บทที่ 1
บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

มะเร็งของโพรงหลังจมูกชนิด nasopharyngeal carcinoma หรือ NPC เป็นมะเร็งที่พบมากในแถบเอเชียโดยเฉพาะประเทศจีนตอนใต้ ฮ่องกง ไต้หวัน รวมทั้งประเทศไทย แต่พบน้อยในคนผิวขาว ผู้ป่วยที่มารักษาที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ด้วยโรคนี้เฉลี่ยประมาณ 100 ราย ต่อปี[1] มะเร็งชนิดนี้พบมากในประเทศไทยและถือเป็นปัญหาทางสาธารณสุขที่สำคัญอย่างหนึ่งของคนไทยโดยเฉพาะคนไทยเชื้อสายจีน[2] การที่พบโรคนี้บ่อยในบางส่วนของโลกเท่านั้นแสดงให้เห็นว่า สิ่งแวดล้อมและพันธุกรรมอาจมีส่วนเกี่ยวข้องในการเกิดโรคนี้ นอกจากนี้ยังพบว่า มะเร็ง NPC ชนิด WHO 2 และ 3 มีสาเหตุเกิดจากเชื้อไวรัส Ebstein-Barr[3] และการถ่ายทอดของพันธุกรรมอาจมีส่วนเกี่ยวข้องร่วมด้วย นอกจากนี้ยังพบว่า ผู้ป่วยเอเชียที่มี human leukocyte antigen (HLA) บางชนิดมีอุบัติการณ์ของโรคนี้เพิ่มขึ้นแต่ไม่พบความสัมพันธ์ของโรคกับ HLA ในผู้ป่วยผิวขาวในทวีปอเมริกาเหนือ[4] ความก้าวหน้าทางวิชาชีววิทยาโมเลกุลได้ช่วยให้แพทย์และนักวิทยาศาสตร์เริ่มเข้าใจถึงกลไกการเกิดโรคมะเร็งชนิดต่าง ๆ ซึ่งเกิดจากความผิดปกติของยีนก่อมะเร็ง (Oncogenes) และยีนต้านมะเร็ง (Tumour suppressor genes) [4] การที่เชื้อไวรัสเอปสไตน์บาร์ (Epstein-Barr Virus) ทำให้เกิดโรคมะเร็ง NPC ได้อย่างไรในระดับโมเลกุล กำลังได้รับการศึกษาจากแพทย์และนักวิทยาศาสตร์ที่สนใจเกี่ยวกับเรื่องนี้

ความผิดปกติหลายชนิดในระดับโมเลกุลของผู้ป่วยมะเร็งชนิดนี้ได้ถูกค้นพบแล้วในปัจจุบัน การเข้าใจถึงพยาธิกำเนิดของโรคมะเร็ง NPC ในระดับโมเลกุล จะช่วยให้แพทย์และนักวิทยาศาสตร์สามารถคิดค้นและพัฒนาวิธีการวินิจฉัยโรคได้ตั้งแต่ระยะเริ่มแรก การป้องกันการเกิดโรคนี้ การวินิจฉัยแยกโรคจากโรคอื่น ๆ โดยใช้ตัวบ่งชี้ทางโมเลกุล (molecular tumor markers) เพื่อแยกโรค ทราบถึงการพยากรณ์โรค ตรวจการกลับเป็นซ้ำของโรค พัฒนาหาวิธีการรักษาโรคอย่างมีประสิทธิภาพ รวมไปถึงการติดตามผลการรักษา

ยีน p 16 เป็นยีนต้านมะเร็งชนิดหนึ่งที่ได้รับความสนใจศึกษาในผู้ป่วยมะเร็ง NPC มากที่สุด ยีนหนึ่งรองจากพี 53 แต่การศึกษาความผิดปกติของ*ยีน p16* และการสูญหายของโปรตีนP16 โดยเฉพาะในมะเร็งหลังโพรงจมูก ยังไม่มีรายงานการศึกษาถึงความสัมพันธ์ทางคลินิก จะมีก็เพียงแต่รายงานสงสัยว่ามีการสูญหายของโปรตีน P16 จากการตรวจพบความผิดปกติของยีนนี้บนโครโมโซม 9 จากการตรวจพบ LOH ของโครโมโซม 9p21 (LOH of chromosome 9p21) และ

homozygous deletion คิดเป็นร้อยละ 61-87 [5,6,21] ความผิดปกติของ*ยีน p16*ที่เกิดจาก mutation พบน้อยประมาณ ร้อยละ 10 เท่านั้น ส่วนความผิดปกติของ*ยีน p16*ที่เกิดจาก hypermethylation ในมะเร็งของศีรษะและลำคอ และในมะเร็งหลังโพรงจมูกพบความชุกประมาณตั้งแต่ร้อยละ 20 ถึง 47 [23,24,A,B,C,D] ส่วนการตรวจหาโปรตีนP16 โดย immunohistochemistry ใน NPC พบเพียง 1 รายงานว่ามีการสูญหายของโปรตีนP16 เป็นร้อยละ 64 แต่ยังไม่มีรายงานถึงความสัมพันธ์ทางคลินิกเช่นกัน[22]

