

ฟ็อกซ์พีสามโพซิทีฟเรกูลาทอรี ทีเซลล์
ในรอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากในผู้ป่วยคนไทย

นางสาวปฐมาภรณ์ นาคพิพัฒน์

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเวชศาสตร์ช่องปาก ภาควิชาเวชศาสตร์ช่องปาก

คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2553

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

FOXP3⁺ REGULATORY T CELLS IN THAI PATIENTS
WITH ORAL LICHEN PLANUS



Miss Patamaporn Nakpipat

ศูนย์วิทยุทันตกรรม
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

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

Department of Oral Medicine

Faculty of Dentistry

Chulalongkorn University

Academic Year 2010

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์

ฟิสิกส์ที่สามโพซิทีฟเรกูลาทอรี ที่เซลล์ในรอยโรคไลเคน แพลนัส

ในช่องปากในผู้ป่วยคนไทย

โดย

นางสาวปฐมภรณ์ นาคพิพัฒน์

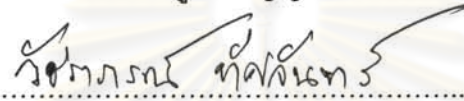
สาขาวิชา

เวชศาสตร์ช่องปาก

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทันตแพทย์หญิง ดร.พรพรรณ พิบูลย์รัตนกิจ

คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้
เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต



คณบดีคณะทันตแพทยศาสตร์

(รองศาสตราจารย์ ทันตแพทย์หญิง วัชรภรณ์ ทัศนจันทร์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์



ประธานกรรมการ

(ศาสตราจารย์ ทันตแพทย์หญิง กอบกาญจน์ ทองประสม)



อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทันตแพทย์หญิง ดร.พรพรรณ พิบูลย์รัตนกิจ)



กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทันตแพทย์หญิง ดร.กนกพร พะลัง)



กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทันตแพทย์หญิง ดร.นิรดา ธเนศวร)

ปริญญานิพนธ์ นาคพิพัฒน์ : ฟีออกร์ทีสามโพซทีฟเรกูลาทอรี ทีเซลล์ในรอยโรคไลเคน แพลนัส
ในช่องปากในผู้ป่วยคนไทย. (FOXP3⁺ REGULATORY T CELLS IN THAI PATIENTS
WITH ORAL LICHEN PLANUS) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก : ผศ.ทพญ.ดร.พรพรรณ
พิบูลย์รัตนกิจ, 104 หน้า.

วัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาจำนวนของ Foxp3⁺ เรกูลาทอรี ทีเซลล์ และสัดส่วนของ Foxp3⁺
เรกูลาทอรี ทีเซลล์ต่อ CD3⁺ ทีเซลล์ และต่อ CD4⁺ ทีเซลล์ในรอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปาก
เปรียบเทียบกับเนื้อเยื่อปริทันต์อักเสบและเนื้อเยื่อปกติ

วัสดุและวิธีการ ศึกษาเซลล์ที่มีการแสดงออกของ Foxp3, CD3 และ CD4 โดยใช้วิธีการ
ย้อมภูมิโมโนโคลนัลไอเคมึ ในชิ้นเนื้อรอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากจำนวน 20 ราย เปรียบเทียบกับ
เนื้อเยื่อปริทันต์อักเสบจำนวน 20 ราย และเนื้อเยื่อปกติจำนวน 10 ราย วิเคราะห์ข้อมูลทั้งหมดเพื่อ
หาความแตกต่างของจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของ Foxp3, CD3 และ CD4 และร้อยละของ
Foxp3⁺ เรกูลาทอรี ทีเซลล์ต่อ CD3⁺ ทีเซลล์ และต่อ CD4⁺ ทีเซลล์ระหว่างกลุ่มตัวอย่าง โดยใช้
สถิติ One-Way ANOVA ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

ผลการศึกษา ปฏิกริยาที่ให้ผลบวกต่อ CD3, CD4 และ Foxp3 พบได้ในโมโนนิวเคลียร์เซลล์ใน
ชั้นได้เยื่อผิวของเนื้อเยื่อรอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปาก เนื้อเยื่อปริทันต์อักเสบ และเนื้อเยื่อ
ปกติทั้งหมด ส่วนภายในชั้นเยื่อภูมินั้น Foxp3⁺ เซลล์ในลิมนโฟไซต์พบในผู้ป่วยไลเคน แพลนัสใน
ช่องปากทุกราย ขณะที่เนื้อเยื่อปริทันต์อักเสบ และเนื้อเยื่อปกติพบใน 18 ราย (ร้อยละ90) และ 8
ราย (ร้อยละ 80) ตามลำดับ นอกจากนี้จำนวนของ Foxp3⁺ เซลล์ CD3⁺ ทีเซลล์ และ CD4⁺ ที
เซลล์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างทั้ง 3 กลุ่ม โดยเซลล์เหล่านี้พบได้มาก
ที่สุดในรอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปาก รองลงมา คือ เนื้อเยื่อปริทันต์อักเสบ และเนื้อเยื่อปกติ
ตามลำดับ อย่างไรก็ตามสัดส่วนของ Foxp3⁺ เซลล์ต่อ CD3⁺ ทีเซลล์หรือ CD4⁺ ทีเซลล์ไม่พบ
ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างทั้ง 3 กลุ่ม เมื่อพิจารณาจากชนิดของโรคไล
เคน แพลนัสในช่องปาก พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในจำนวนของ CD3⁺ ทีเซลล์
CD4⁺ ทีเซลล์ และ Foxp3⁺ เซลล์ และสัดส่วนของ Foxp3⁺ เซลล์ต่อ CD3⁺ ทีเซลล์หรือ CD4⁺ ที
เซลล์ระหว่างรอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากชนิดร่างแห และชนิดผ่อลิบหรือแผลถลอก

สรุป จำนวน Foxp3⁺ เรกูลาทอรี ทีเซลล์มีการเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญในรอยโรคไลเคน แพลนัสใน
ช่องปาก ซึ่งแสดงให้เห็นว่า Foxp3⁺ เรกูลาทอรี ทีเซลล์อาจมีบทบาทสำคัญต่อการเกิดพยาธิสภาพ
ของรอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปาก

ภาควิชา..... เวชศาสตร์ช่องปาก..... ลายมือชื่อนิสิต..... ปวงกรณ วัฒน
สาขาวิชา..... เวชศาสตร์ช่องปาก..... ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก..... พร พรพรรณ
ปีการศึกษา..... 2553.....

5276113432 : MAJOR ORAL MEDICINE

KEYWORDS : FORKHEAD BOX P3, FOXP3, IMMUNOHISTOCHEMICAL STAINING, ORAL LICHEN PLANUS, REGULATORY T CELL, TREG

PATAMAPORN NAKPIPAT : FOXP3⁺ REGULATORY T CELLS IN THAI PATIENTS WITH ORAL LICHEN PLANUS. THESIS ADVISOR : ASST. PROF. PORNPAN PIBOONRATANAKIT, Ph.D., 104 pp.

Objectives To compare the numbers of Foxp3⁺ regulatory T cells (Treg) and the proportion of Foxp3⁺ Treg among CD3⁺ T cells and CD4⁺ T cells in oral lichen planus (OLP) in comparison with periodontitis and normal mucosa.

Materials and Methods The expression of Foxp3, CD3 and CD4 was examined in 20 biopsied tissues of OLP compared with 20 periodontitis and 10 normal tissues by immunohistochemical method. One-Way ANOVA test was used to compare the numbers of cells expressing Foxp3, CD3 and CD4 and percentages of Foxp3⁺ Treg among CD3⁺ T cells and CD4⁺ T cells at significance level of $p < 0.05$.

Results The positive reactivity to CD3, CD4 and Foxp3 were detected in subepithelial mononuclear cells in all cases of OLP, periodontitis and normal healthy mucosa. All of the OLP patients exhibited Foxp3⁺ cells in the lymphocytes at intraepithelium whereas periodontitis and normal healthy subjects were 18 cases (90%) and 8 cases (80%), respectively. The numbers of Foxp3⁺ cells, CD3⁺ T cells and CD4⁺ T cells were statistically different among three groups, in which the highest numbers of the positive cells were found in OLP lesions, periodontitis and normal tissues, respectively. However, the proportions of Foxp3⁺ cells among CD3⁺ T cells or CD4⁺ T cells were not statistically different among three groups. Regarding type of OLP, there were no significant differences in the numbers of CD3⁺ T cells, CD4⁺ T cells and Foxp3⁺ cells and the proportions of Foxp3⁺ cells among CD3⁺ T cells or CD4⁺ T cells between reticular and atrophic/ulcerative OLP.

Conclusion The number of Foxp3⁺ Treg significantly increased in OLP lesions, indicating that Foxp3⁺ Treg may play the pivotal role in the immunopathogenesis of OLP.

Department : Oral Medicine

Student's Signature *Uyarn Norn*

Field of Study : Oral Medicine

Advisor's Signature *Norn Norn*

Academic Year : 2010

กิตติกรรมประกาศ

การจัดทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดีเพราะความช่วยเหลืออันมีคุณค่ายิ่งจากผู้มีพระคุณหลายท่าน ซึ่งข้าพเจ้าขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทันตแพทย์หญิง ดร.พรพรรณ พิบูลย์รัตนกิจ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาสละเวลาให้คำปรึกษาแนะนำอันเป็นประโยชน์ ตรวจสอบแก้ไขวิทยานิพนธ์ ตลอดจนช่วยผลักดัน และให้กำลังใจข้าพเจ้าในการทำงานวิจัยให้ประสบผลสำเร็จ

กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ทุกท่าน ที่ได้ให้คำแนะนำและตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์

อาจารย์ในภาควิชาเวชศาสตร์ช่องปากทุกท่าน ที่กรุณาเอื้อเฟื้อชื่นเนื้อหาของผู้ป่วยโรคไคเคน แพลนัสในช่องปาก ตลอดจนให้คำปรึกษาแนะนำ และให้กำลังใจในการทำวิจัยครั้งนี้

อาจารย์ ทันตแพทย์หญิง ดร.เกศกัญญา สัพพะเลข และอาจารย์ ทันตแพทย์หญิง กาญจนา สิงขโรทัย และภาควิชาศัลยศาสตร์ช่องปาก ที่กรุณาเอื้อเฟื้อชื่นเนื้อหาของผู้ป่วยภาควิชาศัลยศาสตร์ช่องปากเพื่อใช้ในงานวิจัย

Professor Miyuki Azuma แห่ง Tokyo Medical and Dental University ที่กรุณาเอื้อเฟื้อแอนติบอดี และวัสดุอุปกรณ์ในงานวิจัย

รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ ประกอบเกียรติ หิรัญวิวัฒน์กุล และภาควิชาโสต ศอ นาสิก คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่กรุณาเอื้อเฟื้อชื่นเนื้อต่อมทอนซิล เพื่อใช้ในงานวิจัยนำร่อง

อาจารย์ ไพพรรณ พิทยานนท์ อาจารย์ที่ปรึกษาทางสถิติ ที่กรุณาสละเวลาสอน และให้คำแนะนำที่มีประโยชน์ อันช่วยให้ข้าพเจ้ามีความเข้าใจในการใช้สถิติในงานวิจัย

นางสาวนงนุช เวียงคำ เจ้าหน้าที่หน่วยปฏิบัติการรอยโรคในช่องปาก ที่กรุณาช่วยเหลืองานวิจัยครั้งนี้ในหลายขั้นตอนให้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี

ผู้ป่วยโรคไคเคน แพลนัสในช่องปาก และผู้ป่วยภาควิชาศัลยศาสตร์ช่องปากทุกท่าน ที่กรุณาเสียสละชิ้นเนื้อของท่านเพื่อใช้งานวิจัยครั้งนี้โดยได้รับความร่วมมือที่ดียิ่ง

เจ้าหน้าที่ภาควิชาเวชศาสตร์ช่องปาก หน่วยปฏิบัติการชีววิทยา และเพื่อนนิสิตทุกท่าน ที่กรุณาให้ความร่วมมือ ให้ความช่วยเหลือ ให้คำปรึกษา และให้กำลังใจในการทำวิจัยนี้

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ซึ่งได้สนับสนุนทุนอุดหนุนวิทยานิพนธ์สำหรับนิสิตในครั้งนี้ และส่วนหนึ่งของงานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากทุนส่งเสริมการวิจัยของเงินกองทุนเพื่อการวิจัย คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ประจำปีงบประมาณ 2554

ท้ายนี้ ข้าพเจ้าขอให้คุณประโยชน์ และความรู้อันพึงมีจากงานวิจัยนี้ จงส่งผลแก่ผู้มีพระคุณและผู้ที่เกี่ยวข้องทุกท่าน

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ญ
สารบัญภาพ.....	ฎ
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ.....	ฏ
บทที่ 1 บทนำ	1
ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	2
สมมติฐานของงานวิจัย.....	2
ขอบเขตการวิจัย.....	2
ข้อตกลงเบื้องต้น.....	3
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
วิธีดำเนินการวิจัย.....	3
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	4
ตอนที่ 1 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับโรคไลเคน แพลนัสในช่องปาก.....	4
ระบาดวิทยา.....	4
ลักษณะทางคลินิก.....	4
ความสัมพันธ์กับมะเร็งในช่องปาก.....	7
รอยโรคไลเคนอยด์.....	8
ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยา.....	8
การตรวจด้วยวิธีทางอิมมูโนฟลูออเรสเซนซ์	9
พยาธิกำเนิด.....	10
การรักษา.....	14
ตอนที่ 2 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับเรกูลาทอรี ทีเซลล์.....	15
ตัวบ่งชี้ของเรกูลาทอรี ทีเซลล์.....	17

	หน้า
บทบาทของเรกูลาทอรี ทีเซลล์.....	18
เรกูลาทอรี ทีเซลล์ในโรคที่มีสาเหตุจากการติดเชื้อ.....	19
เรกูลาทอรี ทีเซลล์ในโรคมะเร็ง.....	20
เรกูลาทอรี ทีเซลล์ในโรคมะเร็งด้านทานเนื้อเยื่อตนเอง.....	21
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	25
ประชากรที่ศึกษา.....	25
ปัญหาทางจริยธรรม.....	26
วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี.....	27
วัสดุอุปกรณ์.....	27
น้ำยาสารและเคมี.....	29
วิธีการศึกษา.....	30
การเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อ.....	30
การแช่แข็งชิ้นเนื้อตัวอย่าง.....	31
การตัดชิ้นเนื้อ.....	32
การย้อมชิ้นเนื้อทางอิมมูโนฮิสโตเคมี.....	33
การนับจำนวนเซลล์.....	37
การวิเคราะห์ข้อมูล.....	38
บทที่ 4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล.....	39
ลักษณะทั่วไปของกลุ่มศึกษา.....	39
ผู้ป่วยโรคไคเคน แพลนัสในช่องปาก.....	39
อาสาสมัครที่มีเนื้อเยื่อปริทันต์อักเสบ.....	41
อาสาสมัครที่มีเนื้อเยื่อปกติ.....	42
ผลการย้อมอิมมูโนฮิสโตเคมี.....	43
การนับจำนวนเซลล์.....	43
ค่าเฉลี่ยของจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของ Foxp3, CD3 และ CD4 ในชั้นใต้เยื่อผิว.....	43
สัดส่วนของจำนวน Foxp3 ⁺ เรกูลาทอรี ทีเซลล์ต่อจำนวน CD3 ⁺ ทีเซลล์ และต่อจำนวน CD4 ⁺ ทีเซลล์.....	52
ค่าเฉลี่ยของจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของ Foxp3, CD3 และ CD4 จำแนกตามชนิดของรอยโรคไคเคน แพลนัสในช่องปาก.....	54

สัดส่วนของจำนวน Foxp3 ⁺ เรกูลาทอรี ทีเซลล์ต่อจำนวน CD3 ⁺ ทีเซลล์ และต่อจำนวน CD4 ⁺ ทีเซลล์จำแนกตามชนิดของรอยโรคไลเคน แพลนัส ในช่องปาก.....	56
การแสดงออกของ Foxp3, CD3 และ CD4 ภายในชั้นเยื่อเมิว.....	58
บทที่ 5 อภิปรายผล สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ.....	61
อภิปรายผลการวิจัย.....	61
ข้อจำกัดในการศึกษา.....	67
สรุปผลการวิจัย.....	68
ข้อเสนอแนะ.....	68
รายการอ้างอิง.....	69
ภาคผนวก.....	75
ภาคผนวก ก.....	76
ภาคผนวก ข.....	84
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....	104

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	แสดงข้อมูลทั่วไปของผู้ป่วยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปาก.....	40
2	แสดงข้อมูลทั่วไปของอาสาสมัครที่มีเนื้อเยื่อปริทันต์อักเสบ.....	41
3	แสดงข้อมูลทั่วไปของอาสาสมัครที่มีเนื้อเยื่อปกติ.....	42
4	ระดับจำนวนเซลล์ที่มีการติดสีของ Foxp3 จำแนกตามเกณฑ์ของ Lee และคณะ.....	49



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	แสดงลักษณะของรอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากชนิดร่างแหบริเวณบริเวณข้างลิ้นด้านซ้าย.....	5
2	แสดงลักษณะของรอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากชนิดตุ่มตันบริเวณกระพุ้งแก้มด้านซ้าย.....	5
3	แสดงลักษณะของรอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากชนิดฝ้าขาว บริเวณเหงือกด้านเพดานปากของพี่น้องรามบนขวาปีที่ 1.....	6
4	แสดงลักษณะของรอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากชนิดฝ่อลีบบริเวณกระพุ้งแก้มด้านขวา.....	6
5	แสดงลักษณะของรอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากชนิดแผลถลอกบริเวณกระพุ้งแก้มด้านซ้าย.....	7
6	แสดงลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของโรคไลเคน แพลนัส โดยการย้อมสีฮีมาทอกซีลิน และอีโอซิน.....	9
7	แสดงการเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์จากปฏิกิริยาที่ให้ผลบวกต่อไฟโบรินเจนเป็นเส้นตามแนวของชั้นเบสเมมเบรน.....	9
8	แสดงกลไกการทำลายเบซัลเซลล์สังเคราะห์เคอราตินโดย CD8 ⁺ ทีเซลล์ ซึ่งเป็นการกำจัดแอนติเจนแบบจำเพาะในโรคไลเคน แพลนัสในช่องปาก.....	10
9	แสดงกลไกการกำจัดแอนติเจนแบบจำเพาะในโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากซึ่งมีความเกี่ยวเนื่องระหว่าง CD4 ⁺ และ CD8 ⁺ ทีเซลล์	11
10	แสดงกลไกของไซโตไคน์ซึ่งมีผลต่อเซลล์ชนิดต่าง ๆ โดยเป็นการกำจัดแอนติเจนแบบไม่จำเพาะในโรคไลเคน แพลนัสในช่องปาก.....	12
11	แสดงการเกิดเรกูลาทอรี ทีเซลล์ชนิดตามธรรมชาติโดยสร้างจากต่อมไทมัส แสดง CD4 ⁺ CD25 ⁺ ส่วนชนิดปรับตัวจะเกิดขึ้นจากการถูกกระตุ้นโดยเดนไดรติกเซลล์ (dendritic cells; DCs) จะเป็นชนิด CD4 ⁺ CD25 ⁻	16
12	แสดงความสามารถในการควบคุมการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อแอนติเจนของตนเองของเรกูลาทอรี ทีเซลล์ โดยจะยับยั้งการทำงานของ CD4 ⁺ ทีเซลล์ซึ่งจะมีผลต่อการทำงานของบีเซลล์ CD8 ⁺ ทีเซลล์ และแมกโครฟาจ (macrophage)	18

