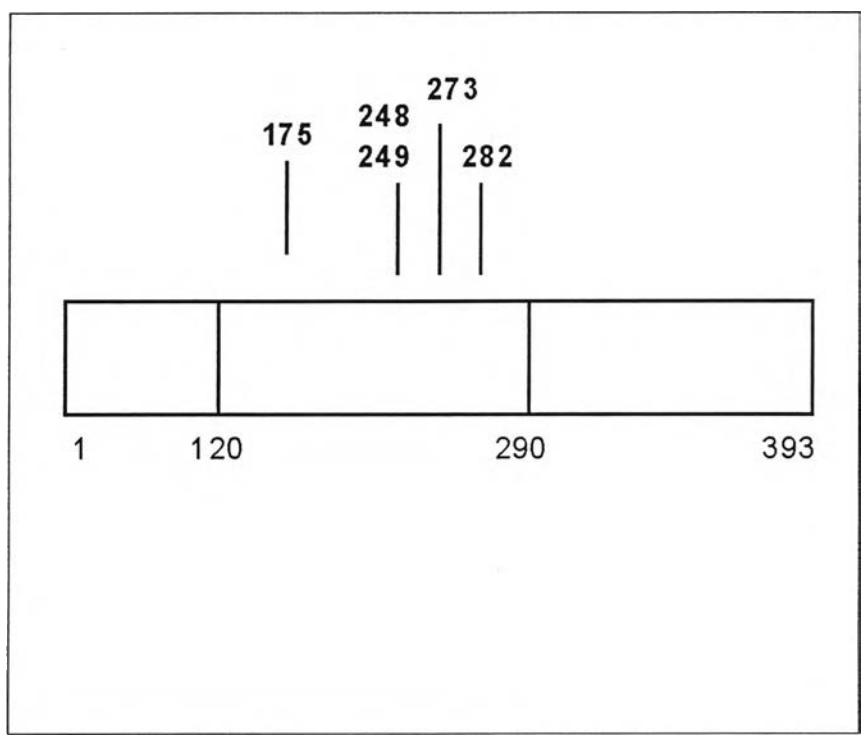

รูปที่ 2 แสดงยีน *p53* แบ่งเป็น 11 exon

(ดัดแปลงมาจาก Hesketh R. The Oncogene Handbook. 1994)