ยีน p16 ถูกค้นพบในปี ค.ศ. 1993 มีชื่อเรียกหลายชื่อได้แก่ Major tumor suppressor 1 (MTS-1) หรือ inhibitor of cyclin-dependent kinase 4 a (INK 4a) หรือ cyclin-dependent kinase inhibitor 2a (CDKN2A) ซึ่งอยู่บนโครโมโซม 9p21 ประกอบด้วย 3 exon ทำหน้าที่ในการสร้างโปรตีนP16 ซึ่งประกอบขึ้นด้วยกรดอะมิโน 156 ชนิด มีน้ำหนัก 15.8 Kd[7] ทำหน้าที่เป็น cyclin -dependent kinase inhibitor (CDKI) โดยการจับกับ CDK4 หรือ CDK6 ซึ่งทำให้ cycline จับกับ cyclin-dependent kinase (CDK) ไม่ได้ จึงไม่เกิดสารประกอบ cycline-CDK ทำให้ pRb like protien ไม่ปลดปล่อย E2F ดังนั้นจึงเป็นโปรตีนที่สำคัญชนิดหนึ่งในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์ในระยะ G1 (G1 phase) ไม่ให้เซลล์เข้าสู่ระยะ S (S phase) การสูญเสียการทำงานของ*ยีน p16* อาจนำไปสู่การเกิดมะเร็งเนื่องมาจากไม่สามารถควบคุมการเพิ่มจำนวนของเซลล์ที่ผิดปกติได้ การศึกษาในหนูทดลองที่ได้รับการกำจัด*ยีนp16*พบว่าเกิดมะเร็งหลายชนิดในหนูทดลอง[8]การตรวจหาความผิดปกติของ*ยีน p16* ซึ่งขณะนี้พบอย่างน้อย 3 แบบ ได้แก่ Homozygous deletion, point mutation และ hypermethylation ใช้วิธีการตรวจเช่นเดียวกับการตรวจหาความผิดปกติในยีนโดยทั่วไป เทคนิคที่มีที่ใช้ได้แก่ Southern blot, Fluorescence in situ hybridization (FISH), Allele-specific oligonucleotide (ASO) เป็นต้น[9]

ปัจจุบันพบความผิดปกติของ*ยีน p16* และการสูญเสียของการแสดงออกของโปรตีนP16 ในมะเร็งที่เกิดในมนุษย์หลายชนิด อุบัติการณ์ของความผิดปกติของ*ยีน p16* ที่พบในมะเร็งชนิดต่าง ๆ เป็นดังตารางที่ 1.[7] ความผิดปกติของ*ยีน p16* ที่ตรวจพบในมะเร็งหลายชนิดที่เกิดในมนุษย์ขณะนี้พบอย่างน้อย 3 แบบ ได้แก่ homozygous deletion, point mutation และ hypermethylation ดังกล่าวข้างต้น แม้ว่าความผิดปกติของ*ยีน p16* จะมีรายงานจากการศึกษามะเร็งหลายชนิดในมนุษย์ แต่รายงานการศึกษาความผิดปกติของ*ยีน p16* หรือไม่พบโปรตีน P16 ร่วมกับความสัมพันธ์ทางคลินิกหรือพยากรณ์โรคยังคงมีจำนวนไม่มากนัก ตัวอย่างของการศึกษาเหล่านี้ได้แก่ในโรคมะเร็งปอดชนิดที่ไม่ใช่เซลล์เล็ก (NSCLC) พบว่าผู้ป่วยที่ตรวจไม่พบโปรตีนP16ในก้อนมะเร็งปอดมักมีอัตราการมีชีวิตสั้นกว่า[11,12] ในมะเร็งเต้านมและมะเร็งหลอดอาหาร (ชนิด squamous cell carcinoma) พบว่าโอกาสที่จะมีการกระจายไปยังต่อมน้ำเหลืองมากกว่าในกลุ่มที่ไม่พบโปรตีนP16ในก้อนมะเร็ง[13,14] มะเร็งบริเวณศีรษะและลำคอพบว่ามีการแพร่กระจายและการกลับเป็นซ้ำสูงกว่าเช่นเดียวกัน[15] ส่วนการศึกษาความผิดปกติของ*ยีน p16* และการสูญหายของโปรตีน P16 เฉพาะในมะเร็งหลังโพรงจมูกยังไม่มีรายงานการศึกษาถึงความสัมพันธ์ทางคลินิกจะมีก็เพียงแต่รายงานว่าตรวจพบความผิด