ภาพที่		หน้า
13	การวิจัยนำร่องในชั้นเนื้อต่อมทอนซิล เซลล์ที่มีการแสดงออกของ Foxp3 พบการติดสีน้ำตาลที่บริเวณนิวเคลียสของเซลล์ ที่กำลังขยาย 200 เท่า (ภาพซ้าย) และ 400 เท่า (ภาพขวา).....	35
14	การวิจัยนำร่องในชั้นเนื้อต่อมทอนซิล เซลล์ที่มีการแสดงออกของ CD3 พบการติดสีที่เซลล์เมมเบรนเป็นวงสีน้ำตาลล้อมรอบเซลล์ ที่กำลังขยาย 200 เท่า (ภาพซ้าย) และ 400 เท่า (ภาพขวา).....	35
15	การวิจัยนำร่องในชั้นเนื้อต่อมทอนซิล เซลล์ที่มีการแสดงออกของ CD4 พบการติดสีที่เซลล์เมมเบรนเป็นวงสีน้ำตาลล้อมรอบเซลล์ ที่กำลังขยาย 200 เท่า (ภาพซ้าย) และ 400 เท่า (ภาพขวา).....	36
16	การวิจัยนำร่องในชั้นเนื้อต่อมทอนซิล แสดงกลุ่มควบคุมผลลบซึ่งไม่พบการติดสีเมื่อย้อมด้วยวิธีทางอิมมูโนฮิสโตเคมี โดยใช้ PBS แทนที่แอนติบอดี ที่กำลังขยาย 200 เท่า (ภาพซ้าย) และ 400 เท่า (ภาพขวา).....	36
17	แสดงการควบคุมผลลบของชั้นเนื้อโรคไลเคน แพลนัสในช่องปาก (ภาพบน) เนื้อเยื่อปริทันต์อักเสบ (ภาพกลาง) และเนื้อเยื่อปกติ (ภาพล่าง) ที่กำลังขยาย 200 เท่า.....	43
18	พบเซลล์ที่มีการแสดงออกของ Foxp3 เป็นจำนวนมากภายในชั้นลามินา โพรเปรีย ที่กำลังขยาย 100 เท่า.....	44
19	ในรอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากพบเซลล์ที่มีการแสดงออกของ Foxp3 โดยเห็นการติดสีที่นิวเคลียสของเซลล์เป็นจุดสีน้ำตาลที่บ (ภาพบน) สำหรับเซลล์ที่มีการแสดงออกของ CD3 (ภาพกลาง) และ CD4 (ภาพล่าง) พบการติดสีที่เซลล์เมมเบรนเป็นวงสีน้ำตาลล้อมรอบเซลล์ ที่กำลังขยาย 200 เท่า (ภาพซ้าย) และ 400 เท่า (ภาพขวา).....	45
20	ในเนื้อเยื่อปริทันต์อักเสบพบเซลล์ที่มีการแสดงออกของ Foxp3 โดยเห็นการติดสีที่นิวเคลียสของเซลล์เป็นจุดสีน้ำตาลที่บ (ภาพบน) สำหรับเซลล์ที่มีการแสดงออกของ CD3 (ภาพกลาง) และ CD4 (ภาพล่าง) เห็นการติดสีที่เซลล์เมมเบรนเป็นวงสีน้ำตาลล้อมรอบเซลล์ ที่กำลังขยาย 200 เท่า (ภาพซ้าย) และ 400 เท่า (ภาพขวา).....	46

ภาพที่	หน้า
21	47
22	48
23	50
24	51
25	53
26	55
27	57
28	59
29	60

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

ACE inhibitors	angiotensin-converting enzyme inhibitors
AITD	human autoimmune thyroid disease
APC	antigen presenting cell
APS-I	autoimmune polyglandular syndrome type I
APS-II	autoimmune polyglandular syndrome type II
CD	cluster of differentiation
CTL	cytotoxic T cell, CD8 ⁺ T lymphocyte, CD8 ⁺ T cell
ER	estrogen receptor
Foxp3	Forkhead/winged helix transcription factor, forkhead box P3
GITR	glucocorticoid-induced tumor necrosis factor receptor
H&E	hematoxylin and eosin
H ₂ O ₂	Hydrogen peroxide
hpf	high-power visual field
<i>H. pylori</i>	<i>Helicobacter pylori</i>
IBD	inflammatory bowel disease
ICAM-1	inter-cellular adhesion molecule-1
IFN- γ	interferon-gamma
IgG	immunoglobulin G
IgM	immunoglobulin M
IL	interleukin
IPEX syndrome	immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked syndrome
iTreg	adaptive Treg, induced regulatory T cell, interleukin-10 secreting Treg
LFA-1	lymphocyte function-associated antigen-1
LC	Langerhans cell
LE	lupus erythematosus

MG	myasthenia gravis
MHC	major histocompatibility complex
MMP	matrix metalloproteinase
mRNA	messenger RNA
MS	multiple sclerosis
NHS	normal horse serum
NK cell	natural killer cell
NSAID	non-steroid anti-inflammatory drug
nTreg	naturally occurring regulatory T cell
OCT	oxacalcitrone
OLCL	oral lichenoid contact lesion
OLDR	oral lichenoid drug reaction
OLP	oral lichen planus
PBC	primary biliary cirrhosis
PBS	phosphate buffered saline
RANKL	receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand
RANTES	regulated on activation, normal T-cell expressed and secreted
RF	rheumatoid factor
RT-PCR	reverse transcriptase-polymerase chain reaction
SLE	systemic lupus erythematosus
TCR	T cell receptor
TGF- β	transforming growth factor-beta
Th	helper T cell, CD4 ⁺ T lymphocyte, CD4 ⁺ T cell
TNF- α	tumor necrosis factor- α
TNF R1	tumor necrosis factor- α receptor 1
Treg	regulatory T cell
VCAM-1	vascular cell adhesion molecule-1
WHO	World Health Organization

บทที่ 1

บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

โรคไลเคน แพลนัสในช่องปาก (oral lichen planus; OLP) เป็นโรคชนิดไม่ติดเชื้อบริเวณเยื่อช่องปากที่พบได้บ่อย โดยมีลักษณะการอักเสบเรื้อรังบริเวณเยื่อช่องปาก สาเหตุของโรคยังไม่ทราบแน่ชัด แต่มีความเกี่ยวข้องกับการตอบสนองของภูมิคุ้มกันชนิดเซลล์เป็นสื่อ (cell-mediated immune response) โดยเซลล์ที่มีบทบาทในการก่อให้เกิดโรค คือ $CD8^+$ ทีเซลล์ (cytotoxic T cell, $CD8^+$ T lymphocyte; CTL) และ $CD4^+$ ทีเซลล์ (helper T cell, $CD4^+$ T lymphocyte; Th) [1, 2, 3] โรคไลเคน แพลนัสในช่องปากนี้พบประมาณร้อยละ 0.1-4 ของประชากรทั่วไป ในช่วงวัยกลางคนและผู้สูงอายุ [4] โดยพบในเพศหญิงมากกว่าเพศชาย [4, 5]

สำหรับทีเซลล์นั้นเป็นเซลล์ที่มีความเกี่ยวข้องกับการเกิดโรคภูมิคุ้มกันตนเอง (autoimmune disease) หลายชนิดไม่เฉพาะแต่ในโรคไลเคน แพลนัสในช่องปาก โดยกลไกสำคัญของโรคเหล่านี้ คือ สูญเสียการจดจำตนเอง (self) และสิ่งที่ไม่ใช่ตนเอง (non-self) โดยเชื่อว่าระบบภูมิคุ้มกันเหนี่ยวนำให้มีทีเซลล์ที่ทำลายเนื้อเยื่อตนเอง (self reactive T cell, autoreactive T cell) เพื่อทำลายแอนติเจนของตนเอง (self antigen) และเกิดการอักเสบตามมา [6] ซึ่งทีเซลล์ที่จำเพาะต่อแอนติเจนของตนเองนี้จะหลุดรอดออกจากการกำจัดทิ้งโดยต่อมไทมัส (thymic negative selection) ออกมา ทำให้ต้องมีกระบวนการควบคุมทีเซลล์ผิดปกติที่อยู่ภายนอกต่อมไทมัส ซึ่งทำให้ทีเซลล์ที่จำเพาะต่อแอนติเจนของตนเองนั้นมีการทำหน้าที่ และการเพิ่มจำนวนของเซลล์ที่ลดลง คือ การควบคุมโดยเรกูลาทอรี ทีเซลล์ (regulatory T cell; Treg) [7]

เรกูลาทอรี ทีเซลล์อยู่ในกลุ่มของ $CD4^+$ ทีเซลล์ โดยนิยมใช้ฟ็อกซ์พีสาม (forkhead/winged helix transcription factor, forkhead box P3; Foxp3) เป็นตัวบ่งชี้ เนื่องจากพบการแสดงออกของ Foxp3 ได้เฉพาะในเรกูลาทอรี ทีเซลล์เท่านั้น [8, 9] เรกูลาทอรี ทีเซลล์เป็นเซลล์ที่มีความสามารถในการควบคุม รักษาสมดุลของระบบภูมิคุ้มกัน และกวดการทำงานของทีเซลล์ชนิดอื่นที่อาจก่อให้เกิดโรค [6, 7] จึงอาจมีบทบาทในการควบคุมโรคภูมิคุ้มกันตนเอง ดังนั้นการที่ร่างกายเสียสมดุลไม่ว่าจะเป็นการเพิ่มจำนวนหรือเพิ่มการทำงานของทีเซลล์ที่มีการทำลายเนื้อเยื่อตนเอง การลดลงหรือด้อยประสิทธิภาพของกลไกในการควบคุม (regulatory mechanism) ล้วนเป็นสาเหตุของการเกิดภูมิคุ้มกันตนเอง (autoimmunity) แต่ในทางกลับกัน ถ้ากลไกในการควบคุมเพิ่มขึ้นจะทำให้เกิดภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่อง (immunodeficiency) [10]

จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่ามีหลายโรคที่มีความสัมพันธ์กับจำนวนของเรกูลาทอรี ทีเซลล์ที่เปลี่ยนแปลงไป โดยเฉพาะโรคภูมิคุ้มกันต้านทานเนื้อเยื่อตนเอง [8, 10, 11, 12, 13, 14, 15] ซึ่งโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากก็จัดอยู่ในกลุ่มนี้ แต่การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเรกูลาทอรี ทีเซลล์กับโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากยังมีน้อย และยังไม่มีการศึกษาในผู้ป่วยคนไทยมาก่อน นอกจากนี้ในปัจจุบันสาเหตุและกลไกทางภูมิคุ้มกันของโรคไลเคน แพลนัสยังไม่ทราบแน่ชัดจึงเป็นที่น่าสนใจศึกษา เพื่อเป็นส่วนช่วยในการทำความเข้าใจเกี่ยวกับกลไกทางภูมิคุ้มกันของโรคนี้มากขึ้น และอาจเป็นแนวทางในการพัฒนาวิธีการรักษาต่อไปในอนาคต และสามารถใช้อ้างอิงในการศึกษาบทบาทของเรกูลาทอรี ทีเซลล์ในโรคนี้ในแนวลึกต่อไป

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อศึกษาจำนวน Foxp3⁺ เรกูลาทอรี ทีเซลล์ และสัดส่วนของ Foxp3⁺ เรกูลาทอรี ทีเซลล์ต่อ CD3⁺ ทีเซลล์ และต่อ CD4⁺ ทีเซลล์ในรอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปาก โดยพิจารณาจากเซลล์ที่มีการแสดงออกของ Foxp3, CD3 และ CD4 ในระดับเซลล์โดยใช้วิธีการย้อมอิมมูโนฮิสโตเคมี โดยเปรียบเทียบกับเนื้อเยื่อปริทันต์อักเสบและเนื้อเยื่อปกติ

สมมติฐานของการวิจัย

โรคไลเคน แพลนัสในช่องปากมีจำนวน Foxp3⁺ เรกูลาทอรี ทีเซลล์ และสัดส่วนของ Foxp3⁺ เรกูลาทอรี ทีเซลล์ต่อ CD3⁺ ทีเซลล์ และต่อ CD4⁺ ทีเซลล์แตกต่างจากเนื้อเยื่อปริทันต์อักเสบ และเนื้อเยื่อปกติ

ขอบเขตการวิจัย

การวิจัยนี้ทำการศึกษาการแสดงออกของ Foxp3, CD3 และ CD4 โดยการย้อมอิมมูโนฮิสโตเคมีในเนื้อเยื่อของผู้ป่วยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากที่มารับการรักษาที่คลินิกบัณฑิตศึกษา ภาควิชาเวชศาสตร์ช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สำหรับเนื้อเยื่อปริทันต์อักเสบและเนื้อเยื่อปกติได้จากผู้ป่วยที่มารับการรักษาที่คลินิก ศัลยศาสตร์ช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ข้อตกลงเบื้องต้น

เก็บตัวอย่างชิ้นเนื้อจากผู้ป่วยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปาก 20 ตัวอย่าง โดยผู้ป่วยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากในการศึกษานี้ คือ ผู้ป่วยไทยที่ได้รับการวินิจฉัยโรคจากลักษณะทางคลินิก และลักษณะทางจุลพยาธิวิทยา ไม่เคยได้รับการรักษาด้วยยาสเตียรอยด์หรือยาอื่น ๆ ในการรักษารอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปาก หรือหยุดการรักษารอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากอย่างน้อย 1 เดือน นอกจากนี้ ผู้ป่วยต้องไม่มีโรคประจำตัว และไม่ได้อยู่ระหว่างรับประทานยารักษาโรคประจำตัว หรือมีวัสดุทางทันตกรรมใด ๆ ในช่องปากที่สัมผัสกับรอยโรค

สำหรับเนื้อเยื่อปริทันต์อีกเสบ 20 ตัวอย่าง และเนื้อเยื่อปกติ 10 ตัวอย่าง ได้จากอาสาสมัครซึ่งเป็นผู้ป่วยที่มารับการศัลยกรรมช่องปาก ที่ต้องมีการตัดเนื้อเยื่อออกเพื่อการรักษา

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ทราบความสัมพันธ์ของ Foxp3⁺ เรกูลาทอรี ทีเซลล์กับโรคไลเคน แพลนัสในช่องปาก ซึ่งเป็นโรคที่มีการตอบสนองของภูมิคุ้มกันต่อแอนติเจนของตัวเองที่เชื่อว่ามีเกี่ยวข้องกับทีเซลล์ จึงคาดว่าเรกูลาทอรี ทีเซลล์น่าจะมีส่วนในโรคนี้ด้วยเช่นกัน ซึ่งยังมีการศึกษาน้อย และในกลุ่มประชากรไทยยังไม่มีผู้ใดศึกษาเรื่องนี้ จึงคาดว่าการศึกษาครั้งนี้จะได้รับข้อมูลพื้นฐานในระดับเซลล์ที่มีประโยชน์ และจะช่วยให้เข้าใจกลไกของการเกิดโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากมากขึ้น อีกทั้งยังเป็นแนวทางในการพัฒนาวิธีการในการรักษาโรค และสามารถใช้อ้างอิงในการศึกษาบทบาทของเรกูลาทอรี ทีเซลล์ในโรคนี้ในแนวลึกต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

เป็นการวิจัยโดยการสังเกต (observational research) โดยวิเคราะห์และทำการศึกษา ณ จุดเวลาใดเวลาหนึ่ง (cross-sectional analytical design)

ศูนย์วิทยุทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ตอนที่ 1 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับโรคไลเคน แพลนัสในช่องปาก

ระบาดวิทยา

โรคไลเคน แพลนัสในช่องปากเป็นโรคที่มีการอักเสบเรื้อรังบริเวณเยื่อช่องปากซึ่งมีความเกี่ยวข้องกับการตอบสนองของภูมิคุ้มกันชนิดเซลล์เป็นสื่อ สาเหตุของโรคยังไม่ทราบแน่ชัด โดยไลเคน แพลนัสในช่องปากนี้เป็นโรคชนิดไม่ติดเชื้อที่พบได้บ่อยในโรคที่พบบริเวณเยื่อช่องปาก พบประมาณร้อยละ 0.1-4 ของประชากรทั่วไป ส่วนใหญ่อยู่ในช่วงวัยกลางคนและสูงอายุ [1, 3, 4] ผู้ป่วยคนไทยพบในเพศหญิงมากกว่าเพศชาย 3.5:1 โดยประมาณ [5]

โรคไลเคน แพลนัสสามารถพบในบริเวณอื่นของร่างกายได้ เช่น ผิวหนัง อวัยวะเพศ หนังสีรษะ หลอดอาหาร ตา เป็นต้น โดยโรคไลเคน แพลนัสนอกช่องปาก พบได้ร้อยละ 0.9-1.2 ของประชากร [4, 16] และประมาณร้อยละ 28 ของผู้ป่วยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปาก พบว่ามีรอยโรคบริเวณอื่นของร่างกายร่วมด้วย [17]

ลักษณะทางคลินิก

ลักษณะที่แสดงออกทางคลินิกของโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากมีหลายลักษณะ ผู้ป่วยอาจมีอาการเจ็บหรือไม่มีอาการใด ๆ ซึ่งส่วนมากพบว่ารอยโรคสีขาวมักไม่มีอาการเจ็บ แต่สำหรับรอยโรคที่แดงหรือถลอกโดยเฉพาะบริเวณเหงือกที่มีรอยแดงและหลุดลอก (desquamative gingivitis) มักจะทำให้มีอาการปวดแสบปวดร้อนภายในช่องปากร่วมด้วย [1, 4, 18, 19]