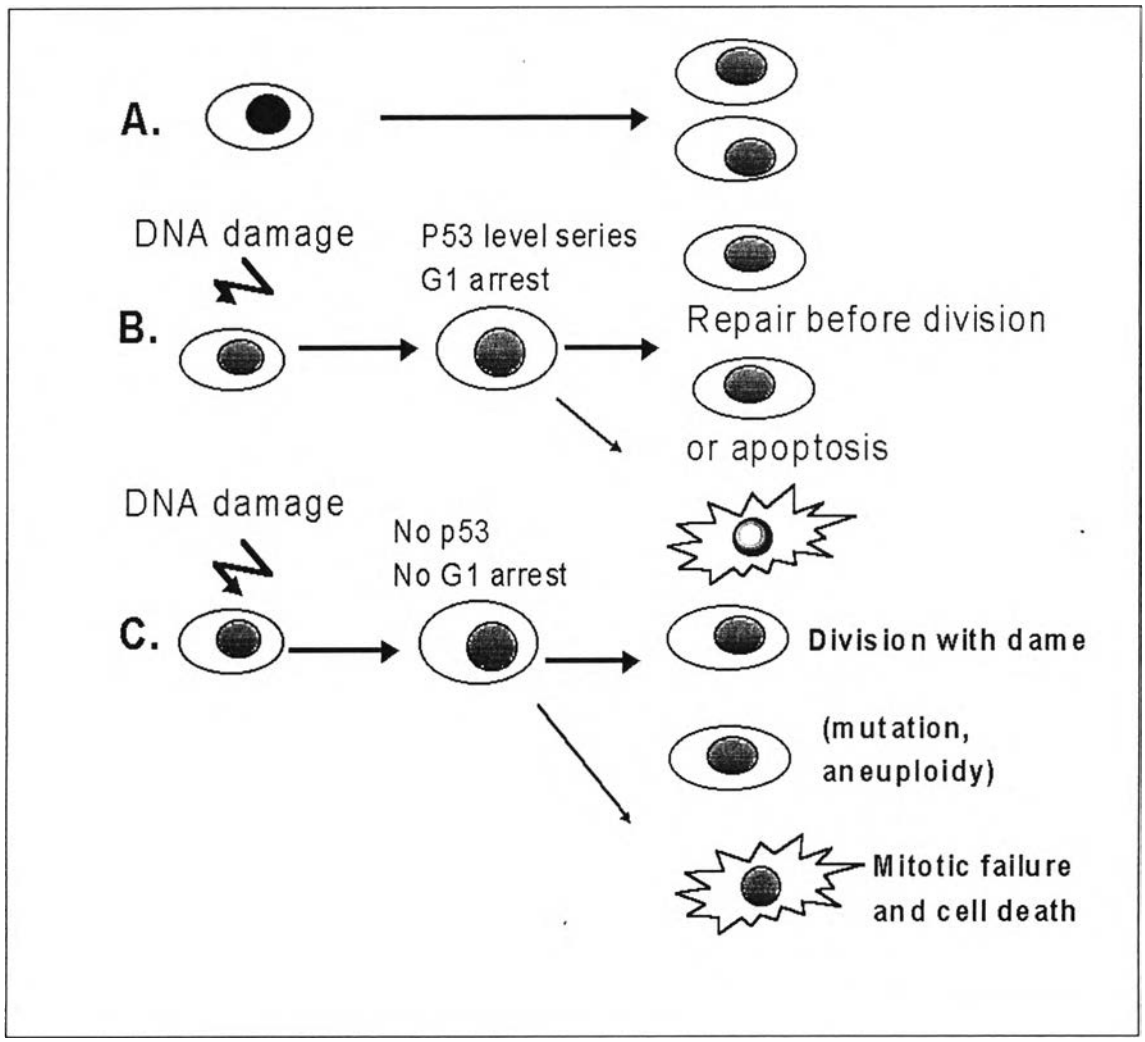



รูปที่ 3 p53 ประกอบด้วย domain ที่สำคัญ 5 domain

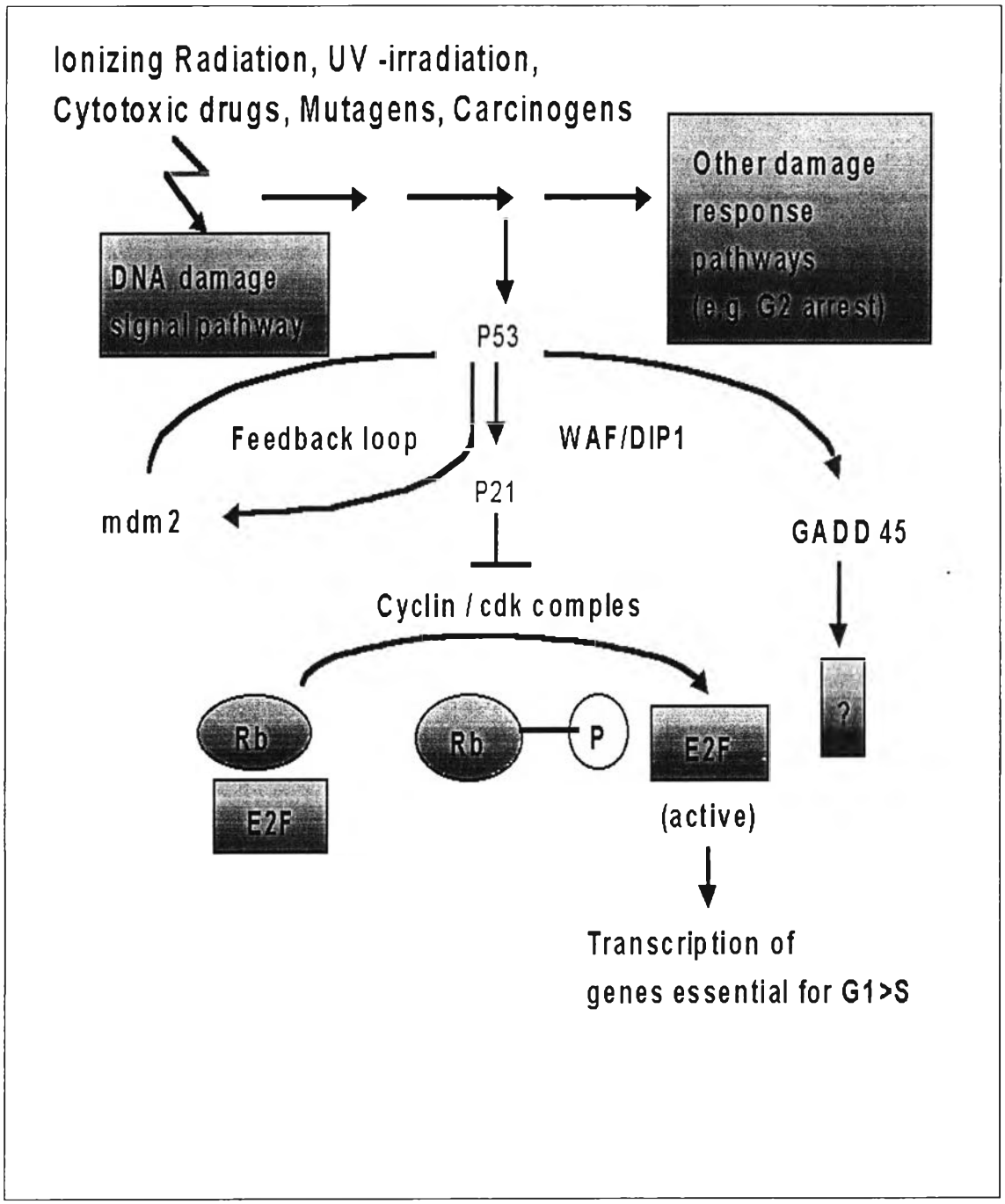
(ดัดแปลงมาจาก Lane DP: Bri Med Bull 1994; 50(3): 582-99)




รูปที่ 4 แสดงตำแหน่งที่กลายพันธุ์ของยีน *p53*




รูปที่ 5 แสดงหน้าที่ของ p53 A) การแบ่งตัวของเซลล์ปกติ ซึ่งไม่ต้องการบทบาทของ p53 B) การตอบสนองต่อเซลล์ที่ DNA ถูกทำลาย จะมีหน้าที่ของ p53 ในการกระตุ้นให้มีการตรวจสอบที่ระยะ G1 เพื่อซ่อมแซม DNA ที่ถูกทำลาย C) เซลล์ที่ขาดหน้าที่ของ p53 ไปทำให้มีการขยายของ DNA ที่ถูกทำลายเป็นผลให้เกิดการกลายพันธุ์ aneuploidy mitotic failure และการตายของเซลล์ (ดัดแปลงมาจาก Lane DP: Nature 1992: 358: 15-6)




รูปที่ 6 แสดง DNA damage เริ่มการนำสัญญาณเป็นผลจากการกระตุ้นของโปรตีน p53 (ดัดแปลงมาจาก Wu X และคณะ : Genes Dev 1993; 7(7A): 1126-32)

## IV โปรตีน p53 กับมะเร็งตับ

ในปี ค.ศ.1989 Eliyahu D และคณะได้พบว่าโปรตีน p53 เป็นโปรตีนที่ออกฤทธิ์ต้านมะเร็ง และสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง [63]

ในปี ค.ศ.1990 Baker และคณะ ได้พบความสัมพันธ์ทางคลีนิคของยีนต้านมะเร็ง p53 และพบว่ามะเร็งส่วนใหญ่มีการยับยั้งยีน p53 หรือมีการขาดหายไป [64]

ในปี ค.ศ.1993 Culotta E และคณะได้รายงานเรื่องโปรตีน p53 ว่าเป็นสารอณูชีววิทยาแห่งปี ค.ศ.1993 [65]