ปกติของยีนนี้บนโครโมโซม 9 จากการตรวจพบ LOH ของโครโมโซม 9p21 (LOH of chromosome 9p21) และhomozygous deletion คิดเป็นร้อยละ 61-87[5,6,21] ความผิดปกติของ*ยีน p16* ที่เกิดจาก mutation พบน้อยประมาณ ร้อยละ 10 เท่านั้น ส่วนความผิดปกติของ*ยีน p16*ที่เกิดจาก hypermethylation ในมะเร็งของศีรษะและลำคอและในมะเร็งหลังโพรงจมูกพบความชุกประมาณตั้งแต่ร้อยละ 20 ถึง 47 [23,24,132,133,134,135] แต่ยังไม่มีรายงานถึงความสัมพันธ์ทางคลินิกเช่นกัน

ความผิดปกติของ*ยีน p16* ที่เกิดจาก hypermethylation กำลังได้รับความสนใจศึกษาอย่างกว้างขวางและเป็นเป้าหมายสำคัญของการเกิดมะเร็งหลายชนิดในมนุษย์ ความผิดปกติของ*ยีน p16* ที่เกิดจาก hypermethylationพบมากในมะเร็งหลายชนิด ได้แก่ มะเร็งต่อมน้ำเหลือง มะเร็งเม็ดเลือดขาว มะเร็ง multiple myeloma มะเร็งของศีรษะและลำคอ มะเร็งโพรงหลังจมูก มะเร็งปอด มะเร็งสมอง มะเร็งลำไส้ใหญ่ มะเร็งหลอดอาหาร และมะเร็งกระเพาะปัสสาวะ จากรายงานการศึกษาหลายรายงานพบว่าความผิดปกติของ*ยีน p16* ที่เกิดจาก hypermethylation เป็นปัจจัยพยากรณ์โรคที่ไม่ดีในมะเร็งหลายชนิด ได้แก่ ในผู้ป่วยมะเร็งต่อมน้ำเหลืองชนิด non-Hodgkin's ที่มีความผิดปกติของ*ยีน p16*ที่เกิดจาก hypermethylationจะมีความเสี่ยงในการกลับเป็นซ้ำของโรคสูงกว่าในรายที่ไม่มี [136] ในมะเร็งต่อมน้ำเหลืองชนิด mycosis fungoides พบว่าความผิดปกติของ*ยีน p16*ที่เกิดจาก hypermethylation สัมพันธ์กับการตอบสนองต่อการรักษาที่ไม่ดี [137] ในมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิด adult T-cell leukemia พบว่าความผิดปกติของ*ยีน p16*ที่เกิดจาก hypermethylation สัมพันธ์กับโรคระยะลุกลามอย่างมาก[138] และในมะเร็งหลอดอาหารพบว่าสัมพันธ์กับโรคระยะลุกลามมากเช่นกัน[139] ส่วนความผิดปกติของ*ยีน p16* ที่เกิดจาก hypermethylation ในมะเร็งของศีรษะและลำคอและมะเร็งโพรงหลังจมูกนั้นมีเพียงการศึกษาในเรื่องความชุกดังกล่าวมาแล้ว แต่ยังไม่มีการศึกษาถึงความสัมพันธ์ทางคลินิกกับความผิดปกติของ*ยีน p16*ที่เกิดจาก hypermethylationนี้อย่างชัดเจน