ตำแหน่งของรอยโรคพบได้บ่อยสุดในตำแหน่งเยื่อกระพุ้งแก้ม (ร้อยละ 90) โดยมักเป็นทั้ง 2 ข้างพร้อมกัน รองลงมา คือ ลิ้น (ร้อยละ 30) เหงือกหรือสันเหงือก (ร้อยละ 13) แต่พบได้น้อยมากที่เพดานปาก หรือริมฝีปาก [1, 4, 20] ทั้งนี้ในผู้ป่วยรายเดียวกันอาจมีการแสดงออกของรอยโรคหลายลักษณะหรือหลายตำแหน่งพร้อมกันได้

จากรายงานของ Lodi และคณะ [21] ในปี ค.ศ. 2005 ได้แบ่งชนิดของโรคไลเคน แพลนัส ในช่องปากไว้ 5 ชนิด ได้แก่

1. **ร่างแห (reticular)** เป็นชนิดที่พบบมากที่สุด ลักษณะเป็นเส้นสีขาวที่ยกนูนจากการหนาตัวของเคอราติน เรียงตัวคล้ายลายลูกไม้ (lace-like pattern, Wickham's striae) บางครั้งอาจพบเป็นเส้นรัศมีบาง ๆ หรือเป็นวงแหวน (ภาพที่ 1)



ภาพที่ 1 แสดงลักษณะของรอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากชนิดร่างแหบริเวณข้างลิ้นด้านซ้าย (ภาพนี้ได้รับความอนุเคราะห์จากศาสตราจารย์ ทันตแพทย์หญิง กอบกาญจน์ ทองประสม)

2. **ตุ่มตัน (papule)** ลักษณะเป็นตุ่มตันสีขาวขนาดเล็กกระจายหลายตุ่ม (ภาพที่ 2)



ภาพที่ 2 แสดงลักษณะของรอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากชนิดตุ่มตันบริเวณกระพุ้งแก้มด้านซ้าย

(ภาพนี้ได้รับความอนุเคราะห์จากศาสตราจารย์ ทันตแพทย์หญิง กอบกาญจน์ ทองประสม)

3. ฝ้าขาว (plaque) เป็นแผ่นคราบสีขาวนูน รูปร่างไม่แน่นอน เช็ดถูไม่ออก (ภาพที่ 3)



ภาพที่ 3 แสดงลักษณะของรอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากชนิดฝ้าขาว บริเวณเหงือกด้านเพดานปากของพนักงานบริษัทที่ 1 (ภาพนี้ได้รับความอนุเคราะห์จากผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทันตแพทย์หญิง ดร.พรพรรณ พิบูลย์รัตนกิจ)

4. ฝ่อลีบ (atrophic) รอยโรคมีลักษณะแดง เยื่อเมือบางลง มักพบลายเส้นสีขาวกระจายตัวเป็นรัศมีล้อมรอบส่วนที่ฝ่อลีบซึ่งจะเป็นสีแดง (ภาพที่ 4)



ภาพที่ 4 แสดงลักษณะของรอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากชนิดฝ่อลีบบริเวณกระพุ้งแก้มด้านขวา (ภาพนี้ได้รับความอนุเคราะห์จากศาสตราจารย์ ทันตแพทย์หญิง กอบกาญจน์ ทองประสม)

5. **แผลถลอก (ulcerative)** ลักษณะรูปร่างไม่แน่นอน มักมี fibrinous plaque หรือ pseudomembrane ปกคลุมตำแหน่งที่เป็นแผลถลอก อาจพบลายเส้นสีขาวของเคอราติน ลักษณะเป็นร่างแหหรือรัศมีล้อมรอบ (ภาพที่ 5)



ภาพที่ 5 แสดงลักษณะของรอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากชนิดแผลถลอกบริเวณกระพุ้งแก้ม ด้านซ้าย

(ภาพนี้ได้รับความอนุเคราะห์จากศาสตราจารย์ ทันตแพทย์หญิง กอบกาญจน์ ทองประสม)

ความสัมพันธ์กับมะเร็งในช่องปาก

รอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากมีความเสี่ยงในการกลายเป็นมะเร็งในช่องปากได้ ซึ่งในปี ค.ศ. 2007 องค์การอนามัยโลก (World Health Organization; WHO) [22] จัดรอยโรคนี้ไว้ในกลุ่มเสี่ยงที่จะเกิดมะเร็งในช่องปาก (potentially malignant disorder)

จากการศึกษาที่ผ่านมา พบว่าผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากหรือรอยโรคไลเคนอยด์ (lichenoid reaction) มีการเปลี่ยนแปลงไปเป็นมะเร็งเยื่อเมือกเซลล์สความัส (squamous cell carcinoma) ร้อยละ 0.4-5.6 ของผู้ป่วย [19, 23] โดยส่วนมากเป็นรอยโรคไลเคน แพลนัสชนิดแผลถลอกในตำแหน่งกระพุ้งแก้ม ระยะเวลาการกลายเป็นมะเร็งมีตั้งแต่ 15 เดือนถึง 9 ปี [23] ในบางการศึกษาเชื่อว่ารอยโรคที่มีโอกาสสูงในการเปลี่ยนไปเป็นมะเร็งนั้นไม่ใช่รอยโรคไลเคน แพลนัสที่แท้จริง แต่เป็นรอยโรคอีกชนิดหนึ่งโดยนิยามของ Krutchkoff และ Eisenberg ในปี ค.ศ.1985 [24] ที่เรียกว่า ไลเคนอยด์ ดิสเพลเซีย (lichenoid dysplasia) เพื่ออธิบายรอยโรคที่มีลักษณะเหมือนไลเคน แพลนัส แต่มีลักษณะของเซลล์เยื่อเมือกที่มีการเจริญผิดปกติ (epithelial dysplasia) ร่วมด้วย

รอยโรคไลเคนอยด์

รอยโรคชนิดหนึ่งซึ่งมีลักษณะทางคลินิกคล้ายกับโรคไลเคน แพลนัสในช่องปาก แต่มีสาเหตุการเกิดที่แน่นอน และรอยโรคจะมีลักษณะดีขึ้นหรือหายไปเมื่อกำจัดสาเหตุออก เรียกว่า รอยโรคไลเคนอยด์ โดยมีสาเหตุดังนี้

1. รอยโรคไลเคนอยด์ที่มีความสัมพันธ์กับวัสดุทางทันตกรรม (oral lichenoid contact lesion; OLCL) โดยมักพบลักษณะทางคลินิกว่าวัสดุบูรณะฟัน เช่น อมัลกัม (amalgam) ครอบฟันโลหะ (metal crown) หรือฟันปลอมนั้นสัมผัสกับรอยโรค ซึ่งลักษณะทางคลินิกและจุลพยาธิวิทยาคล้ายกับลักษณะรอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากมาก แต่ผู้ป่วยมักได้รับการตรวจพบว่ามีอาการแพ้สารเคมี โลหะ หรือสารประกอบในวัสดุทันตกรรม โดยเฉพาะปรอท (mercury) ซึ่งเป็นสารประกอบในอมัลกัม ผู้ป่วยเหล่านี้รอยโรคมักมีลักษณะดีขึ้นหรือหายไป เมื่อรีดวัสดุอุดอมัลกัมออกแล้วบูรณะด้วยวัสดุชนิดอื่นทดแทน [1, 4, 17]

2. รอยโรคไลเคนอยด์ที่มีความสัมพันธ์กับยา (oral lichenoid drug reaction; OLDR) โดยยาที่มีรายงานว่า เป็นสาเหตุได้บ่อย เช่น ยากลุ่ม non-steroidal anti-inflammatory drug (NSAID), angiotensin-converting enzyme inhibitors (ACE inhibitors), thiazides, diuretics, penicillamine, beta-blockers, quinine, quinidine, para-amino salicylic acid, phenothiazines, carbamazepine, allopurinol, methyl dopa, lorazepam, ketoconazole, streptomycin, levopromazine, flunarizine, gold, dapsone เป็นต้น ซึ่งเมื่อผู้ป่วยหยุดใช้ยาที่ก่อให้เกิดรอยโรคไลเคนอยด์แล้ว รอยโรคจะมีลักษณะดีขึ้นหรือหายไป [1, 4, 17]

ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยา

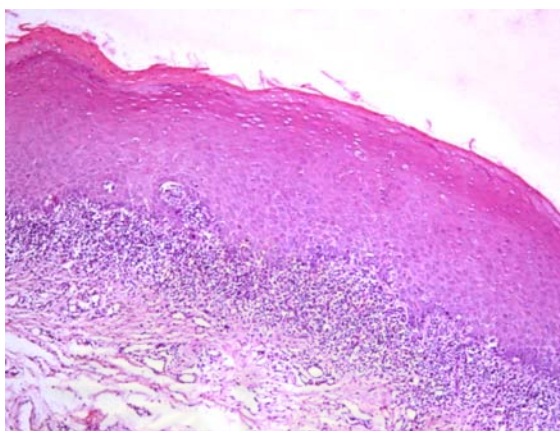
ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของโรคไลเคน แพลนัส (ภาพที่ 6) มีดังต่อไปนี้ [1, 2, 4, 19]

1. การรวมกลุ่มกันเป็นแถบของลิมโฟไซต์ (lymphocytic band) ในชั้นบนของลามินา โพรเปรีเรีย (superficial lamina propria) โดยส่วนมากจะเป็นทีเซลล์

2. ชั้นเบสเมมเบรน (basement membrane) และเบซิลเซลล์สังเคราะห์เคอราติน (basal keratinocyte) มีการสลายตัวเนื่องจากเกิดกระบวนการตายแบบอะพอพอโตซิส (apoptosis) เห็นเป็นลักษณะลิวิเฟคทีฟ ดีเจเนอเรชัน (liquefactive degeneration)

3. มีการหนาตัวของชั้นเคอราตินโดยมักเป็นชนิดที่ยังคงมีนิวเคลียส (nucleus) อยู่บางส่วน เรียกว่า hyperparakeratosis ร่วมกับการหนาตัวของชั้นกรานูลาร์เซลล์ (granular cell layer) และชั้นพริกเกิลเซลล์ (prickle cell layer) เพิ่มมากขึ้น (acanthosis)

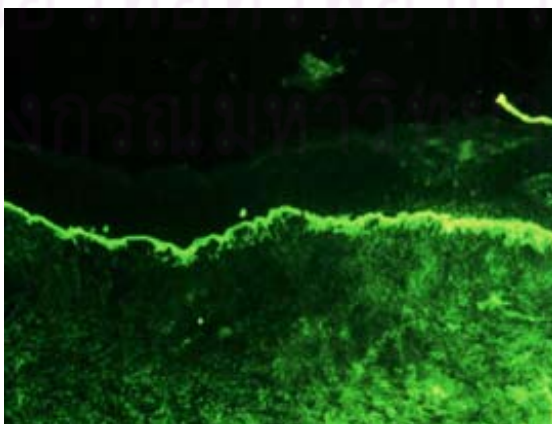
4. พบลักษณะคล้ายฟันเลื่อย (saw tooth appearance) ของส่วนยื่นเยื่อบุผิวรูปหมุด (rete ridge) ในรอยโรคไลเคน แพลนัสที่ผิวหนัง ส่วนรอยโรคในช่องปากส่วนยื่นเยื่อบุผิวรูปหมุดมักไม่แหลม (blunted rete ridge)



ภาพที่ 6 แสดงลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของโรคไลเคน แพลนัส โดยการย้อมสีฮีมาทอกซีลินและอีโอซิน (hematoxylin and eosin; H&E) [25]

การตรวจด้วยวิธีทางอิมมูโนฟลูออเรสเซนซ์

การตรวจด้วยวิธีทางอิมมูโนฟลูออเรสเซนซ์โดยใช้เนื้อเยื่อของผู้ป่วย (direct immunofluorescence) ในรอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากพบว่าการเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์จากปฏิกิริยาที่ให้ผลบวกต่อไฟบริโนเจน (fibrinogen) เห็นเป็นเส้นตรง (linear pattern) ชัดเจนบริเวณเบสเมมเบรน (ภาพที่ 7) ในผู้ป่วยบางรายอาจมีการแสดงออกของอิมมูโนโกลบูลินเอ็ม (immunoglobulin M; IgM) อิมมูโนโกลบูลินจี (immunoglobulin G; IgG) หรือ คอมพลีเมนต์ คอมโพเนนท์ 3 (complement C3) ได้แต่น้อย สำหรับวิธีทางอิมมูโนฟลูออเรสเซนซ์โดยใช้เลือดของผู้ป่วยย้อมลงบนเนื้อเยื่ออื่นที่ไม่ใช่ของผู้ป่วย (indirect immunofluorescence) ไม่นิยมใช้ในการวินิจฉัยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปาก [20]

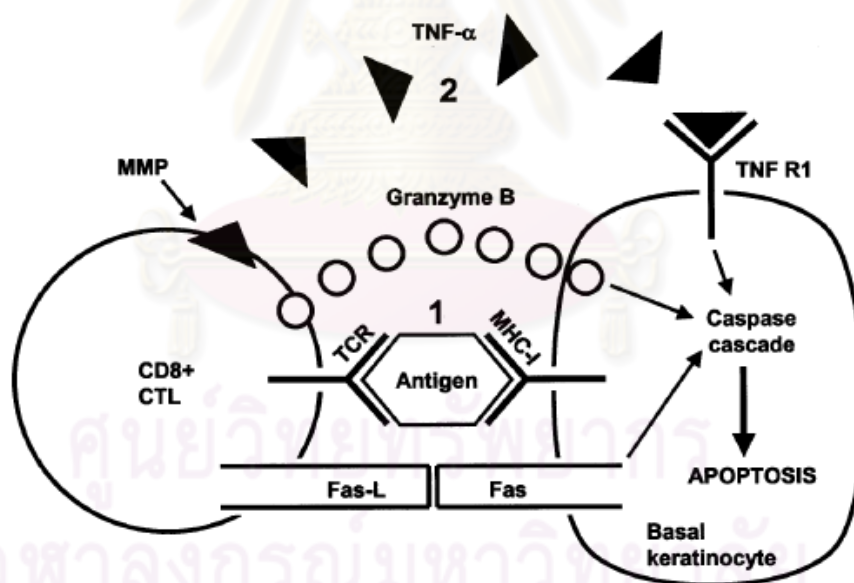


ภาพที่ 7 แสดงการเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์จากปฏิกิริยาที่ให้ผลบวกต่อไฟบริโนเจนเป็นเส้นตามแนวของชั้นเบสเมมเบรน [26]

พยาธิกำเนิด

กลไกการเกิดโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากนั้นมีรายงานว่า การเกิดพยาธิสภาพมีความเกี่ยวข้องกับกลไกกำจัดแอนติเจนแบบจำเพาะ (antigen specificity) โดยการตอบสนองของทีเซลล์ชนิดที่เป็นพิษต่อเซลล์ (cytotoxic T cell) [27] เพื่อกำจัดแอนติเจนที่แสดงโดยเบซัลเซลล์ (basal cell) ผ่านทาง major histocompatibility complex (MHC) class I [20] โดยแอนติเจนบริเวณพื้นผิวของเซลล์สังเคราะห์เคอราติน (keratinocyte surface antigen) เป็นเป้าหมายในการทำลาย เกิดกระบวนการตายแบบอะพอโตซิส โดยมีกลไกดังนี้ [2] (ภาพที่ 8)

1. $CD8^+$ ทีเซลล์จะหลั่งทูเมอร์เนกโครซิสแฟกเตอร์-แอลฟา (tumor necrosis factor- α ; TNF- α) จับกับตัวรับ (receptor) ของทูเมอร์เนกโครซิสแฟกเตอร์ แอลฟา-1 (TNF- α receptor 1; TNF R1) ที่อยู่บนเซลล์สังเคราะห์เคอราติน
2. บนผิวของ $CD8^+$ ทีเซลล์ซึ่งมี CD95L (Fas ligand) จะจับกับ CD95 (Fas) บนผิวของเซลล์สังเคราะห์เคอราติน
3. $CD8^+$ ทีเซลล์หลั่งแกรนไซม์ บี (granzyme B) เข้าสู่เซลล์สังเคราะห์เคอราติน ผ่านทาง perforin-induced membrane pores

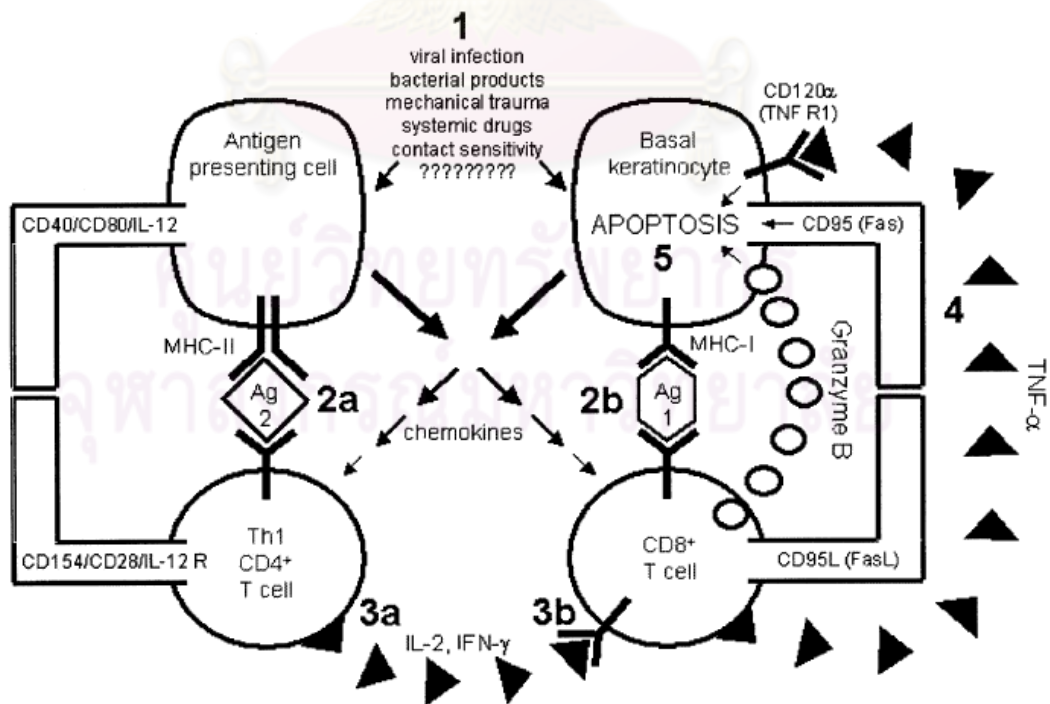


ภาพที่ 8 แสดงกลไกการทำลายเบซัลเซลล์สังเคราะห์เคอราติน โดย $CD8^+$ ทีเซลล์ ซึ่งเป็นกลไกการกำจัดแอนติเจนแบบจำเพาะในโรคไลเคน แพลนัสในช่องปาก [2]