ในปี ค.ศ.1994 Greenblatt และคณะ ได้รวบรวมการศึกษา 84 รายงาน พบว่า immunohistochemistry และ DNA sequencing พบว่ามีความไว (sensitivity) ต่อการพบ mutation โดยวิธี immunohistochemistry ร้อยละ 75 และค่าทำนายผลบวก (positive predictive value) ร้อยละ 63[66]

ในปี ค.ศ.1995 Raedle J และคณะพบว่าการมี anti-p53 ในน้ำเลือดจะจำเพาะเจาะจงต่อมะเร็ง และไม่ขึ้นกับระดับของ alpha-fetoprotein. [24]

ในปี ค.ศ.1995 Mukhopadhyay D และคณะพบว่า wild-type p53 ซึ่งควบคุมการงอกของหลอดเลือดใหม่จะ down-regulated endogenous vascular endothelial growth factor (VEGF) ในขณะที่ไม่พบใน mutant type p53 [16]

ในปี ค.ศ. 1996 Arora AS และคณะพบว่าเซลล์มะเร็งตับจะลดความไวต่อ hypoxia เมื่อเทียบกับเซลล์ตับปกติ เชื่อว่าควบคุมผ่านโปรตีน p53 [67, 68]

ในปี ค.ศ.1996 Okuda T และคณะพบว่า HCC ชนิด poorly differentiated จะพบโปรตีน p53 มากกว่า well deffentiated. [22]

ในปี ค.ศ.1997 Qin G และคณะได้รายงานการแสดงออกของโปรตีน p53 โดยวิธี immunohistochemistry ในผู้ป่วยมะเร็งตับ HCC พบว่าให้ผลบวกร้อยละ 43.3 มีความสัมพันธ์กับขนาดของเนื้องอก โดยพบว่าขนาดน้อยกว่า 5 เซนติเมตร 5-10 เซนติเมตร และ มากกว่า 10 เซนติเมตร พบว่ามีโปรตีน p53 ร้อยละ 25, 36.8 และ 71.4 ตามลำดับ [18]

ในปี ค.ศ.1997 Fontanini G และคณะได้ทำการศึกษาว่ามีการเกิดการสร้างหลอดเลือดใหม่ (angiogenesis) ถูกยับยั้งโดยโปรตีน p53 ชนิดปกติ (wild type) ในผู้ป่วยมะเร็งปอดโดยการควบคุมผ่าน VEGF [27]

## V การรักษามะเร็งตับด้วยวิธีทีโอซีอี

การรักษาผู้ป่วยมะเร็งตับด้วยวิธีทีโอซีอีเป็นวิธีการรักษาผู้ป่วยมะเร็งตับที่ไม่สามารถรับการผ่าตัดได้ โดยการอุดตันของเส้นเลือดแดง hepatic ที่ไปเลี้ยงก้อนเนื้องอกทำให้เกิดมีการตายของเนื้องอก เพราะเนื้องอกเกือบร้อยเปอร์เซ็นต์จะได้รับเลือดผ่านทางเส้นเลือดแดง hepatic การทำ embolization จึงมีผลอย่างมากต่อก้อนมะเร็ง จึงทำให้การทำ embolization สามารถมีผลอย่างมากต่อก้อนมะเร็ง การใช้วิธี chemoembolization ร่วมกับการใช้สาร lipiodal (สาร oily contrast medium ซึ่งจะคงอยู่จำเพาะภายในก้อนมะเร็งตับชนิด HCC) ซึ่งเป็นวิธีที่ยอมรับและใช้กันอยู่ทั่วไป การรักษามะเร็งตับด้วยวิธี TOCE ผลต่ออัตราการรอดชีวิตในมะเร็งตับระยะเป็นมากยังคงถกเถียงกัน แม้ว่าจะมีหลายการศึกษาซึ่งเป็นแบบ historical comparative จะบอกว่าการรักษาด้วยวิธีทีโอซีอี ทำให้อัตราการรอดชีวิตยาวขึ้น[40] และได้มีการศึกษาแบบควบคุมสุ่ม (randomized control) จำนวน 4 การศึกษาเปรียบเทียบระหว่างการทำทีโอซีอี กับกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รักษา 2 การศึกษา, 5-fluoouracil 1 การศึกษา และกับ Tamoxifen 1 การศึกษา ผลของทีโอซีอียังคงถกเถียงกัน หนึ่งในสี่การศึกษาพบว่าสามารถเพิ่มอัตราการรอดชีวิต [41] และอีกสามการศึกษาไม่พบว่าเพิ่มอัตราการรอดชีวิต [42,43,44] อย่างไรก็ดีมีการศึกษาว่าการทำทีโอซีอีได้ผลการตอบสนองบางส่วน (partial response) ร้อยละ 55 และลดการเกิดการลุกลามของก้อนมะเร็งที่หนึ่งปีเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม แม้จะไม่เพิ่มอัตราการรอดชีวิต [43]