การตรวจพบการสูญเสียการแสดงออกของโปรตีนP16ด้วยวิธี immunohistochemistry มีความสอดคล้องกันอย่างมากกับการตรวจพบความผิดปกติของ*ยีนp16*ที่เกิดจากhypermethylation[25] ความสอดคล้องกันของการตรวจทั้งสองวิธี คือ การตรวจพบการสูญเสียการแสดงออกของโปรตีน P16 ด้วยวิธี immunohistochemistry กับการตรวจพบความผิดปกติของ*ยีน p16* ที่เกิดจาก hypermethylation ยังพบจากการศึกษาในมะเร็งอื่นๆ ได้แก่ มะเร็งกระเพาะอาหาร[140] มะเร็งเม็ดเลือดขาว[138] มะเร็งต่อมน้ำเหลืองชนิด Hodgkin's[141] มะเร็งปากมดลูก[142] และมะเร็งปอดชนิดไม่ใช่เซลล์เล็ก[143] จากรายงานการศึกษาหลายรายงานที่กล่าวมาข้างต้น จึงบ่งชี้ว่า การตรวจพบความผิดปกติของ*ยีน p16* ที่เกิดจาก hypermethylation หรือการไม่พบการแสดงออกของโปรตีนP16 มีความสัมพันธ์กับลักษณะทางคลินิกหรือพยากรณ์โรคที่ไม่ดีในมะเร็งหลายๆชนิด ได้แก่ ระยะเวลาการมีชีวิตอยู่สั้นกว่า ความเสี่ยงในการกลับเป็นซ้ำของโรคสูงกว่า และ การตอบสนองต่อการรักษาที่ไม่ดีมากกว่ากลุ่มที่*ยีน p16*ไม่มี hypermethylation หรือมีโปรตีน P16 ปกติ ทำให้น่าเชื่อว่าความผิดปกติของ*ยีน p16*ที่เกิดจาก hypermethylation ซึ่งเป็นกลไกที่สำคัญในการเกิดมะเร็งของศีรษะและลำคอ

และมะเร็งโพรงหลังจมูก น่าจะเป็นปัจจัยการพยากรณ์โรคที่ไม่ดี มีระยะเวลาการมีชีวิตอยู่ที่สั้นกว่า ซึ่งอาจเกิดจากการตอบสนองต่อการรักษาที่ไม่ดี คือ เป็นปัจจัยทำนายการตอบสนองต่อการรักษาในผู้ป่วยเหล่านี้ได้ด้วยรวมทั้งมีความเสี่ยงในการกลับเป็นซ้ำสูงขึ้น

ตารางที่ 1.1 แสดงร้อยละของชนิดความผิดปกติของ*ยีน p16* ที่พบในโรคมะเร็งชนิดต่าง ๆ[1]

ชนิดของมะเร็ง	**Homozygous deletion**	**Mutation**	**Methylation**	รวม
Glioma	60	<5	24	85
Head and neck	50	10	20	80
Esophagus	20	30	20	70
Pancreas	30	30	-	60
Bladder	45	<5	<5	55
Mesothelioma	50	<5	-	55
ALL, T-cell	50	<5	-	55
Breast	10	-	30	40
NSCLC	20	15	-	35
Colon	0	-	30	30
Melanoma	25	<5	-	30
Ovary	10	<5	10	25
Prostate	20	-	-	20
Renal cell	15	-	-	15
Pituitary	15	0	-	15
Sarcoma	10	<5	-	10
Gastric	10	0	-	10
SCLC	5	-	-	5

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

วัตถุประสงค์เฉพาะ เพื่อการศึกษาเปรียบเทียบระยะเวลาการมีชีวิตอยู่ การกลับเป็นซ้ำ และการตอบสนองต่อการรักษาของผู้ป่วยมะเร็งโพรงหลังจมูกที่ตรวจพบและไม่พบความผิดปกติของ*ยีน p16* ที่เกิดจากเมททิเลชั่นว่าแตกต่างกันหรือไม่

วัตถุประสงค์ทั่วไป เพื่อการศึกษาถึงความชุกของการตรวจพบความผิดปกติของ*ยีน p16*ที่เกิดจากเมททิเลชั่นในผู้ป่วยมะเร็งหลังโพรงจมูกและปัจจัยพยากรณ์โรคอื่นๆ

ขอบเขตของการวิจัย

การศึกษาวิจัยนี้เป็นการศึกษาแบบย้อนหลังเชิงวิเคราะห์ เป็นการศึกษาการตรวจความผิดปกติของ*ยีน p16* ที่เกิดจากเมททิเลชั่นในเซลล์มะเร็งโพรงหลังจมูก สองกลุ่มๆละจำนวนเท่าๆกัน เพื่อเปรียบเทียบระยะเวลาการมีชีวิตอยู่ การกลับเป็นซ้ำ และการตอบสนองต่อการรักษาว่าแตกต่างกันหรือไม่