นอกจากนี้ ในรอยโรคยังพบเอนไซม์เมทริกเมทาโลโปรตีเนส (matrix metalloproteinase; MMP) ซึ่งมีบทบาทในการสลายโปรตีน (proteolytic) ในเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (connective tissue) โดยมาจากการหลั่งของทีเซลล์ในบริเวณนั้น [2, 28] ทำให้ทีเซลล์สามารถเคลื่อนผ่านมายังชั้นเยื่อบุผิว เกิดการยึดเกาะระหว่างทีเซลล์กับเซลล์สังเคราะห์เคอราตินซึ่งได้รับการพิสูจน์ว่ามี

ความสำคัญในการเกิดรอยโรค เนื่องจากไซโตไคน์ (cytokine) ที่สร้างจากทั้งทีเซลล์ และเซลล์สังเคราะห์เคอราตินมีอิทธิพลต่อการตอบสนองของภูมิคุ้มกันเฉพาะที่ และอาจทำให้เกิดอาการเรื้อรัง ดังนั้นการปรับเปลี่ยนลักษณะภูมิคุ้มกันเชื่อว่าอาจมีความสามารถในการบำบัดรักษาโรคไลเคนแพลนัสในช่องปากได้ [21]

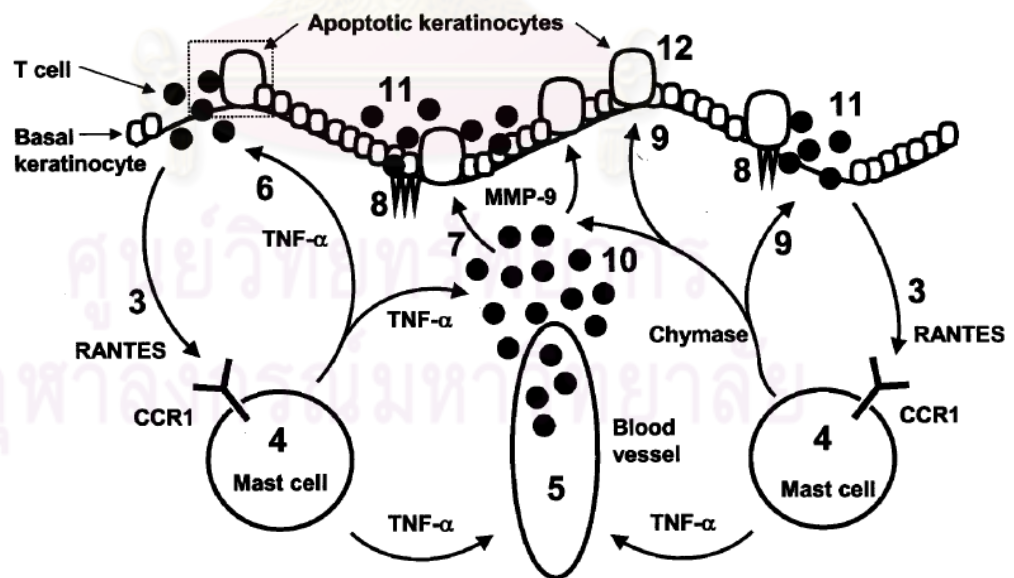
สำหรับ $CD4^+$ ทีเซลล์ มีบทบาทในโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากเช่นกัน คือ ช่วยรักษาสมดุลระหว่างการสนับสนุน (helper) และกดการทำงาน (suppressor) ของระบบภูมิคุ้มกัน นอกจากนี้ยังพบว่า การเกิดรอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากระยะแรกอาจเกิดจากมีการนำเสนอแอนติเจนผ่าน MHC class II โดยแลงเกอร์ฮานส์เซลล์ (Langerhans cell; LC) หรือเซลล์สังเคราะห์เคอราติน ซึ่งเซลล์ที่มีการนำเสนอแอนติเจนเหล่านี้ถูกกระตุ้นโดยปัจจัย เช่น การติดเชื้อไวรัส สารสังเคราะห์จากแบคทีเรีย การบาดเจ็บ ยา หรือการแพ้สิ่งที่สัมผัส เหนี่ยวนำให้มีการสร้างคีโมไคน์ (chemokine) ที่มีผลไปยัง $CD4^+$ และ $CD8^+$ ทีเซลล์ นอกจากนี้จะมีการเพิ่มการแสดงออกของโมเลกุล CD40, CD80 และลิวซินอินเตอร์ลิวคิน-12 (interleukin-12; IL-12) ซึ่งจะไปกระตุ้นให้ $CD4^+$ ทีเซลล์หลั่งอินเตอร์ลิวคิน-2 (interleukin-2; IL-2) และอินเตอร์เฟอรอน-แกมมา (interferon-gamma; IFN- γ) ส่วนเบซัลเซลล์สังเคราะห์เคอราตินจะส่งผ่านแอนติเจนทาง MHC class I ให้กับ $CD8^+$ ทีเซลล์ IFN- γ ที่หลั่งจาก $CD4^+$ ทีเซลล์จะไปกระตุ้น $CD8^+$ ทีเซลล์ให้หลั่ง TNF- α ไปจับกับตัวรับ TNF R1 บนผิวเซลล์สังเคราะห์เคอราติน และกระตุ้นให้เกิดการตายแบบอะพอปโตซิสของเซลล์สังเคราะห์เคอราตินตามมา [2, 3] (ภาพที่ 9)



ภาพที่ 9 แสดงกลไกการกำจัดแอนติเจนแบบจำเพาะในโรคไลเคน แพลนัสในช่องปาก ซึ่งมีความเกี่ยวเนื่องระหว่าง $CD4^+$ และ $CD8^+$ ทีเซลล์ [3]

สำหรับบีเซลล์ (B cell, B lymphocyte) และพลาสมาเซลล์ (plasma cell) พบได้ไม่บ่อยนักในโรคไลเคน แพลนัสในช่องปาก ส่วนการสะสมของอิมมูโนโกลบูลิน (immunoglobulin) และคอมพลีเมนต์ (complement) ไม่มีลักษณะแน่นอน ผู้ป่วยบางรายจะแสดงไฟบริโนเจน และไฟบริน (fibrin) สะสมโดยมีลักษณะเป็นเส้นยาวที่เบสเมมท์เมมเบรน การติดสีที่ลามินิน (laminin) และไฟโบรเนคติน (fibronectin) อาจจะไม่พบในบริเวณที่มีไฟบรินรวมกันหนาแน่น และมีการสร้างคอลลอยด์ บอดี (colloid body, Civatte body) ซึ่งเป็นเซลล์ที่มีเคอราตินที่ผิดปกติ (dyskeratotic cell) โดยจะพบการทำลายของเบสเมมท์เมมเบรนในบริเวณนี้ [18]

นอกจากนี้ยังมีการกลไกกำจัดแอนติเจนแบบไม่จำเพาะ (antigen non-specificity) สามารถอธิบายได้จากการที่คีโมไคน์ RANTES (regulated on activation, normal T-cell expressed and secreted) ที่สร้างจากทีเซลล์หรือเซลล์ชนิดอื่น ๆ เหนี่ยวนำให้แมสต์เซลล์ (mast cell) มีจำนวนเพิ่มขึ้นในรอยโรคไลเคน แพลนัสและทำให้แมสต์เซลล์ปล่อยแกรนูล (degranulation) โดยพบว่าร้อยละ 60 ของจำนวนแมสต์เซลล์ทั้งหมดมีการปล่อยแกรนูล เมื่อเทียบกับเนื้อเยื่อปกติ ซึ่งมีแมสต์เซลล์ที่ปล่อยแกรนูลเพียงร้อยละ 20 [2] นอกจากนี้ มาสต์เซลล์ยังหลั่งไซโตไคน์ เช่น $\text{TNF-}\alpha$ เหนี่ยวนำให้เกิดการยึดเกาะของโมเลกุลที่ผิวของเยื่อหลอดเลือด (endothelium) ซึ่งมีความสามารถในการชักนำทีเซลล์ให้เข้ามารวมกันที่บริเวณเนื้อเยื่อ [28, 29] และเชื่อว่าแมสต์เซลล์มีบทบาทในการทำให้เบสเมมท์เมมเบรนของเยื่อบุผิวฉีกขาด ทำให้ CD8^+ ทีเซลล์เคลื่อนผ่านเบสเมมท์เมมเบรนเข้ามาภายในชั้นเยื่อบุผิว [2] (ภาพที่ 10)



ภาพที่ 10 แสดงกลไกของไซโตไคน์ซึ่งมีผลต่อเซลล์ชนิดต่าง ๆ โดยเป็นการกำจัดแอนติเจนแบบไม่จำเพาะในโรคไลเคน แพลนัสในช่องปาก [2]

ไซโตไคน์นั้นมีความสำคัญในกลไกการเกิดโรคไลเคน แพลนัสมาก นอกจากคือโมโคโคไรน RANTES แล้ว [2] ไซโตไคน์ชนิดอื่นที่มีบทบาทสำคัญ ได้แก่ TNF- α พบว่ามีปริมาณสูงขึ้นในซีรัมของผู้ป่วยไลเคน แพลนัส [30] นอกจากนี้ยังพบโมโนนิวเคลียร์เซลล์ (mononuclear cell) ที่มีการแสดงออกของ TNF- α และ IFN- γ บนผิวเซลล์เพิ่มจำนวนมากขึ้นในรอยโรค [31, 32] ซึ่งอาจเกิดจากระดับแอนติเจนที่สูง และการหลั่ง IL-12 โดยเซลล์นำเสนอแอนติเจน (antigen presenting cell; APC) ที่ผ่านทาง MHC class II ในรอยโรคอาจเหนี่ยวนำให้ CD4⁺ ที่เซลล์หลั่ง IFN- γ และ IL-2 ซึ่งกระตุ้นให้ CD8⁺ ที่เซลล์สร้าง TNF- α แล้วทำให้เซลล์สังเคราะห์เคอราตินเกิดกระบวนการตายแบบอะพอโตซิสตามมา [2]

สำหรับไซโตไคน์อีกชนิดหนึ่ง คือ ทรานส์ฟอร์มมิง โกรวท์ แฟกเตอร์-เบต้า (transforming growth factor-beta; TGF- β) มีบทบาทเกี่ยวข้องกับการกดภูมิคุ้มกัน (immunosuppression) ต่อแอนติเจนของตนเอง (self antigen) ซึ่ง TGF- β จะกดการแบ่งตัว การเจริญเติบโต และการหลั่งไซโตไคน์ของ effector ที่เซลล์ จึงเชื่อว่าโรคไลเคน แพลนัสที่เรื้อรังอาจเกิดจากการขาด TGF- β หรือการขาดสมดุลระหว่าง TGF- β กับ IFN- γ เนื่องจาก IFN- γ ยับยั้งการกดภูมิคุ้มกันของ TGF- β เพิ่มการแสดงออกของ MHC class II ในเซลล์สังเคราะห์เคอราติน และกระตุ้นการทำงานของ CD8⁺ ที่เซลล์ [2]

จากลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาเห็นได้ว่าการวินิจฉัยที่สำคัญของโรคไลเคน แพลนัสในช่องปาก คือ พบว่ามีกรวมกลุ่มกันของเซลล์จำพวกลิมโฟไซต์ในชั้นบนของชั้นลามินา โพรเปรีย ซึ่งจะทำลายเบซิลเซลล์สังเคราะห์เคอราตินและเบสเมทเมมเบรน โดยสามารถระบุลิมโฟไซต์ชนิดต่าง ๆ ได้จากการแสดงออกของโมเลกุลที่ยึดเกาะ (adhesion molecule) ที่หลากหลาย ซึ่งเป็นโปรตีนที่ใช้ในการยึดเกาะระหว่างเซลล์เม็ดเลือดขาว (white blood cell) กับผนังหลอดเลือดและสารภายนอกเซลล์ (extracellular matrix) [33] ลิมโฟไซต์ที่พบในรอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากส่วนใหญ่เป็นที่เซลล์ที่มีการแสดงออกของ cluster of differentiation (CD) 4 และ CD 8 โดยพบว่า CD8⁺ ที่เซลล์มักมีจำนวนมากกว่า CD4⁺ ที่เซลล์ [4, 33] อย่างไรก็ตาม CD4⁺ ที่เซลล์นั้นอาจมีจำนวนมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับการดำเนินของโรค โดยในช่วงที่เกิดรอยโรคระยะแรกจะมี CD4⁺ ที่เซลล์จำนวนมาก ในขณะที่ CD8⁺ ที่เซลล์มักพบจำนวนมากในรอยโรคที่เป็นมานานแล้ว [4] และ CD8⁺ ที่เซลล์มักพบในชั้นบนของชั้นใต้เยื่อบุผิวใกล้เบสเมทเมมเบรน แต่ CD4⁺ ที่เซลล์มักพบในชั้นลามินา โพรเปรียที่อยู่ลึกกว่า [4, 29] นอกจากนี้ในรอยโรคไลเคน แพลนัสยังพบเซลล์ที่มีการแสดงออกของโมเลกุลที่ยึดเกาะอื่นๆ เช่น CD1a, lymphocyte function-associated antigen-1 (LFA-1, CD11a/ CD18), inter-cellular adhesion molecule-1 (ICAM-1, CD54), vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1, CD106) [33]

การรักษา

การรักษาโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากนั้น ถ้าผู้ป่วยไม่ได้มีอาการใด ๆ อาจไม่ต้องทำการรักษา แต่จำเป็นต้องได้รับการติดตามดูอาการอย่างสม่ำเสมอ เพื่อเริ่มให้การรักษาดังแต่เนิ่น ๆ เมื่อผู้ป่วยเริ่มมีอาการ สำหรับผู้ป่วยที่มีอาการนั้นมีวิธีการรักษาที่หลากหลาย โดยวิธีที่ยอมรับว่าได้ผลดีที่สุด คือ การใช้คอร์ติโคสเตียรอยด์ (corticosteroid) โดยคอร์ติโคสเตียรอยด์ชนิดทาเฉพาะที่ (topical corticosteroid) เป็นวิธีที่ปลอดภัยและได้ผลดีที่สุดในการรักษารอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปาก มีทั้งในรูปแบบครีม (cream) ขี้ผึ้ง (ointment) หรือเจล (gel) โดยยาบริเวณเยื่อบุที่มีรอยโรคปรากฏ ชนิดที่นิยมใช้ในการรักษา เช่น ฟลูออซิโนนไนด์ (fluocinonide) โคลเบทาโซล โพรปิโอเนต (clobetasol propionate) ไทรแอมซิโนโลน อะเซตไนด์ (triamcinolone acetonide) บีตาเมทาโซน (betamethasone) เป็นต้น นอกจากนี้ ยังมีชนิดฉีดเข้าไปในรอยโรค (intralesional corticosteroid) ซึ่งมักใช้ในรอยโรคชนิดแผลถลอกที่ไม่ตอบสนองต่อคอร์ติโคสเตียรอยด์ชนิดทาเฉพาะที่ ส่วนชนิดทางระบบ (systemic corticosteroid) ใช้ในรอยโรคที่รุนแรง มีหลายตำแหน่งหรือกระจายกว้างเท่านั้น เนื่องจากมีผลข้างเคียงมากและสามารถกดการทำงานของต่อมหมวกไต (adrenal suppression) ดังนั้นผู้ป่วยที่ได้รับคอร์ติโคสเตียรอยด์เป็นเวลานานควรได้รับการติดตามอย่างใกล้ชิด เนื่องจากอาจมีผลอันไม่พึงประสงค์ของยาทางระบบหรือเฉพาะที่ เช่น การติดเชื้อราแคนดิดา (candidiasis) บริเวณเยื่อบุผิวที่สัมผัสยา [4, 17, 19, 34, 35]

สำหรับการรักษาอื่น ๆ ที่เป็นทางเลือกในการรักษาโรคไลเคน แพลนัสได้ เช่น สารกลุ่มเรตินอยด์ (retinoid) นิยมใช้ในการรักษารอยโรคไลเคน แพลนัสชนิดร่างแหสีขาวและไม่มีอาการใด ๆ ในกลุ่มนี้ยาที่นิยมใช้มากที่สุด คือ เทเรติโนอิน (tretinoin) นอกจากนี้ยังมีการใช้ยากดภูมิคุ้มกัน เช่น ไซโคลสปอริน (cyclosporine) เพื่อกดภูมิคุ้มกันและลดการสร้างไซโตไคน์ เช่น IFN- γ โดยยับยั้งการเพิ่มจำนวนและการทำงานของทีเซลล์ สำหรับการศัลยกรรมโดยใช้ความเย็น (cryosurgery) หรือการใช้เลเซอร์คาร์บอนไดออกไซด์ (carbon dioxide laser) ก็สามารถใช้ในการรักษารอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากได้เช่นกัน แต่ไม่ใช่ทางเลือกอันดับแรก เนื่องจากการรักษาชนิดนี้อาจทำให้เกิดการอักเสบตามมา และไม่เหมาะในการรักษารอยโรคชนิดแผลถลอกหรือฝ่อลีบ เนื่องจากยังทำให้เยื่อบุผิวถลอกมากขึ้น แต่มักใช้ในรอยโรคชนิดฝ้าขาวมากกว่า [17, 19]

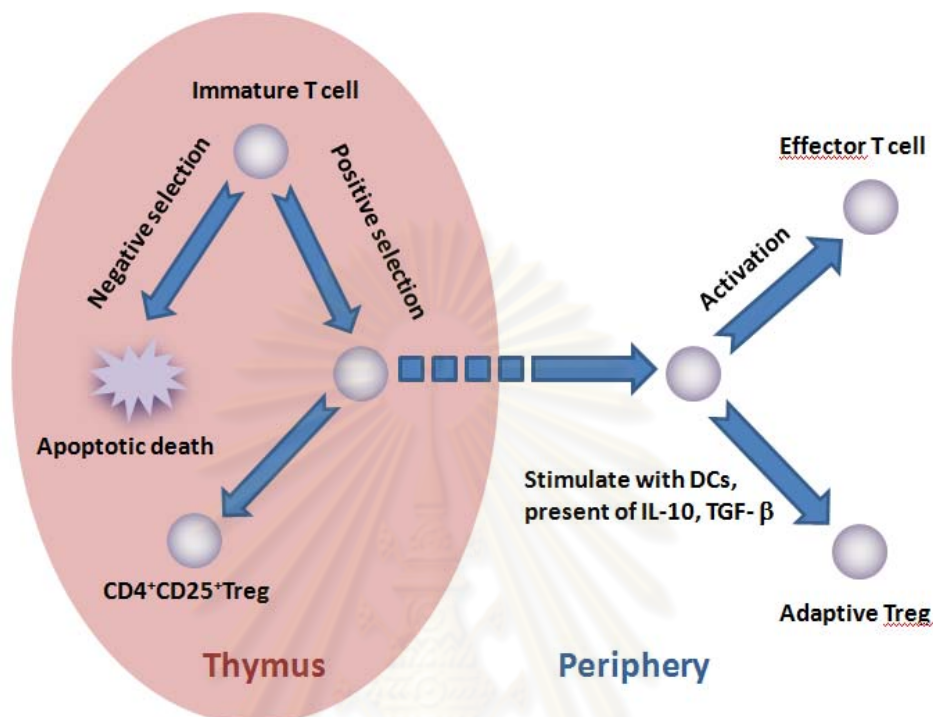
ตอนที่ 2 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับเรกูลาทอรี ทีเซลล์