ภาวะแทรกซ้อนที่อาจเกิดขึ้นจากการทำการรักษาด้วยวิธีทีโอซีอีได้แก่ อาการปวดท้อง อาเจียน มีไข้ มีน้ำในท้อง (ascites) encephalopathy เลือดออกในทางเดินอาหาร ถุงน้ำดีอักเสบ เอนไซม์การทำงานของตับสูงขึ้น ภาวะดีซ่าน หรือถึงแก่ชีวิต ดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 แสดงภาวะแทรกซ้อนที่เกิดขึ้นหลังการรักษาด้วยวิธีทีโอซีอี [43]

| ภาวะแทรกซ้อน | ร้อยละ |
|---|---|
| ปวดท้อง | 55 |
| อาเจียน | 57 |
| ไข้สูงมากกว่า 38 องศาเซียลเซียส | 49 |
| ตาย | 1 |
| น้ำในท้อง | 4 |
| Encephalopathy | 1 |
| เลือดออกในทางเดินอาหาร | 3 |
| ถุงน้ำดีอักเสบ | 1 |
| AST หรือ ALT ในน้ำเลือดสูงกว่า 5 เท่าในวันที่ 3 หลังการทำทีโอซีอี | 31 |
| Birilubin สูงกว่า 0.9 mg/dl | 32 |
| ภาวะแทรกซ้อนอื่น ๆ | 8 |

จากผลของการรักษามะเร็งตับด้วยวิธีทีโอซีอียังขัดแย้งกันอยู่ และดูเหมือนว่าการรักษาด้วยวิธีทีโอซีอีน่าจะมีประโยชน์ในผู้ป่วยบางราย แต่ปัจจัยการทำนายการตอบสนองต่อการรักษาด้วยวิธีนี้โดยไม่เกิดผลข้างเคียงยังไม่ทราบ [45,46]

## VI การตรวจหาความผิดปกติของ p53

ปัจจุบันมีวิธีการตรวจหาความผิดปกติของ p53 ได้ทั้งในระดับยีนและโปรตีน การตรวจหาความผิดปกติของ *p53* ในระดับยีนนั้นกระทำได้หลายวิธีเพื่อตรวจหา point mutation