ข้อตกลงเบื้องต้น

การศึกษานี้เป็นการศึกษาการตรวจความผิดปกติของ*ยีน p16* ที่เกิดจากเมททิเลชั่นในเซลล์มะเร็งโพรงหลังจมูก ดังนั้นจึงต้องเลือกผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยโรคจากชิ้นเนื้อทางพยาธิวิทยาเท่านั้นและต้องมีชิ้นเนื้อเหลือเพียงพอ ในการตรวจหาความผิดปกติของ*ยีน p16* ที่เกิดจากเมททิเลชั่นบนโครโมโซมที่ 9

ข้อจำกัดของการวิจัย

ไม่สามารถหาชิ้นเนื้อมะเร็งที่เหลืออยู่เนื่องจากผู้ป่วยได้รับการวินิจฉัยมาจากโรงพยาบาลอื่นหรือชิ้นเนื้อที่มีอยู่ไม่เพียงพอในการตรวจความผิดปกติของ*ยีน p16*ชนิดเมททิเลชั่น

คำจำกัดความที่ใช้ในการวิจัย

1 การตรวจหาความผิดปกติของ*ยีน p16*ที่เกิดจากเมททิเลชั่นบนโครโมโซม 9p21 ใช้วิธี Methylation Specific PCR-Polymerase Chain Reaction (MSP)

2 การแบ่งระยะของโรคมะเร็งโพรงหลังจมูก อาศัยการแบ่งตามระบบ TNM. ซึ่งมีรายละเอียดแสดงไว้ดังตารางที่ 2

3 ระยะเวลาการมีชีวิต (survival time) หมายถึงระยะเวลาตั้งแต่วันที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคมะเร็งโพรงหลังจมูกจนถึงวันที่เสียชีวิตหรือสิ้นสุดการศึกษา

4 อัตราการตอบสนองต่อการรักษา (response rate) หมายถึงทั้งการตอบสนองทั้งหมดและบางส่วน (complete and partial responses) โดยดูจากรอยโรคทั้งที่สามารถวัดได้และประเมินได้ (measurable and evaluable lesions)

ตารางที่ 1.2 แสดงการแบ่งระยะของโรคมะเร็งโพรงหลังจมูกโดยอาศัยการแบ่งตามระบบ TNM[20]

ระบบ TNM
Tumor
Tx ไม่มีข้อมูลเพียงพอที่จะสรุป
To ไม่มีร่องรอยของก้อนเนื้องอก
Tis Carcinoma in situ
T1 ก้อนเนื้องอกจำกัดอยู่เฉพาะข้างเดียวของโพรงหลังจมูก
T2 ก้อนเนื้องอกลุกลามไป 2 ข้าง
T3 ก้อนเนื้องอกลุกลามโพรงจมูก และ/หรือคอหอยส่วนต่อกับปาก (oropharynx)
T4 ก้อนเนื้องอก ลุกลามเข้าสู่อวัยวะข้างเคียง (เช่นเส้นประสาท กระดูก)
Node
Nx ไม่มีข้อมูลเพียงพอที่จะสรุป
No ไม่มีร่องรอยของการกระจายของมะเร็งไปยังต่อน้ำเหลือง
N1 มีการกระจายของมะเร็งไปยังต่อมน้ำเหลืองข้างเดียวกัน 1 ต่อม ขนาดน้อยกว่า 3 ซม.
N2a มีการกระจายของมะเร็งไปยังต่อมน้ำเหลืองข้างเดียวกัน 1 ต่อม ขนาดมากกว่า 3 ซม. แต่น้อยกว่า 6ซม.
N2b มีการกระจายของมะเร็งไปยังต่อมน้ำเหลืองข้างเดียวกันหลายต่อม และขนาดของแต่ละต่อมน้อยกว่า 6ซม.
N2c มีการกระจายของมะเร็งไปยังต่อมน้ำเหลืองข้างตรงข้ามหรือทั้ง 2 ข้างและขนาดของแต่ละต่อมน้อยกว่า 6 ซม.
N3 มีการกระจายของมะเร็งไปยังต่อมน้ำเหลืองซึ่งโตมากกว่า 6 ซม.
Metastasis
Mx ไม่มีข้อมูลเพียงพอที่จะสรุป
Mo ไม่มีการแพร่กระจายไปยังอวัยวะที่อยู่ไกลออกไป
M1 มีการแพร่กระจายไปยังอวัยวะที่อยู่ไกลออกไป