ทีเซลล์เป็นเซลล์ที่มีความเกี่ยวข้องกับโรคภูมิคุ้มกันต้านทานเนื้อเยื่อตนเอง (autoimmune disease) หลายชนิดไม่เฉพาะแต่ในโรคไลเคน แพลนัสในช่องปาก โดยกลไกสำคัญของโรคเหล่านี้คือ สูญเสียการจดจำตนเองและสิ่งที่ไม่ใช่ตนเอง โดยเชื่อว่าระบบภูมิคุ้มกันเหนี่ยวนำให้มีทีเซลล์ที่ทำลายเนื้อเยื่อตนเองเพื่อทำลายแอนติเจนของตนเองและเกิดการอักเสบตามมา เนื่องจากล้มเหลวในการกำจัดเซลล์ที่จำเพาะต่อแอนติเจนของตนเอง [6]

ในขณะที่ทีเซลล์เจริญเติบโตในต่อมไทมัส (thymus) นั้น ทีเซลล์ที่ยังไม่เจริญเติบโตเต็มที่ จะแสดงฐานรับบนทีเซลล์ (T cell receptor; TCR) มากมายซึ่งสร้างโดยสุมุการเรียงตัวของสายฐานรับบนทีเซลล์-แอลฟา (TCR- α) และฐานรับบนทีเซลล์-เบต้า (TCR- β) แต่ทีเซลล์ที่มี TCR ซึ่งจดจำ MHC ที่สัมพันธ์กับเปปไทด์ของตนเอง (self peptides) ร่วมกับมีการดึงดูระดับปานกลาง (moderate affinity) เท่านั้นที่จะสามารถแปรรูป (differentiate) ได้ ซึ่งส่วนนี้ถือได้ว่าเป็น “positive selection” แต่สำหรับทีเซลล์ที่มี TCR ล้มเหลวในการจับกับ MHC/self peptide complex และทีเซลล์ที่มี TCR ซึ่งจับกับ MHC/self-peptide complex ด้วยพันธะที่แข็งแรงเกินไป จะถูกโปรแกรมให้ตายไป (program cell death) หรือเป็น “negative selection” นั่นเอง แต่การกำจัดนี้ไม่มีความสามารถเพียงพอที่จะควบคุมทีเซลล์ที่จำเพาะต่อแอนติเจนของตนเอง หรือไม่ สามารถป้องกันการเกิดโรคภูมิคุ้มกันต้านทานเนื้อเยื่อตนเองได้ ดังนั้นทีเซลล์ที่จำเพาะต่อแอนติเจนของตนเองจะหลุดรอดออกจากการกำจัดทิ้งโดยต่อมไทมัสออกมา ทำให้ต้องมีขบวนการควบคุมทีเซลล์ผิดปกติที่อยู่ภายนอกต่อมไทมัส โดยการทำให้เซลล์นั้นขาดพลังงานโดยทีเซลล์ไม่ตายแต่ไม่สามารถทำงานได้ตามปกติ นอกจากนี้ ยังมีการควบคุมอีกอย่างที่เด่นชัดซึ่งทำให้ทีเซลล์ที่จำเพาะต่อแอนติเจนของตนเองนั้นมีการทำหน้าที่และการเพิ่มจำนวนเซลล์ที่ลดลง คือ การควบคุมโดยเรกูลาทอรี ทีเซลล์ เนื่องจากเชื่อว่าการที่เรกูลาทอรี ทีเซลล์ขาดความสามารถหรือถูกกำจัดออกไปจะทำให้สูญเสียการไม่ตอบสนองต่อเนื้อเยื่อตนเอง (self tolerance) เป็นสาเหตุให้เกิดโรคภูมิคุ้มกันต้านทานเนื้อเยื่อตนเองมากมาย [7]

เรกูลาทอรี ทีเซลล์หรือเรียกว่า suppressor ทีเซลล์ เป็นทีเซลล์ที่ทำหน้าที่ควบคุมการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกัน โดยเชื่อว่าการที่เรกูลาทอรี ทีเซลล์มีจำนวนไม่เพียงพอหรือมีการทำงานที่ผิดปกติจะส่งผลให้เกิดโรคภูมิคุ้มกันต้านทานเนื้อเยื่อตนเอง [8] เนื่องจากเรกูลาทอรี ทีเซลล์มีบทบาทในการควบคุมภูมิคุ้มกันพยาธิกำเนิด (immunopathogenesis) ของโรคภูมิคุ้มกันต้านทานเนื้อเยื่อตนเอง จากความสามารถในการลดการเพิ่มจำนวน (proliferation) ของทีเซลล์ชนิดที่ไม่เคยรับรู้แอนติเจน (naïve T cell) และควบคุมจำนวน CD4⁺ และ CD8⁺ ทีเซลล์ในระบบน้ำเหลือง [36, 37]

เรกูลาทอรี ทีเซลล์สามารถแบ่งได้เป็น 2 ชนิด คือ ชนิดที่เกิดตามธรรมชาติ (naturally occurring Treg; nTreg) และชนิดปรับตัว (adaptive Treg, induced regulatory T cell, interleukin-10 secreting Treg; iTreg) [8] (ภาพที่ 11)



ภาพที่ 11 แสดงการเกิดเรกูลาทอรี ทีเซลล์ชนิดตามธรรมชาติโดยสร้างจากต่อมไทมัสแสดง $CD4^+CD25^+$ ส่วนชนิดปรับตัวจะเกิดขึ้นจากการถูกกระตุ้นโดยเดนไดรติกเซลล์ (dendritic cells; DCs) จะเป็นชนิด $CD4^+CD25^-$ [38]

เรกูลาทอรี ทีเซลล์ชนิดที่เกิดตามธรรมชาติ คือ $CD4^+CD25^+$ เรกูลาทอรี ทีเซลล์ถูกสร้างจากต่อมไทมัสแล้วไปอยู่ตามต่อมน้ำเหลืองบริเวณต่าง ๆ ของร่างกาย [36] ซึ่ง $CD25$ นี้เป็นสายอัลฟาของตัวรับอินเตอร์ลิวคิน-2 (interleukin-2 receptor α -chain) โดยทีเซลล์ที่มีการแสดงออกของ $CD25$ นี้จะกีดการทำงานของทีเซลล์ชนิดอื่น ๆ โดยการสัมผัสระหว่างเซลล์ (cell-cell contact) [39] และพบว่า $CD25^+$ ทีเซลล์ เช่น ชนิด $CD4^+CD25^+CD45RB^{low}$ ทีเซลล์ สามารถควบคุมการเกิดลำไส้อักเสบ (colitis) ได้ [40] ซึ่งกลไกการทำงานเหล่านี้จะไม่ขึ้นกับไซโตไคน์ (cytokine-independent) เพื่อควบคุมการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันให้มีความพอดี [8, 39] นอกจากนี้ยังพบว่าสามารถควบคุมโรคภูมิคุ้มกันต้านทานเนื้อเยื่อตนเองหลายชนิดที่เกิดภายหลังการหายไปของต่อมไทมัสเมื่อแรกเกิด [8] โดยมีบทบาทในการควบคุมทั้งระบบภูมิคุ้มกันชนิดที่มีอยู่แล้วโดยกำเนิด (innate immune system) และชนิดที่ได้รับมาภายหลัง (adaptive หรือ acquired immune system) [9]

ส่วนเรกูลาทอรี ทีเซลล์ชนิดปรับตัวซึ่งมี $CD4^+CD25^-CD45RB^{low}$ อาจมีความสามารถในการควบคุมการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันได้ โดยการสร้างอินเตอร์ลิวคิน-10 (interleukin-10; IL-10) และ $TGF-\beta$ ซึ่งจะทำหน้าที่กดภูมิคุ้มกันของทีเซลล์ชนิดที่ไม่เคยรับรู้แอนติเจน และทีเซลล์ชนิดจดจำ (memory T cell) แต่มีงานวิจัยน้อยมากที่รายงานเกี่ยวกับเรื่องนี้ [41] อย่างไรก็ตามเรกูลาทอรี ทีเซลล์ชนิดนี้จะสามารถเปลี่ยนเป็น $CD4^+CD25^+$ ทีเซลล์ได้เมื่อถูกกระตุ้นโดย $TGF-\beta$ [42]

ตัวบ่งชี้ของเรกูลาทอรี ทีเซลล์

มีความพยายามในการหาตัวบ่งชี้ที่มีความเฉพาะของเรกูลาทอรี ทีเซลล์ การตรวจพบว่ามีตัวบ่งชี้บนผิวเซลล์ (cell surface marker) คือ $CD4^+CD25^+$ หรือโมเลกุลอื่น ๆ เช่น $CD5^{high}$, $CD45RB/RC^{low}$, $RT6.1^+$ ไม่ใช่สิ่งชี้เฉพาะความเป็นเรกูลาทอรี ทีเซลล์ [7] เนื่องจากพบว่าทีเซลล์ที่ถูกกระตุ้น (activated T cell) มีการแสดงออกของ $CD25$ ได้เช่นกัน และไม่ได้มีบทบาทในการควบคุมการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันชัดเจน นอกจากนี้ยังมีโมเลกุลบ่งชี้ความเป็นเรกูลาทอรี ทีเซลล์อีกตัวหนึ่งที่นักวิชาการให้ความสนใจกัน คือ glucocorticoid-induced tumor necrosis factor receptor (GITR) ซึ่งอยู่ในตระกูลเดียวกับตัวรับ TNF (TNF receptor superfamily) โดยพบการแสดงออกใน $CD4^+CD25^+$ ทีเซลล์หลายเซลล์ [43] แต่มีการแสดงออกในระดับน้อยหรือปานกลางเท่านั้น และภายหลังพบว่า GITR ไม่ได้แสดงออกเฉพาะในเรกูลาทอรี ทีเซลล์เท่านั้น แต่พบในทีเซลล์ที่ถูกกระตุ้นด้วย [8]

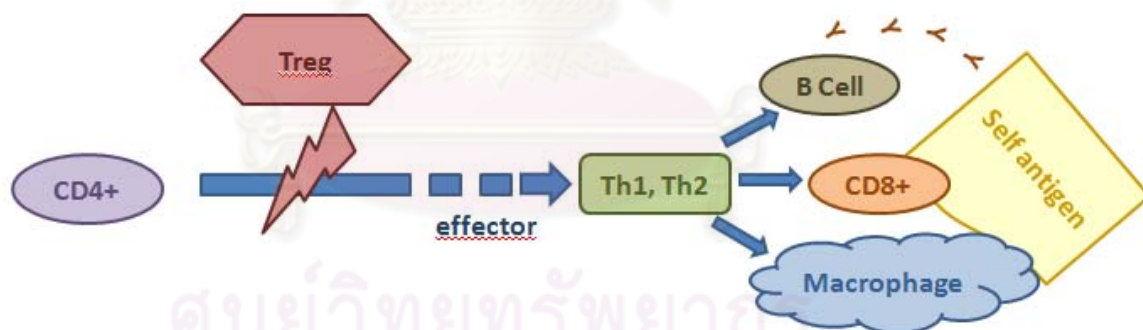
ในปัจจุบันโมเลกุลที่นักวิชาการให้ความสนใจมากที่สุด คือ Foxp3 ซึ่งอยู่ในกลุ่ม Forkhead winged helix protein family ของ transcription factor ซึ่งพบว่าเป็นตัวบ่งชี้สำคัญของเรกูลาทอรี ทีเซลล์ชนิดที่เกิดตามธรรมชาติ [9] โดยพบว่า $CD4^+CD25^{high}$ ทีเซลล์ส่วนใหญ่มีการแสดงออกของ Foxp3 และเกือบทั้งหมดของเซลล์ที่มีการแสดงออกของ Foxp3 นั้นเป็น $CD4^+CD25^+$ ทีเซลล์ [8]

ดังนั้นเรกูลาทอรี ทีเซลล์ชนิดที่เกิดตามธรรมชาติที่สร้างจากต่อมไทมัสจะเป็น $CD4^+CD25^+Foxp3^+$ ทีเซลล์ ซึ่งต่างจากเรกูลาทอรี ทีเซลล์ ชนิดอื่น ๆ ที่พัฒนาภายในต่อมน้ำเหลืองอื่น ๆ ทั่วร่างกายที่เป็นเรกูลาทอรี ทีเซลล์ชนิดปรับตัว มักไม่มีการแสดงออกของ Foxp3 อย่างไรก็ตาม $CD4^+CD25^-$ ทีเซลล์เหล่านี้สามารถกลายเป็น $CD4^+CD25^+Foxp3^+$ เรกูลาทอรี ทีเซลล์ได้เช่นกัน เมื่อได้รับการกระตุ้นจากแอนติเจน เช่น การนำเสนอโดยเดนไดรติกเซลล์ร่วมกับไซโตไคน์ เช่น IL-10 และ $TGF-\beta$ โดย $TGF-\beta$ นั้นไม่ได้เห็นย่นำให้เกิดการแสดงออกของ Foxp3 โดยตรง แต่มีความสามารถที่จะเลือกเซลล์ที่มี $CD25^-Foxp3^+$ มาเป็นตัวเริ่มต้นในการเพิ่มจำนวนเซลล์ [42]

สำหรับปริมาณของเรกูลาทอรี ทีเซลล์ในร่างกายนั้น Itoh และคณะ [37] ในปี ค.ศ. 1999 ตรวจสอบการแสดงออกของ Foxp3 messenger RNA (mRNA) ในต่อมไทมัส และบริเวณส่วนอื่น ๆ ของร่างกายในหนูปกติ โดยใช้วิธี reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR) พบ $CD25^+CD4^+$ เรกูลาทอรี ทีเซลล์ คิดเป็นร้อยละ 5 ของ $CD4^+$ ทีเซลล์ในต่อมไทมัส

ในต่อมไทมัสพบเซลล์ที่มีการแสดงออกของ Foxp3 ได้อย่างเด่นชัดใน $CD25^+CD4^+CD8^-$ ทีเซลล์โดยไม่พบในทีเซลล์กลุ่มอื่น ส่วนนอกต่อมไทมัสนั้นพบจำนวน $CD4^+$ ทีเซลล์ที่มีการแสดงออกของ CD25 ด้วย ร้อยละ 5-10 ของ $CD4^+$ ทีเซลล์ทั้งหมด [9, 44] และพบว่า ระดับของ Foxp3 mRNA ใน $CD25^+CD4^+$ ทีเซลล์มีมากเป็น 100 เท่าของ $CD25^-CD4^+$ ทีเซลล์ซึ่งการที่ $CD25^-CD4^+$ ทีเซลล์มีการแสดงออกของ Foxp3 mRNA ในระดับต่ำนี้เป็นการยืนยันว่าการแสดงออกของ Foxp3 นั้นจำกัดอยู่แค่ในกลุ่ม $CD25^+CD4^+$ ทีเซลล์ทั้งในต่อมไทมัสและส่วนอื่นของร่างกาย [44]

ปัจจุบันเชื่อกันว่า $Foxp3^+CD4^+CD25^+$ เรกูลาทอรี ทีเซลล์มีความสำคัญในการควบคุมไม่ให้ภูมิคุ้มกันของร่างกายทำลายเนื้อเยื่อตนเอง โดยกดการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน และช่วยไม่ให้เกิดการตอบสนองต่อแอนติเจนเฉพาะอย่าง (immune tolerance) [6] เช่น ในการปลูกถ่ายเนื้อเยื่อ เรกูลาทอรี ทีเซลล์จะยับยั้ง effector ทีเซลล์ไม่ให้ร่างกายปฏิเสธเนื้อเยื่อที่ปลูกถ่าย (ภาพที่ 12) นอกจากนี้ เรกูลาทอรี ทีเซลล์ยังหลั่งไซโตไคน์ที่ใช้กดภูมิคุ้มกันบางชนิดอีกด้วย [7]



ภาพที่ 12 แสดงความสามารถในการควบคุมการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อแอนติเจนของตนเองของเรกูลาทอรี ทีเซลล์ โดยจะยับยั้งการทำงานของ $CD4^+$ ทีเซลล์ซึ่งจะมีผลต่อการทำงานของบีเซลล์ $CD8^+$ ทีเซลล์ และแมกโครฟาจ (macrophage) [7]

บทบาทของเรกูลาทอรี ทีเซลล์

เรกูลาทอรี ทีเซลล์มีบทบาทในการควบคุมระบบภูมิคุ้มกันโดยมีผลต่อการทำงานของทีเซลล์ ส่วนที่สำคัญที่สุดและเป็นตัวควบคุมการทำหน้าที่ของเรกูลาทอรี ทีเซลล์ คือ *Foxp3* transcription factor โดยจะเห็นได้จากการมีโรคภูมิคุ้มกันต้านทานเนื้อเยื่อตนเองเกิดขึ้นในหนูสเคอร์ฟี (Scurfy mouse) ซึ่งมีการผ่าเหล่า (mutation) ของจีน (gene) *Foxp3* ทำให้มีการเพิ่มจำนวนมากผิดปกติของ $CD4^+CD8^-$ ทีเซลล์โดยขาดการควบคุม และเกิดโรคภูมิคุ้มกันต้านทานเนื้อเยื่อตนเองขึ้นมา หนูเหล่านี้จะมีลักษณะต่อมน้ำเหลืองโต (lymphadenopathy) ม้ามโต (splenomegaly) และมีลิมโฟไซต์มากมายกระจายอยู่ตามอวัยวะต่าง ๆ [11, 45]

สำหรับในมนุษย์นั้นการผ่าเหล่าของจีน *Foxp3* จะทำให้เกิด immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked syndrome (IPEX syndrome) ซึ่งเป็นกลุ่มอาการที่ถ่ายทอดทางกรรมพันธุ์ X-linked recessive โดยผู้ป่วย IPEX syndrome จะมีระดับ $CD4^+CD25^+$ ทีเซลล์ปกติเหมือนผู้ที่มีสุขภาพดี แต่มีการแสดงออกของ *Foxp3* น้อยมากหรือไม่มีเลย [12] ทำให้เรกูลาทอรี ทีเซลล์ไม่มีความสามารถพอในการทำหน้าที่ควบคุมระบบภูมิคุ้มกัน [36, 46] ส่งผลให้ผู้ป่วยเกิดโรคหลายชนิด เช่น โรคท้องเสียเรื้อรัง (protracted diarrhea) โรคผิวหนังอักเสบชนิดเป็นเกล็ด (ichthyosiform dermatitis) โรคเบาหวานชนิดที่ 1 (type 1 diabetes mellitus) โรคต่อมไทรอยด์อักเสบ (thyroiditis) โรคโลหิตจางเม็ดเลือดแดงแตกง่าย (hemolytic anemia) และโรคไต (nephropathy) [46]