เทคนิคของการตรวจหาความผิดปกติของ p53 ได้แก่

1. ตรวจหาระดับยีน ได้แก่การตรวจหาลำดับยีนเช่น การวิเคราะห์ด้วยเทคนิค (PCR-SSCP) การตรวจหาลำดับดีเอ็นเอ (DNA Sequencing) [69] เป็นต้น การตรวจหาความผิดปกติของ *p53* ในระดับยีนนั้นมีความซับซ้อน ละเอียดอ่อน และต้องการผู้มีความรู้ และค่าใช้จ่ายสูง เป็นวิธีที่ใช้ในห้องปฏิบัติการเพื่อการวิจัย และยากต่อการพัฒนาให้เป็นวิธีการใช้ในห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ทั่ว ๆ ไปได้
2. การตรวจหาความผิดปกติของ p53 ในระดับโปรตีน
    2.1 immunohistochemistry (IHC) [70] จากชิ้นเนื้อเป็นวิธีที่นิยม แต่ก็มีความยุ่งยากในการทำผู้ป่วยจำเป็นต้องทำ liver biopsy เพื่อให้ได้ชิ้นเนื้อเพื่อนำมาตรวจ ค่าใช้จ่ายค่อนข้างสูง ต้องการผู้มีความรู้และความชำนาญในการตรวจวิเคราะห์ผล ทำให้ขาดความแม่นยำ หรือมี reproducibility ต่ำ
    2.2 ตรวจหา anti-p53 antibody เป็นการตรวจหาปฏิกริยาของร่างกายต่อโปรตีน p53 และร่างกายจะสร้าง antibody ขึ้นโดย ซึ่ง antibody นี้อาจตรวจพบตั้งแต่ระยะแรก ๆ ที่มีการหลุดของโปรตีน p53 เข้ามาในกระแสเลือด แต่ยังไม่ทราบเหตุผลชัดเจนว่าทำไมในผู้ป่วยบางรายเนื้องอกที่พบว่ามีระดับของโปรตีน p53 ที่ค่อนข้างสูงจึงไม่สามารถสร้าง anti-p53 antibody ได้ เชื่อว่า antibody เกิดจากการตอบสนองของร่างกายโดยตรงต่อ p53 ที่จับกับโปรตีน hsp70 [71]
    2.3 ตรวจหาระดับโปรตีน p53 ในน้ำเลือด เป็นการตรวจหาโปรตีน p53 หรือ antigen ที่ลอยหลุดมาในกระแสเลือด ดังนั้นจึงสามารถตรวจหาโดยใช้วิธี Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) ได้มีการศึกษาตรวจหาโปรตีน p53 ในน้ำเลือดจากผู้ป่วยมะเร็งลำไส้ใหญ่และมะเร็งปอด [28-30] และพบว่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกลุ่มควบคุม และระดับของโปรตีน p53 มีความสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงของยีน *p53* [28-30] ซึ่งเป็นวิธีที่สามารถตรวจหาโปรตีน p53 อีกทั้งยังสามารถบอกระดับออกมาเป็นตัวเลขได้อีกด้วย Vojtesek และคณะ [31] ได้รายงานความสัมพันธ์ระหว่างการตรวจโปรตีน p53 โดยวิธี immunohistochemistry และ การตรวจหาโปรตีน p53 โดยวิธี ELISA จาก tumor cytosol ในมะเร็งเต้านม Suwa และคณะ [32]

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ได้ทำการศึกษาการตรวจหาโปรตีน p53 จากน้ำเลือดในผู้ป่วยมะเร็งตับอ่อนและพบว่ามีความสัมพันธ์กับกลายพันธุ์ของยีน *p53*

การตรวจหาโปรตีน p53 เป็นการตรวจหาปริมาณโดยวิธี "Sandwich ELISA" เตรียมโดยการติด biotin-labeled capture antibody บน streptavidin-coated microtiter plate ทำการตรวจหาโปรตีน p53 จากตัวอย่างสิ่งส่งตรวจโดยเติมตัวอย่างสิ่งส่งตรวจลงไป แล้ว incubate เพื่อให้โปรตีน p53 จับกับ biotin labeled capture antibody ที่อยู่บน plate ทำการล้างแล้วเติม substrate คือ tetramethylbenzidine (TMB) ลงไป peroxidase จะจับทำปฏิกิริยากับ TMB ทำให้เกิดสี และสามารถจะตรวจวัดสีโดยใช้ photometry เป็นสัดส่วนกับปริมาณโปรตีน p53

ข้อดีของวิธี ELISA

1. เป็นวิธีที่มีความสะดวก รวดเร็ว ปลอดภัย ค่าใช้จ่ายไม่แพง
2. เป็นวิธีที่มีความจำเพาะ (specificity) และความไว (sensitivity) สูง
3. เป็นวิธีที่มีความถูกต้อง (accuracy) ความแม่นยำ (precision) ความเชื่อถือได้ (reliability)
4. เป็นวิธีที่ได้พัฒนาเป็นระบบอัตโนมัติ และเป็นระบบสากลที่ยอมรับกันทั่วโลก
5. ไม่ต้องการผู้ชำนาญการพิเศษในการทำการตรวจ และการอ่านผล
6. การอ่านผลและแปลผล มีความเป็นสากล และสามารถวัดเป็นตัวเลย หรือระดับที่ชัดเจนเชื่อถือได้