ระยะของโรค

Stage	TNM
O	In situ
I	T1NoMo
II	T2NoMo
III	T3NoMo,T1-3 N1 Mo
IV	T4N1Mo,anyT N2-3 Mo,AnyT anyN M1

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ทราบผลของความผิดปกติของ*ยีน p16*ชนิดเมททิเลชั่นในผู้ป่วยมะเร็งโพรงหลังจมูกต่อระยะเวลาการมีชีวิตของผู้ป่วย การกลับเป็นซ้ำ และการตอบสนองต่อการรักษา

ทราบความชุกของความผิดปกติของ*ยีน p16*ชนิดเมททิเลชั่น ในผู้ป่วยมะเร็งโพรงหลังจมูกในคนไทย และปัจจัยพยากรณ์โรคอื่นๆจากการวิเคราะห์ตัวแปร

วิธีดำเนินการวิจัยและลำดับขั้นตอนในการเสนอผลการวิจัย

การศึกษาวิจัยนี้เป็นการศึกษาแบบย้อนหลังเชิงวิเคราะห์ (retrospective analytical study) โดยวิธีดำเนินการวิจัยมีทั้งหมด 4 ขั้นตอน คือ

ขั้นตอนที่ 1 การวางแผนและการเตรียมการก่อนการดำเนินงาน

ขั้นตอนที่ 2 การดำเนินการศึกษาวิจัย

ขั้นตอนที่ 3 การวิเคราะห์ข้อมูล

ขั้นตอนที่ 4 การอภิปรายและสรุปผลการวิจัย

ขั้นตอนที่ 1 การวางแผนและการเตรียมการก่อนการดำเนินงาน

1.1 ทบทวนเอกสารและวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

เพื่อให้เกิดความรู้และความเข้าใจอย่างถ่องแท้ในการดำเนินการศึกษาวิจัย จำเป็นต้องทบทวนความรู้เกี่ยวกับมะเร็งโพรงหลังจมูกทั้งในเรื่องความรู้พื้นฐานเกี่ยวกับขบวนการและขั้นตอนของการเกิดโรคมะเร็ง อณูชีววิทยาของมะเร็งโพรงหลังจมูก โดยเฉพาะในเรื่องความสำคัญของความผิดปกติของ*ยีน p16*ชนิดเมททิเลชั่นกับการเกิดโรคมะเร็ง

ต่างๆและมะเร็งโพรงหลังจมูก รวมทั้งข้อมูลสำคัญทางคลินิกของโรคมะเร็งโพรงหลังจมูก ดังสรุปในเอกสารนี้ในส่วนของแนวเหตุผลและทฤษฎี

1.2 การคัดเลือกประชากรและกลุ่มตัวอย่าง

ประชากรและกลุ่มตัวอย่างดังจะกล่าวในรายละเอียดในส่วนของวิธีการดำเนินการศึกษาวิจัยต่อไป

ขั้นตอนที่ 2 การดำเนินการศึกษาวิจัย

2.1 การเก็บรวบรวมข้อมูล

เก็บรวบรวมข้อมูลดังต่อไปนี้จากเวชระเบียนแล้วบันทึกในแบบบันทึก ข้อมูลรายละเอียดในการเก็บบันทึกจะนำเสนอรายละเอียดในส่วนของวิธีการดำเนินการศึกษาวิจัย

2.2 การสังเกตและการวัด (Observation and Measurement)

นำดีเอ็นเอที่สกัดออกมาจากชิ้นเนื้อมะเร็งโพรงหลังจมูกที่ได้รับการวินิจฉัยครั้งแรกซึ่งเก็บไว้ในที่เก็บอุณหภูมิต่ำกว่า-80องศาเซลเซียสมาตรวจความผิดปกติของ*ยีน p16*ชนิดเมททิเลชั่นในเซลล์มะเร็งด้วยวิธี Methylation-Specific PCR (MS-PCR)รายละเอียดของวิธีการตรวจMS-PCRนี้จะนำเสนอในส่วนของวิธีการดำเนินการศึกษาวิจัย

ขั้นตอนที่ 3 การวิเคราะห์ข้อมูล

ได้แก่ การวิเคราะห์ข้อมูลและแสดงผลการวิเคราะห์ข้อมูล

ขั้นตอนที่ 4 การอภิปรายและสรุปผลการวิจัย

ได้แก่ การอภิปรายผลการวิเคราะห์ข้อมูลและสรุปผลที่ได้จากการศึกษาวิจัยนี้ รวมทั้งข้อเสนอแนะในการศึกษาวิจัยต่อไป