ในการที่จะควบคุมทีเซลล์ที่จำเพาะต่อแอนติเจนของตนเอง ซึ่งหลุดรอดออกจากการกำจัดโดยต่อมไทมัส ทีเซลล์เหล่านี้จะถูกกักการทำงานตามส่วนต่าง ๆ ของร่างกายโดยเรกูลาทอรี ทีเซลล์ชนิดที่เกิดตามธรรมชาติ ซึ่งเป็นเซลล์ที่มีน้อยมากในจำนวนเซลล์ทั้งหมดที่มีการผลิตโดยต่อมไทมัส และเป็นส่วนหนึ่งของทีเซลล์ที่เจริญเติบโตเต็มที่และสามารถทำงานได้ [37] จากการศึกษาในสัตว์กัดแทะ (rodent) พบว่าถ้าเรกูลาทอรี ทีเซลล์มีจำนวนลดลงหรือมีการทำงานเปลี่ยนแปลงไป จะส่งผลให้เกิดโรคภูมิคุ้มกันต้านทานเนื้อเยื่อตนเองได้ นอกจากนี้ ยังพบว่าเรกูลาทอรี ทีเซลล์ช่วยควบคุมสมดุลในการตอบสนองต่อแอนติเจน โดยจะช่วยป้องกันโรคลำไส้อักเสบ (inflammatory bowel disease; IBD) และโรคภูมิแพ้ (allergy) ในสัตว์กัดแทะ [44]

ทั้งนี้ระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายเป็นสมดุลระหว่างการตอบสนองและกระบวนการควบคุม การตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกัน การที่ร่างกายเสียสมดุลไม่ว่าจะเป็นการเพิ่มจำนวนหรือเพิ่มการทำงานของเซลล์ที่มีการทำลายเนื้อเยื่อตนเอง หรือจากการลดลงหรือด้อยประสิทธิภาพของกลไกในการควบคุม ล้วนเป็นสาเหตุของการเกิดภูมิคุ้มกันต้านทานเนื้อเยื่อตนเองแต่ในทางกลับกัน เช่น กลไกในการควบคุมเพิ่มขึ้นจะทำให้เกิดภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่องได้ [10]

ความสำคัญ บทบาท และการแสดงออกของเรกูลาทอรี ทีเซลล์ ในโรคต่าง ๆ จากการศึกษาที่ผ่านมา มีดังนี้

1. เรกูลาทอรี ทีเซลล์ในโรคที่มีสาเหตุจากการติดเชื้อ

สำหรับโรคที่มีสาเหตุจากการติดเชื้อ เรกูลาทอรี ทีเซลล์มีส่วนในการจำกัดการตอบสนองของร่างกาย ซึ่งอาจทำให้การควบคุมการติดเชื้อไม่ดีพอ แต่เรกูลาทอรี ทีเซลล์มีส่วนช่วยจำกัดการถูกทำลายของเนื้อเยื่อ ซึ่งมีสาเหตุจากการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันของร่างกายเพื่อกำจัดจุลชีพ ดังนั้นจึงต้องมีเรกูลาทอรี ทีเซลล์ในปริมาณที่เหมาะสม [36] โรคติดเชื้อที่มีการตอบสนองของเรกูลาทอรี ทีเซลล์ชนิดที่เกิดตามธรรมชาติมักมีสาเหตุจากการติดเชื้อเรื้อรัง (chronic infection) โดยหน้าที่หลัก คือ ตอบสนองต่อสัญญาณที่เกี่ยวข้องกับการทำลายเนื้อเยื่อและลดการถูกทำลายของเนื้อเยื่อ

จากรายงานที่ผ่านมา เรกูลาทอรี ทีเซลล์ชนิดที่เกิดตามธรรมชาติจะมีบทบาทในการรักษาสมดุลของระบบย่อยอาหาร (gastrointestinal homeostasis) โดยพบว่าเรกูลาทอรี ทีเซลล์ชนิดที่เกิดตามธรรมชาติสามารถควบคุมการอักเสบจากการติดเชื้อ *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) โดยกดการตอบสนองของทีเซลล์ที่มีความจำเพาะต่อ *H. pylori* นอกจากนี้ เรกูลาทอรี ทีเซลล์ยังมีบทบาทที่คล้ายคลึงกันในการตอบสนองต่อการติดเชื้อในบริเวณอื่น ๆ เช่น ปอด ผิวหนัง ตับ ตา [36] แต่ในด้านการควบคุมการติดเชื้อซึ่งทำการศึกษาในหนูที่ติดเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ (*Candida albicans*) กลับพบว่าจำนวนเรกูลาทอรี ทีเซลล์ที่ลดลงสามารถควบคุมการติดเชื้อได้ดีกว่า [47] นั่นคือ เรกูลาทอรี ทีเซลล์ชนิดที่เกิดตามธรรมชาติมีความสำคัญในด้านการควบคุมการอักเสบ แต่ไม่ได้มีส่วนช่วยให้อาการติดเชื้อลดลง

จากการศึกษาในผู้ป่วยที่ตรวจพบ *H. pylori* พบว่าการที่ผู้ป่วยไม่สามารถกำจัดการติดเชื้อ *H. pylori* อาจเกิดจากการถูกกดภูมิคุ้มกัน เนื่องจากพบ $CD4^+CD25^{high}$ ทีเซลล์มีจำนวนเพิ่มขึ้นในกระเพาะอาหารและเยื่อぶลาได้ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมซึ่งไม่ได้ติดเชื้อชนิดนี้ ซึ่งเซลล์เหล่านี้มีลักษณะการแสดงออกเป็นเรกูลาทอรี ทีเซลล์ เนื่องจากพบการแสดงออกของ Foxp3 และมีระดับโปรตีน cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 (CTLA-4) ที่สูง นอกจากนี้ยังพบว่าจำนวน $CD4^+CD25^{high}$ ทีเซลล์เพิ่มขึ้นในผู้ป่วยที่ติดเชื้อ *H. pylori* ร่วมกับมะเร็งกระเพาะอาหารอะดีโนคาร์ซิโนมา (gastric adenocarcinoma) นั้นแสดงให้เห็นว่า เรกูลาทอรี ทีเซลล์กดการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันที่เยื่อบุผิว ซึ่งทำให้การติดเชื้อ *H. pylori* ยังคงอยู่ [48]

2. เรกูลาทอรี ทีเซลล์ในโรคมะเร็ง

ในโรคมะเร็งนั้นพบว่าการทำงานของเรกูลาทอรี ทีเซลล์ อาจทำให้ประสิทธิภาพในการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันลดลง ซึ่งเป็นผลมาจากความสามารถในการกดภูมิคุ้มกันของเรกูลาทอรี ทีเซลล์ [49, 50] จากการศึกษาในมะเร็งหลายชนิด เช่น มะเร็งรังไข่ (ovarian cancer) [50] มะเร็งปอด (lung cancer) มะเร็งเต้านม (breast cancer) มะเร็งลำไส้ใหญ่ (colorectal cancer) มะเร็งกระเพาะอาหาร (gastric cancer) มะเร็งตับอ่อน (pancreatic cancer) มะเร็งถุงน้ำดี (gallbladder carcinoma) และอื่น ๆ [49] พบว่ามีการเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญของ $CD4^+CD25^+$ เรกูลาทอรี ทีเซลล์ ในกระแสเลือดของผู้ป่วยมะเร็งเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม [6, 49] และพบว่า $CD4^+CD25^+$ เรกูลาทอรี ทีเซลล์มีการสร้าง TGF- β ซึ่งเป็นไซโตไคน์ที่มีหน้าที่กดภูมิคุ้มกัน (immunosuppressive cytokine) ในผู้ป่วยมะเร็ง [49, 50]

นอกจากนี้ยังพบว่า $CD4^+CD25^-$ ทีเซลล์ขาดความสามารถในการเพิ่มจำนวน เนื่องจากอาจถูกเรกูลาทอรี ทีเซลล์กดการทำงาน และเมื่อพิจารณาถึง $CD56^+$ เนอเจอร์ล คิลเลอร์เซลล์ (natural killer cell; NK cell) พบว่าเรกูลาทอรี ทีเซลล์สามารถยับยั้งการเกิด NK cell mediated cytotoxicity ได้ ทำให้เชื่อว่าไม่เพียงแต่มีบทบาทในการควบคุมความสามารถในการต้านทานภูมิคุ้มกัน (immunotolerance) เท่านั้น แต่เรกูลาทอรี ทีเซลล์ยังมีผลเชิงลบ คือ สามารถยับยั้งกลไกการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต้านมะเร็ง (antitumor immune response) ซึ่งอาจมีผลต่อประสิทธิภาพของการรักษาผู้ป่วยด้วยวิธีการสร้างภูมิคุ้มกัน (immunotherapies) เช่น tumor-targeted monoclonal antibody [49]

สำหรับการนำ Foxp3⁺ เรกูลาทอรี ทีเซลล์มาใช้เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพ (biomarker) ในโรคมะเร็งชนิดต่าง ๆ นั้น ในการศึกษา มะเร็งเยื่อหุ้ม (carcinoma) พบว่าจำนวน Foxp3⁺ เรกูลาทอรี ทีเซลล์ที่มาก สัมพันธ์กับการตอบสนองทางคลินิกที่ไม่ดี และมีอัตราการอยู่รอดโดยรวมต่ำ สำหรับมะเร็งเต้านม พบว่าการเพิ่มขึ้นของ Foxp3⁺ เรกูลาทอรี ทีเซลล์ถือว่าเป็นปัจจัยเสี่ยงที่สูง นอกจากนี้ยังมีความสัมพันธ์กับความรุนแรงของเนื้องอกระดับสูง (high tumor grade) การลุกลามของเนื้องอกในต่อมน้ำเหลือง (lymph node involvement) และการขาดตัวรับของฮอร์โมนเอสโตรเจน (estrogen receptor; ER) [51]

อย่างไรก็ตาม การพบว่ามีจำนวน Foxp3⁺ เรกูลาทอรี ทีเซลล์ที่มากไม่ได้สัมพันธ์กับการพยากรณ์โรคมะเร็งที่ไม่ดีเสมอไป เนื่องจากการศึกษาในโรคมะเร็งต่อมน้ำเหลือง (lymphoma) กลับพบว่า Foxp3⁺ เรกูลาทอรี ทีเซลล์ที่มากจะสัมพันธ์กับการพยากรณ์โรคที่ดี และถือว่าเป็นปัจจัยเสี่ยงของโรคที่ต่ำ ซึ่งจะแตกต่างจากมะเร็งชนิดอื่น ๆ เนื่องจากมีผลโดยตรงกับเซลล์เม็ดเลือดที่เป็นมะเร็ง เช่น สามารถกดการทำงานหรือฆ่าบีเซลล์ และกดการทำงานของ $CD4^+$ ทีเซลล์ ซึ่งโดยปกติจะส่งเสริมให้เซลล์มะเร็งอยู่รอดและเพิ่มจำนวน [51, 52]

เมื่อเปรียบเทียบระหว่างเนื้อเยื่อที่มีการอักเสบและโรคมะเร็ง โดยศึกษาในผู้ป่วยลำไส้ใหญ่อักเสบ (ulcerative colitis) และมะเร็งลำไส้ใหญ่ (colon carcinoma) พบว่าไม่มีความแตกต่างของจำนวน $CD4^+Foxp3^+$ ทีเซลล์ในเนื้อเยื่อ อย่างไรก็ตามจำนวน $CD4^+Foxp3^+$ ทีเซลล์ของเนื้อเยื่อทั้งสองบริเวณนี้สูงกว่าในกระแสเลือดอย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้ยังพบว่าร้อยละ 98-99 ของเซลล์ที่มีการแสดงออกของ Foxp3 นั้นเป็น $CD4^+$ ทีเซลล์ ส่วนใน $CD8^+$ ทีเซลล์พบเพียงร้อยละ 1 ทั้งในเนื้อเยื่อของมะเร็งลำไส้ใหญ่และลำไส้ใหญ่อักเสบ สำหรับในมะเร็งเยื่อปวงไข่ (epithelial ovarian carcinoma) เมลาโนมา (melanoma) มะเร็งเซลล์ไต (renal cell carcinoma) มะเร็งตับ (hepatic carcinoma) และมะเร็งตับอ่อน (pancreatic cancer) นั้น มากกว่าร้อยละ 90 ของ $CD4^+CD25^+$ ทีเซลล์จะมีการแสดงออกของ Foxp3 [40] ซึ่งเป็นการยืนยันความเฉพาะเจาะจงของ Foxp3 ในการเป็นตัวบ่งชี้ $CD4^+CD25^+$ เรกูลาทอรี ทีเซลล์

3. เรกูลาทอรี ทีเซลล์ในโรคมิต้านทานเนื้อเยื่อตนเอง

ในส่วนของโรคมิต้านทานเนื้อเยื่อตนเอง เชื่อว่าการขาดเรกูลาทอรี ทีเซลล์หรือมีความผิดปกติเกี่ยวกับความสามารถในการกดการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันจะทำให้เกิดโรคมิต้านทานเนื้อเยื่อตนเอง ซึ่งในหลายโรคพบว่ามีความผิดปกติของความสามารถหรือจำนวนของ $CD4^+CD25^+$ เรกูลาทอรี ทีเซลล์ที่ลดลงในกระแสเลือด เช่น โรคเบาหวาน (diabetes mellitus; DM) ชนิดที่ 1 โรคปลอกประสาทอักเสบ (multiple sclerosis; MS) โรคหลอดเลือดอักเสบจากภูมิิต้านทานเนื้อเยื่อตนเอง (autoimmune vasculitis) และโรคข้ออักเสบรูห์มาตอยด์ (rheumatoid arthritis; RA) [10, 13] แต่สำหรับการตรวจน้ำไขข้อ (synovial fluid) ของผู้ป่วยโรคข้ออักเสบรูห์มาตอยด์ กลับพบว่ามีความจำนวนเรกูลาทอรี ทีเซลล์มากมาย โดยที่รูห์มาตอยด์ แฟกเตอร์ (rheumatoid factor, RF) ซึ่งเป็นตัวบ่งชี้ถึงความรุนแรงของโรคไม่ได้มีความสัมพันธ์กับจำนวน $CD4^+CD25^+$ เรกูลาทอรี ทีเซลล์ [14]

สำหรับในโรคลูปัส อีริทีมาโตซัส (lupus erythematosus; LE) มีรายงานมากมายที่เกี่ยวข้องกับ $CD4^+CD25^+$ เรกูลาทอรี ทีเซลล์แต่ผลสรุปยังไม่ชัดเจน โดยบางการศึกษาพบว่าการลดลงของจำนวน $CD4^+CD25^+$ เรกูลาทอรี ทีเซลล์ในกระแสเลือดของผู้ป่วยโรคลูปัส อีริทีมาโตซัส เมื่อเปรียบเทียบกับผู้ที่มีสุขภาพดี ซึ่งมีความสัมพันธ์เชิงลบกับการดำเนินของโรค และระดับของแอนติบอดีต่อนิวเคลียส (antinuclear antibody; ANA) [10, 13] อย่างไรก็ตาม ในบางการศึกษากลับพบว่าการเพิ่มขึ้น $CD4^+CD25^+$ เรกูลาทอรี ทีเซลล์ในผู้ป่วยโรคลูปัส อีริทีมาโตซัส และมีความสัมพันธ์กับการดำเนินของโรค หรือไม่พบความแตกต่างกันระหว่างจำนวนของ $CD4^+CD25^+$ เรกูลาทอรี ทีเซลล์ในผู้ป่วยกับผู้ที่มีสุขภาพดี ซึ่งได้รับการอธิบายว่าการทำหน้าที่ของ $CD4^+CD25^+$ เรกูลาทอรี ทีเซลล์อาจมีความผิดปกติ โดยมีความสามารถการกดภูมิคุ้มกันลดลง

แม้จะมีจำนวนเซลล์ที่มากขึ้นหรือเท่าเดิม นอกจากนี้ ยังพบว่าการรักษาด้วยสเตียรอยด์หรือยากดภูมิคุ้มกันอื่น ๆ ทำให้ระดับของ CD4⁺CD25⁺ เรกูลาทอรี ทีเซลล์เพิ่มขึ้นมาเท่าระดับปกติ [13]

โรคภูมิคุ้มกันต้านทานเนื้อเยื่อตนเองอื่น ๆ เช่น โรคไทรอยด์ที่มีเหตุจากภูมิคุ้มกันต้านทานเนื้อเยื่อตนเอง (human autoimmune thyroid disease, AITD) พบว่ามีเรกูลาทอรี ทีเซลล์อยู่มากในเนื้อเยื่อต่อมไทรอยด์ที่มีการอักเสบ [12] โดยเรกูลาทอรี ทีเซลล์ที่มีบทบาทในโรคภูมิคุ้มกันต้านทานเนื้อเยื่อตนเองเป็นชนิดที่เกิดตามธรรมชาติ ซึ่งมีการแสดงออกของ Foxp3 แต่สำหรับโรคผื่นภูมิแพ้ผิวหนัง (atopic dermatitis) ในผู้ป่วย IPEX syndrome ซึ่งเป็นโรคที่ขาด CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ เรกูลาทอรี ทีเซลล์ โดยพบว่ามี CD4⁺CD25⁺ เรกูลาทอรี ทีเซลล์ในจำนวนปกติ แต่ Foxp3⁺ เรกูลาทอรี ทีเซลล์มีจำนวนน้อยมากหรือไม่มีเลย แสดงถึงการขาดเรกูลาทอรี ทีเซลล์ชนิดที่เกิดตามธรรมชาติ โดยพบเรกูลาทอรี ทีเซลล์ชนิดปรับตัวแทน ซึ่งเห็นได้จากการพบทีเซลล์ที่มีการแสดงออกของ IL-10 และ TGF- β จำนวนมากในเนื้อเยื่อของผู้ป่วย [10, 15]

Torgerson [10] ในปี ค.ศ. 2006 ได้มีการสรุปลักษณะความผิดปกติของเรกูลาทอรี ทีเซลล์ทั้งจำนวน และความสามารถในการทำงานในผู้ป่วยโรคภูมิคุ้มกันต้านทานเนื้อเยื่อตนเองจากการศึกษาที่ผ่านมา โดยแบ่งเป็น 6 กลุ่ม ได้แก่

1. เรกูลาทอรี ทีเซลล์มีจำนวนน้อยลง แต่ไม่ทราบว่ามีการทำงานบกพร่องหรือไม่ ได้แก่ โรค autoimmune polyglandular syndrome type I (APS-I), รูบัส อีริทีมาโตซัสของหลายระบบ (systemic lupus erythematosus; SLE) และโรคคาวาซากิ (Kawasaki disease)
2. เรกูลาทอรี ทีเซลล์มีจำนวนน้อยลงในกระแสเลือด ร่วมกับความสามารถในการทำงานลดลง ได้แก่ โรคตับอักเสบจากภูมิคุ้มกันต้านทานเนื้อเยื่อตนเอง (autoimmune hepatitis; AIH)
3. เรกูลาทอรี ทีเซลล์มีจำนวนน้อยลงในกระแสเลือด แต่มีการทำงานเป็นปกติ ส่วนตำแหน่งที่มีการอักเสบพบว่าการเพิ่มจำนวนของเรกูลาทอรี ทีเซลล์ ได้แก่ โรคลำไส้อักเสบ (inflammatory bowel disease) และโรคข้ออักเสบรูห์มาตอยด์ รวมทั้งโรคข้ออักเสบเรื้อรังในเด็ก (juvenile idiopathic arthritis; JIA)
4. เรกูลาทอรี ทีเซลล์มีจำนวนน้อยลงในกระแสเลือด แต่มีการทำงานเป็นปกติ ส่วนตำแหน่งที่มีการอักเสบพบเรกูลาทอรี ทีเซลล์น้อยลง แต่มีทีเซลล์ชนิดอื่นมากมาย ได้แก่ โรค primary biliary cirrhosis (PBC) และโรค myasthenia gravis (MG)
5. เรกูลาทอรี ทีเซลล์มีจำนวนปกติ แต่มีการทำงานลดลง เช่น โรค autoimmune polyglandular syndrome type II (APS-II), โรคเบาหวานชนิดที่ 1 และโรคปลอกประสาทอักเสบ
6. เรกูลาทอรี ทีเซลล์มีการเพิ่มจำนวนในกระแสเลือด รวมทั้งเพิ่มความสามารถในการทำงาน ได้แก่ โรค sarcoidosis

การศึกษาเกี่ยวกับเรกูลาทอรี ทีเซลล์ในโรคไลเคน แพลนัสนั้น มีรายงานในปี ค.ศ. 2007 ของ de Boer และคณะ [8] ซึ่งทำการศึกษาการแสดงออกของ Foxp3 ด้วยวิธีการย้อมอิมมูโนฮิสโตเคมี (immunohistochemical staining) ในผิวหนังปกติและโรคผิวหนังอักเสบหลายชนิด พบว่าร้อยละของจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของ Foxp3 ในจำนวน CD3⁺ ทีเซลล์ไม่มีความแตกต่างกันระหว่างผิวหนังปกติ โรค spongiotic dermatitis โรคสะเก็ดเงิน (psoriasis) และโรคไลเคน แพลนัสในผิวหนัง แต่พบว่ามีระดับต่ำในโรคริ้นฝอยทรายกัด (leishmaniasis)

สำหรับการศึกษาเกี่ยวกับเรกูลาทอรี ทีเซลล์ในโรคไลเคน แพลนัสในช่องปาก มีเพียงหนึ่งรายงานในปี ค.ศ. 2009 โดย Tao และคณะ [53] ศึกษาการแสดงออกของ Foxp3 ด้วยวิธีการย้อมอิมมูโนฮิสโตเคมี ซึ่งศึกษาในผู้ป่วย 20 ราย กลุ่มควบคุม 6 ราย และวิธี real-time RT-PCR ศึกษาในผู้ป่วย 9 ราย กลุ่มควบคุม 9 ราย พบว่ามีจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของ Foxp3 มากขึ้นในกลุ่มที่มีรอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปาก ในขณะที่ผู้ป่วยกลุ่มควบคุมพบเซลล์ที่มีการแสดงออกของ Foxp3 เพียงไม่กี่เซลล์ และเมื่อเปรียบเทียบจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของ Foxp3 ในรอยโรคไลเคน แพลนัสชนิดต่าง ๆ พบว่าผู้ป่วยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากชนิดร่างแหจะมีจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของ Foxp3 มากกว่าชนิดถลอกหรือฝ่อลีบอย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้ยังพบความสัมพันธ์เชิงลบ (negative correlation) ระหว่างจำนวน Foxp3⁺ เรกูลาทอรี ทีเซลล์กับการดำเนินของโรคไลเคน แพลนัสในช่องปาก และพบว่าจำนวนของ Foxp3⁺ เรกูลาทอรี ทีเซลล์เพิ่มขึ้นในกระแผลเลือด ภายหลังจากผู้ป่วยได้รับการรักษาด้วย 0.1% tacrolimus ointment โดยศึกษาในผู้ป่วย 3 รายที่มีลักษณะรอยโรคทางคลินิกเป็นรอยแดงหรือถลอก ที่ได้รับยาเป็นเวลา 4 สัปดาห์

ดังนั้นจากการศึกษาที่ผ่านมา ซึ่งพบว่ามีหลายโรคที่มีความสัมพันธ์กับจำนวนของเรกูลาทอรี ทีเซลล์ที่เปลี่ยนแปลงไป จึงเชื่อว่าเรกูลาทอรี ทีเซลล์น่าจะมีบทบาทสำคัญในโรคมุขิต้านทานเนื้อเยื่อตนเอง ซึ่งโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากได้จัดอยู่ในกลุ่มนี้และเป็นโรคที่มีผู้ป่วยเป็นจำนวนมากทั้งในประเทศไทยและต่างประเทศ แต่การศึกษาค้นคว้าความสัมพันธ์ระหว่างเรกูลาทอรี ทีเซลล์กับโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากยังมีน้อย และยังไม่มีการศึกษาในผู้ป่วยโรคไลเคน แพลนัสในคนไทยมาก่อน นอกจากนี้ในปัจจุบันสาเหตุและกลไกทางภูมิคุ้มกันของโรคไลเคน แพลนัสยังไม่ทราบแน่ชัด จึงเป็นที่น่าสนใจที่จะศึกษาโดยใช้วิธีการย้อมอิมมูโนฮิสโตเคมี ในการตรวจหาเซลล์ที่มีการแสดงออกของ Foxp3 ในระดับโมเลกุล ซึ่งในปัจจุบันเป็นที่ยอมรับในวงการวิจัยว่าสามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ความเป็น เรกูลาทอรี ทีเซลล์ เพื่อเป็นส่วนช่วยในการทำความเข้าใจเกี่ยวกับกลไกทางภูมิคุ้มกันของโรคนี้มากขึ้น และอาจเป็นแนวทางในการพัฒนาหรือวิธีการรักษาต่อไปในอนาคต

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

ประชากรที่ศึกษา

ประชากรในงานวิจัยนี้ประกอบด้วย 3 กลุ่มดังนี้

1. กลุ่มตัวอย่างโรคไลเคน แพลนัสในช่องปาก จำนวน 20 ราย ซึ่งเป็นผู้ป่วยที่มารับการรักษาที่คลินิกบัณฑิตศึกษา ภาควิชาเวชศาสตร์ช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
 - 1.1 ผู้ป่วยได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคไลเคน แพลนัสในช่องปาก โดยดูจากทางคลินิกและลักษณะทางพยาธิวิทยา
 - 1.2 ผู้ป่วยไม่ได้ใช้ยาทั้งสเตียรอยด์ หรือยาอื่น ๆ ในการรักษาโรคไลเคน แพลนัสในช่องปาก หรือหยุดการรักษาโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากอย่างน้อย 1 เดือน
 - 1.3 ผู้ป่วยปฏิเสธโรคทางระบบใด ๆ ซึ่งอาจก่อให้เกิดรอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปาก
 - 1.4 ผู้ป่วยไม่ได้อยู่ระหว่างการรับประทานยารักษาโรคประจำตัว
 - 1.5 ผู้ป่วยไม่มีวัสดุทางทันตกรรมใด ๆ ในช่องปากที่สัมผัสกับรอยโรค

การแบ่งลักษณะและความรุนแรงของรอยโรคทางคลินิก

ผู้ป่วยได้รับการบันทึกลักษณะและความรุนแรงของรอยโรคทางคลินิก โดยจัดลำดับคะแนนตามเกณฑ์ของ Thongprasom และคณะ [1, 34] ดังนี้

- | | |
|-----------|--|
| คะแนน 5 : | รอยโรคเป็นลายเส้นสีขาวหนาตัวขึ้นจากพื้นผิว เช็ดดูไม่ออก ร่วมกับรอยแผลถลอกแดงขนาดใหญ่ตั้งแต่ 1 ตารางเซนติเมตรขึ้นไป |
| คะแนน 4 : | รอยโรคเป็นลายเส้นสีขาวเช็ดดูไม่ออก ร่วมกับรอยแผลถลอกแดงขนาดเล็กกว่า 1 ตารางเซนติเมตร |
| คะแนน 3 : | รอยโรคเป็นลายเส้นสีขาวเช็ดดูไม่ออก ร่วมกับรอยแดงขนาดใหญ่ตั้งแต่ 1 ตารางเซนติเมตรขึ้นไป |
| คะแนน 2 : | รอยโรคเป็นลายเส้นสีขาวเช็ดดูไม่ออก ร่วมกับรอยแดงขนาดเล็กกว่า 1 ตารางเซนติเมตร |
| คะแนน 1 : | รอยโรคสีขาวจางๆ เช็ดดูไม่ออก ไม่พบรอยแดงหรือแผล |
| คะแนน 0 : | ลักษณะเนื้อเยื่อปกติ ไม่พบรอยโรค |

2. **กลุ่มตัวอย่างที่มีเนื้อเยื่อปริทันต์อักเสบ** จำนวน 20 ราย เป็นกลุ่มตัวอย่างที่ไม่มีรอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปาก โดยเป็นชิ้นเนื้อที่ได้จากการถอนฟันที่เป็นโรคปริทันต์อักเสบ ที่คลินิกศัลยศาสตร์ช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
3. **กลุ่มตัวอย่างที่มีเนื้อเยื่อปกติ** จำนวน 10 ราย เป็นกลุ่มตัวอย่างที่ไม่มีรอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปาก โดยเป็นชิ้นเนื้อที่ปกติ ไม่มีลักษณะอักเสบ ที่ได้จากการตัดแต่งเพื่อการรักษาอยู่แล้ว เช่น การถอนฟัน การศัลยกรรมเหงือก การผ่าตัดฟันกรามซี่สุดท้าย ฟันฝัง หรือแต่งกระดูก ที่คลินิกศัลยศาสตร์ช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปัญหาทางจริยธรรม

งานวิจัยนี้ใช้ชิ้นเนื้อตัวอย่างจากผู้ป่วยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปาก ซึ่งผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาที่คลินิกบัณฑิตศึกษาเวชศาสตร์ช่องปากจะต้องได้รับการตัดชิ้นเนื้อเพื่อการตรวจวินิจฉัยอยู่แล้ว ซึ่งในการศึกษานี้จะแบ่งจากชิ้นเนื้อที่ต้องส่งตรวจทางจุลพยาธิวิทยา โดยผู้ป่วยได้รับคำอธิบายถึงข้อดีในการส่งตรวจชิ้นเนื้อและการใช้ชิ้นเนื้อเพื่องานวิจัย

สำหรับอาการข้างเคียงภายหลังการตัดชิ้นเนื้อ คือ อาจมีอาการเจ็บบริเวณแผล ซึ่งจะได้รับยาแก้ปวด คือ พาราเซตามอลเพื่อบรรเทาอาการ โดยปกติแผลนั้นสามารถหายได้เองภายใน 7 วัน ผู้ป่วยจะได้รับคำแนะนำในการดูแลแผล และภายหลังการตัดชิ้นเนื้อประมาณ 7 วัน ผู้ป่วยจะได้รับการตรวจดูแลแผลเพื่อตัดไหม พังผลการวินิจฉัย และได้รับการรักษารอยโรคตามความเหมาะสม

ส่วนชิ้นเนื้อปกติและชิ้นเนื้อปริทันต์อักเสบได้จากอาสาสมัครซึ่งเป็นผู้ป่วยที่ได้รับการศัลยกรรมช่องปาก ที่ต้องมีการตัดแต่งเนื้อเยื่อเพื่อการรักษาอยู่แล้ว เช่น การถอนฟัน ผ่าตัดฟันคุด การผ่าตัดแต่งกระดูก หรือการศัลยกรรมเหงือก จึงไม่เป็นอันตรายแก่ผู้ป่วยเพิ่มแต่อย่างใด

ทั้งนี้ผู้ป่วยที่เข้าร่วมการศึกษานี้จะได้รับคำชี้แจงและลงนามในใบยินยอมเข้าร่วมการศึกษานี้ด้วยความสมัครใจ ซึ่งการวิจัยได้รับการอนุมัติโดยไม่มีเงื่อนไขจากที่ประชุมคณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในการประชุมครั้งที่ 5/2553 วันที่ 13 กรกฎาคม 2553

วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

1. วัสดุอุปกรณ์

- 1) เครื่องตัดชิ้นเนื้อ (cryostat; Leica CM 3000, Leica microsystem Inc., Germany)
พร้อมใบมีด
- 2) ตู้เย็นรักษาอุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส
- 3) ตู้เย็นรักษาอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส
- 4) ตู้เย็นรักษาอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส
- 5) ก่อของโฟมเก็บความเย็นสำหรับขนย้ายชิ้นเนื้อ
- 6) กล้องจุลทรรศน์ชนิดใช้แสงขาวและบันทึกภาพได้ (Leica DM1000 LED, Leica microsystem Inc., Germany)
- 7) สไลด์แก้วชนิด super frost (Superfrost[®], Matsunami glass Ind. Ltd., Japan)
- 8) แผ่นแก้วปิดสไลด์ (cover silp) ขนาด 22x22 มิลลิเมตร (Esco microscope cover glass, Erie scientific company, USA)
- 9) ก่อของเก็บสไลด์
- 10) ก่อของเก็บชิ้นเนื้อ
- 11) รางอะลูมิเนียมสำหรับวางสไลด์
- 12) ชุดตรวจ (mouth mirror, forceps, explorer)
- 13) เครื่องตัดชิ้นเนื้อชนิดเจาะ (punch biopsy) เส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร (Stiefel[®], Diethelm & Co. Ltd., Thailand) และใบมีด (blade No.15)
- 14) ยาชา (2% Scandonest, Thailand) และเข็มฉีดยา (needle 30 gauge; Terumo, Thailand)
- 15) เข็มเย็บแผล No.18 (3/8 circle-cutting edge 18mm. spring eye; Mani Inc., Japan) และด้ายเย็บแผล (silk 4/0, Peasalls limited, England)
- 16) ถาดหลุมพลาสติก (disposable base mold) ขนาดหลุม 7x7x5 มิลลิเมตร (cryodish, Excel brand, Canada)
- 17) แพทริดิช (disposable patridish for cell culture; Nunc[™], Denmark)
- 18) กระดาษห่ออะลูมิเนียม (aluminium foil)
- 19) กระจกเก็บความเย็นสำหรับไนโตรเจนเหลว
- 20) ขามอะลูมิเนียมเก็บความเย็นสำหรับไนโตรเจนเหลว

- 21) เครื่องแก้วต่างๆ สำหรับการย้อมวิธีอิมมูโนฮิสโตเคมี
 - 21.1) แร็กแก้ว (Rack)
 - 21.2) Coplin jar
 - 21.3) เครื่องแก้วสำหรับดวงสาร
- 22) กล่องชื้น (moist chamber)
- 23) เครื่องดูดควันและสารเคมี (airflow sensor; Science technology, Thailand)
- 24) เครื่องกวนสารละลาย (magnetic stirrer; Witeg, Germany)
- 25) เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter)
- 26) เครื่องมือดูดปล่อยของเหลวชนิดปรับปริมาตรได้ (automatic micropipette) ในช่วงปริมาตร 1-1,000 ไมโครลิตร
- 27) เครื่องเขย่าหรือเครื่องหมุนสาย (shaker; Vortex genie[®]2, Scientific Inc., NY, USA)
- 28) เครื่องหมุนเหวี่ยง (brushless microcentrifuge; Danville, Scientific Inc., NJ, USA)
- 29) นาฬิกาจับเวลา
- 30) เครื่องซึ่งสารชนิดละเอียด (Denver instrument, Germany)
- 31) ภาชนะพลาสติกวางสไลด์
- 32) ปากกาเป็บเพ็น (Pap pen; DAKO, Denmark)
- 33) ถุงมือใช้แล้วทิ้ง (disposable gloves)
- 34) อุปกรณ์เบ็ดเตล็ด เช่น เทปพันสายไฟ กระดาษสติ๊กเกอร์ กระดาษชำระ ปากกาเมจิก ชนิดลบไม่ออก (permanent marker) พู่กันเบอร์ 1-2 ดินสอ พัดลมขนาดเล็ก เป็นต้น

2. น้ำยาและสารเคมี

- 1) สารละลายฟอร์มาลินความเข้มข้นร้อยละ 10 (10% formalin)
- 2) ไนโตรเจนเหลว (liquid nitrogen)
- 3) สารประกอบโอซีที (oxacalcitron; OCT; Tissue-tek[®], Sakura finetek USA, CA, USA)
- 4) สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ซาลีน (phosphate buffered saline; PBS) pH 7.4
- 5) น้ำกลั่นปราศจากไอออน (deionized distilled water; DDW)
- 6) อะซิโตน (acetone)
- 7) เอทิลแอลกอฮอล์สัมบูรณ์ (absolute ethyl alcohol)
- 8) ไชลีน (xylene)
- 9) ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 30 (30% hydrogen peroxide; H₂O₂)
- 10) สีย้อมฮีมาทอกไซลีน (hematoxylin, Bio-optica, Italy)
- 11) mounting media (Entellan[®] neu, Merck, Germany)
- 12) แอนติบอดีปฐมภูมิ (primary antibody)
 - 12.1) แอนติบอดีต่อ Foxp3 (mouse anti-human Foxp3 monoclonal antibody [clone 236A/E7], eBioscience, CA, USA)
 - 12.2) แอนติบอดีต่อ CD3 (mouse anti-human CD3 monoclonal antibody [clone OKT3], eBioscience, CA, USA)
 - 12.3) แอนติบอดีต่อ CD4 (mouse anti-human CD4 monoclonal antibody [clone OKT4], eBioscience, CA, USA)
- 13) R.T.U. VECTASTAIN[®] universal Elite ABC kit (Vector laboratories Inc., CA, USA)
- 14) peroxidase substrate solution (ImmPACT™ DAB Peroxidase Substrate Kit (Vector laboratories Inc., CA, USA)

วิธีการศึกษา

1. การเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อ

- 1) ผู้ป่วยไคเคน แพลนัส เป็นผู้ป่วยของคลินิกบัณฑิตศึกษา ภาควิชาเวชศาสตร์ช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
 - 1.1) ฉีดยาชาเฉพาะที่ ด้วยวิธี infiltration technique โดยจะไม่ฉีดยาชาในตำแหน่งที่มีรอยโรค แต่จะฉีดในตำแหน่งใกล้เคียง เพื่อทำให้เกิดอาการชาบริเวณที่จะทำการตัด โดยไม่ทำให้บริเวณรอยโรคเปลี่ยนแปลง
 - 1.2) ตัดชิ้นเนื้อตำแหน่งที่มีรอยโรคด้วยเครื่องตัดชิ้นเนื้อชนิดเจาะ เส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร ลึก 3 มิลลิเมตร (หมุนเครื่องมือประมาณ 1 รอบครึ่ง) แล้วทำการตัดชิ้นเนื้อออกมาโดยใช้กรรไกรหรือใบมีดขนาด 15 ตัดชิ้นเนื้อ 1 ชิ้น แบ่งชิ้นเนื้อเป็น 2 ส่วน
 - 1.3) ส่วนที่ 1 ใช้คีบคีบชิ้นเนื้อมาวางบนผ้าก๊อชที่ชุบสารละลาย PBS ซึ่งอยู่ในเพทริดิช ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4 เซนติเมตร แล้วปิดทับด้วยผ้าก๊อชที่ชุบสารละลาย PBS อีกชั้น จากนั้นปิดฝาเพทริดิช โดยบริเวณฝาติดฉลากชื่อ รหัสประจำตัวผู้ป่วย อายุ การวินิจฉัย ตำแหน่งที่ตัดชิ้นเนื้อ วันที่เก็บตัวอย่าง
 - 1.4) ส่วนที่ 2 วางชิ้นเนื้อบนกระดาษขนาด 5x5 มิลลิเมตร โดยคว่ำด้านเยื่อบุผิวลงบนกระดาษ แล้วนำทั้งหมดแช่ในขวดบรรจุสารละลายฟอร์มอลีนความเข้มข้นร้อยละ 10 นำส่งภาควิชาทันตพยาธิวิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เพื่อการวินิจฉัยรอยโรค
 - 1.5) ใช้ผ้าก๊อชกดปิดแผลที่ตัดชิ้นเนื้อ จนกระทั่งเลือดหยุดไหล หรือเย็บปิดแผลด้วยไหมขนาด 4/0 จำนวน 1-3 ปม โดยพิจารณาในผู้ป่วยแต่ละราย ให้ผู้ป่วยกัดผ้าก๊อชไว้ 1 ชั่วโมง และจ่ายยาพาราเซตามอลเพื่อบรรเทาอาการปวดด้วย งดสูบบุหรี่และดื่มแอลกอฮอล์หลังจากนั้น 1 สัปดาห์
 - 1.6) นำเพทริดิชซึ่งมีตัวอย่างชิ้นเนื้อเข้าไปเก็บในตู้เย็น 4 องศาเซลเซียส เพื่อรอทำการแช่แข็งต่อไป ซึ่งทำในวันเดียวกัน
- 2) ผู้ป่วยที่มีเนื้อเยื่อปกติและผู้ป่วยที่มีเนื้อเยื่อปริทันต์อักเสบ เป็นผู้ป่วยของคลินิก ศัลยศาสตร์ช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยชิ้นเนื้อที่ได้จากผู้ป่วยจะถูกเก็บในผ้าก๊อชที่ชุบสารละลาย PBS เช่นเดียวกัน พร้อมทั้งติดฉลาก เช่นเดียวกับผู้ป่วยโรคไคเคน แพลนัสในช่องปาก

- 3) เนื้อเยื่อควบคุมผลบวก (positive control) ใช้เนื้อเยื่อของต่อมทอนซิล ซึ่งได้จากผู้ป่วยที่จำเป็นต้องตัดต่อมทอนซิลออก ในแผนกหู คอ จมูก โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ โดยเก็บตัวอย่างด้วยวิธีเดียวกัน (2 ตัวอย่าง)

2. การแช่แข็งชิ้นเนื้อตัวอย่าง

- 1) นำภาดหลุมพลาสติก ที่มีขนาดหลุม 7x7x5 มิลลิเมตร มาเขียนรหัสประจำตัวผู้ป่วย อายุ การวินิจฉัย ตำแหน่งที่ตัดชิ้นเนื้อ วันที่เก็บตัวอย่าง ด้วยปากกาเมจิกชนิดลบไม่ออก
- 2) ใส่สารประกอบ OCT ลงในหลุมจนเต็มและระวังไม่ให้เกิดฟองอากาศภายใน
- 3) ใช้คีม (forcep) คีบชิ้นเนื้อออกจากแพทริดิชวางลงในหลุม โดยจัดวางชิ้นเนื้อให้มองเห็นหน้าตัดของชิ้นเยอบุผิวและชั้นใต้เยอบุผิวจากด้านบน และชิ้นเนื้ออยู่ในระนาบเดียวกัน ไม่เอียง
- 4) ใช้คีมจับขอบของภาดหลุมพลาสติก นำไปหย่อนลงในไนโตรเจนเหลวอย่างช้า ๆ ให้สารประกอบ OCT ค่อย ๆ แข็งตัวจากกันหลุมขึ้นสู่ด้านบน เมื่อแข็งตัวทั้งชิ้นแล้ว ปล่อยให้ภาดหลุมจมลงในไนโตรเจนเหลว แช่ต่อไปประมาณ 1 นาที
- 5) ใช้คีมจับขอบภาดหลุมพลาสติกขึ้นมาแล้วห่อด้วยกระดาษอะลูมิเนียม ซึ่งเขียนรหัสประจำตัวผู้ป่วย อายุ การวินิจฉัย ตำแหน่งที่ตัดชิ้นเนื้อ และวันที่เก็บตัวอย่าง ด้วยปากกาเมจิกชนิดลบไม่ออก แล้วนำทั้งหมดไปแช่ซ้ำในไนโตรเจนเหลวอีกประมาณ 5 นาที
- 6) นำห่อกระดาษอะลูมิเนียมไปเก็บในกล่องแช่แข็ง ซึ่งเก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส

3. การตัดชิ้นเนื้อ

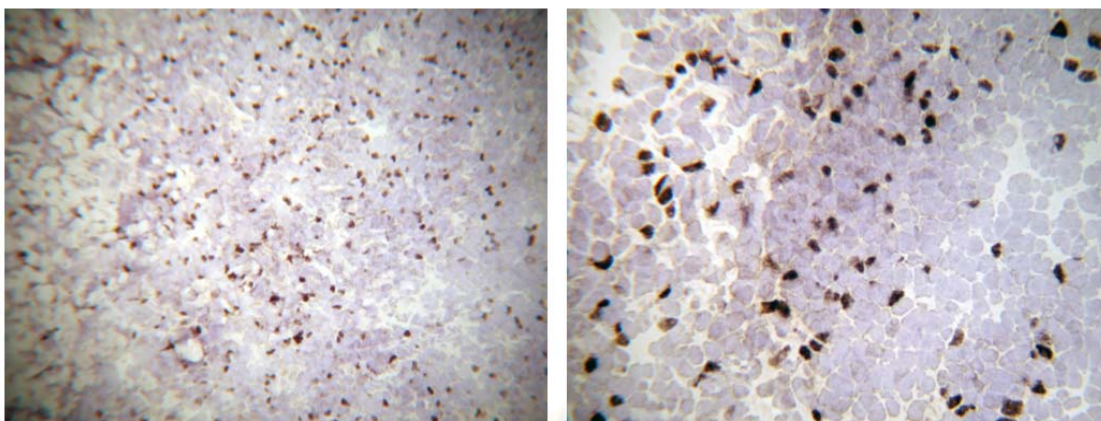
- 1) เปิดเครื่องตัดชิ้นเนื้อ ที่ตั้งไว้ในห้องตัด (chamber) และใบมีด มีอุณหภูมิเป็น -20 องศาเซลเซียส
- 2) นำชิ้นเนื้อออกจากตู้เย็นที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียสมาวางในเครื่องตัดชิ้นเนื้อ จากนั้นแกะกระดาษอะลูมิเนียมออก และแกะก้อนสารประกอบไอซีทีซึ่งมีชิ้นเนื้อฝังอยู่ออกจากภาตหลุม
- 3) หยอดสารประกอบ OCT บาง ๆ บนแผ่นสำหรับยึด จากนั้นนำก้อนสารประกอบ OCT ติดลงบนแผ่นโดยหันด้านที่อยู่ปากหลุมภาตพลาสติกเข้าหาหน้าตัดแผ่น แล้วจัดตำแหน่งให้อยู่กึ่งกลางแผ่น
- 4) ใส่ใบมีดในที่ยึดใบมีด ใช้ไขควงขันสกรูให้ยึดใบมีดให้มั่นคง จากนั้นปรับระนาบใบมีด
- 5) ยึดแผ่นของเครื่องตัดชิ้นเนื้อเข้ากับแท่นยึด จัดระนาบซึ่งตั้งระดับความเอียงไว้ 5 องศา ให้หน้าตัดของก้อนสารประกอบ OCT ให้ขนานกับใบมีด
- 6) ตั้งค่าความหนาของการตัดชิ้นเนื้อที่ 4 ไมโครเมตร
- 7) เลื่อนแท่นยึดแผ่นของเครื่องตัดชิ้นเนื้อให้ก้อนสารประกอบ OCT เข้าใกล้ใบมีดมากที่สุด
- 8) ตั้งโปรแกรมการตัดที่ "trim" ใช้มือหมุนแท่นยึดเพื่อให้ก้อนสารประกอบ OCT เคลื่อนผ่านใบมีดและถูกตัดบริเวณพื้นผิวบางส่วนออกไป ทำเช่นนั้นจนผิวด้านบนเป็นผิวเรียบและขนานกับใบมีด
- 9) โปรแกรมการตัดอยู่ที่ "normal" ค่อย ๆ หมุนแท่นยึดแผ่นของเครื่องตัดชิ้นเนื้อช้า ๆ เพื่อให้ใบมีดตัดก้อนสารประกอบไอซีที ขณะเดียวกันใช้ฟู่กันเกลี่ยเนื้อเยื่อที่ม้วนตัวขณะตัดให้คลี่ออก
- 10) ใช้สไลด์แก้วชนิด super frost ที่เขียนวันที่ ชื่อ การวินิจฉัยของชิ้นเนื้อ แปะลงบนเนื้อเยื่อซึ่งเนื้อเยื่อจะถูกดูดเข้าไปติดกับสไลด์
- 11) นำแผ่นสไลด์ออกจากเครื่องตัดชิ้นเนื้ออมาวางเรียงบนรางอะลูมิเนียม และใช้พัดลมเป่าให้แห้งนานประมาณ 1 ชั่วโมง
- 12) เก็บสไลด์ที่แห้งแล้วลงในกล่องใส่สไลด์สำหรับแช่แข็ง พันด้วยเทปพันสายไฟ เขียนฉลากรายละเอียดติด และเก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาข้อมทางอิมมูโนฮิสโตเคมี

4. การย้อมชิ้นเนื้อทางอิมมูโนฮิสโตเคมี

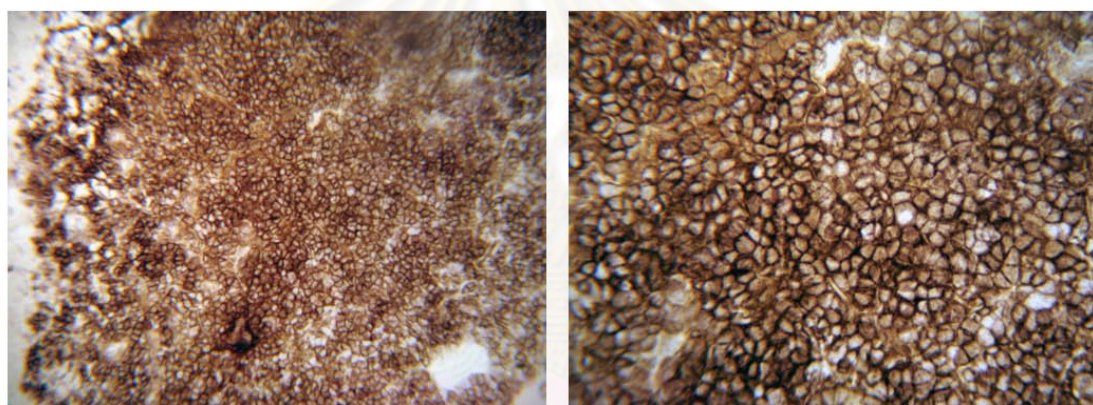
การศึกษานี้ใช้ชุดย้อม R.T.U. VECTASTAIN® universal Elite ABC kit ทำการย้อมตามเอกสารคู่มือการใช้ผลิตภัณฑ์ โดยมีวิธีการย้อมดังนี้

- 1) นำกล้องใส่สไลด์จากตู้ -80 องศาเซลเซียสมาเป่าให้แห้งด้วยพัดลมที่อุณหภูมิห้อง ประมาณ 30 นาที จากนั้นเอาสไลด์ออกจากกล้อง
- 2) จุ่มสไลด์ในอะซิโตนเย็น (cold acetone) เป็นเวลา 10 นาที
- 3) เป่าให้แห้งด้วยพัดลมเป็นเวลา 10 นาที
- 4) ใช้ปากกาเบิบบีน วรอบชิ้นเนื้อบนสไลด์เพื่อกันน้ำ (hydrophobic barrier) จากนั้นเป่าให้แห้งด้วยพัดลมนาน 5 นาที
- 5) ล้างสไลด์ด้วยสารละลาย PBS จำนวน 3 ครั้ง (2 นาที/ครั้ง)
- 6) แช่สไลด์ในไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.3 ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 30 นาที (ผสมใช้ทันทีโดยเจือจางจากไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 30 1.5 มิลลิลิตรต่อสารละลาย PBS 150 มิลลิลิตร)
- 7) ล้างสไลด์ด้วยสารละลาย PBS จำนวน 3 ครั้ง (2 นาที/ครั้ง)
- 8) เคาะสไลด์เบาๆ บนกระดาษแล้วซับด้านล่างของสไลด์ให้แห้ง
- 9) หยด normal horse serum (NHS) ที่เจือจางแล้ว 1 หยดที่ชิ้นเนื้อ แล้วทิ้งไว้ในกล้องขึ้นเป็นเวลา 20 นาที
- 10) กำจัดเซรัม (serum) ส่วนเกิน โดยเคาะสไลด์เบา ๆ บนกระดาษแล้วซับด้านล่างของสไลด์ให้แห้ง
- 11) หยดแอนติบอดีปฐมภูมิที่เจือจางในสารละลาย PBS ดังนี้
 - 11.1) แอนติบอดีต่อ Foxp3 ความเข้มข้น 5 µg/ml (1:100)
 - 11.2) แอนติบอดีต่อ CD3 ความเข้มข้น 2 µg/ml (1:500)
 - 11.3) แอนติบอดีต่อ CD4 ความเข้มข้น 2 µg/ml (1:500)
 - 11.4) สำหรับการควบคุมผลลบจะหยดสารละลาย PBS แทนที่แอนติบอดีปฐมภูมิ จากนั้นทิ้งไว้ในกล้องขึ้นที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 ชั่วโมง
- 12) ล้างสไลด์ด้วยสารละลาย PBS จำนวน 3 ครั้ง (2 นาที/ครั้ง)
- 13) หยดแอนติบอดีทุติยภูมิ (biotinylated "universal" secondary antibody) 1 หยด ทิ้งไว้ในกล้องขึ้นเป็นเวลา 30 นาที
- 14) ล้างสไลด์ด้วยสารละลาย PBS จำนวน 3 ครั้ง (2 นาที/ครั้ง)
- 15) หยด VECTASTAIN® R.T.U. Elite ABC Reagent 1 หยด แล้วทิ้งไว้ในกล้องขึ้นเป็นเวลา 30 นาที

- 16) ล้างสไลด์ด้วยสารละลาย PBS จำนวน 3 ครั้ง (2 นาที/ครั้ง)
- 17) หยด peroxidase substrate solution ทิ้งไว้จนกว่าจะมีสีน้ำตาลเกิดขึ้น โดยดูจากกล้องจุลทรรศน์ (เตรียมโดยหยด ImmPACT DAB Chromogen concentrate 1 หยด (30 ไมโครลิตร) ลงใน ImmPACT DAB Diluent 1 มิลลิตร จากนั้นผสมให้เข้ากัน) ซึ่ง Foxp3 (ภาพที่ 13) ใช้เวลานาน 10 นาที ส่วน CD3 (ภาพที่ 14) และ CD4 (ภาพที่ 15) นาน 5 นาที แต่ไม่พบการติดสีน้ำตาลในกลุ่มควบคุมผลลบ (ภาพที่ 16)
- 18) แช่สไลด์ในน้ำกลั่นปราศจากไอออน 5 นาที
- 19) ล้างสไลด์ด้วยน้ำประปา 5 นาที
- 20) ทำการย้อมทับ (counter stain) ด้วยสีฮีมาทอกไซลิน 20 วินาที
- 21) ล้างสไลด์ด้วยน้ำประปา 5 นาที
- 22) จุ่มในเอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้นร้อยละ 70 (เตรียมตามสัดส่วนจาก เอทิลแอลกอฮอล์สัมบูรณ์ 140 มิลลิตรต่อน้ำกลั่น 60 มิลลิตร) 10 ครั้ง
- 23) จุ่มในเอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้นร้อยละ 90 (เตรียมตามสัดส่วนจากเอทิลแอลกอฮอล์สัมบูรณ์ 180 มิลลิตรต่อน้ำกลั่น 20 มิลลิตร) 10 ครั้ง
- 24) จุ่มในเอทิลเอทิลแอลกอฮอล์สัมบูรณ์ 10 ครั้ง
- 25) จุ่มในเอทิลเอทิลแอลกอฮอล์สัมบูรณ์ 10 ครั้ง
- 26) จุ่มในไซลีนความเข้มข้นร้อยละ 50 ที่ผสมกับเอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้นร้อยละ 50 (เตรียมตามสัดส่วนจากเอทิลแอลกอฮอล์สัมบูรณ์ 100 มิลลิตรต่อไซลีน 100 มิลลิตร) 10 ครั้ง
- 27) แช่ในไซลีน 5 นาที
- 28) แช่ในไซลีน 10 นาที
- 29) ปิดด้วยแผ่นแก้วปิดสไลด์โดยใช้ mounting media
- 30) วางทิ้งไว้เพื่อให้ mounting media แข็งประมาณ 2 วัน

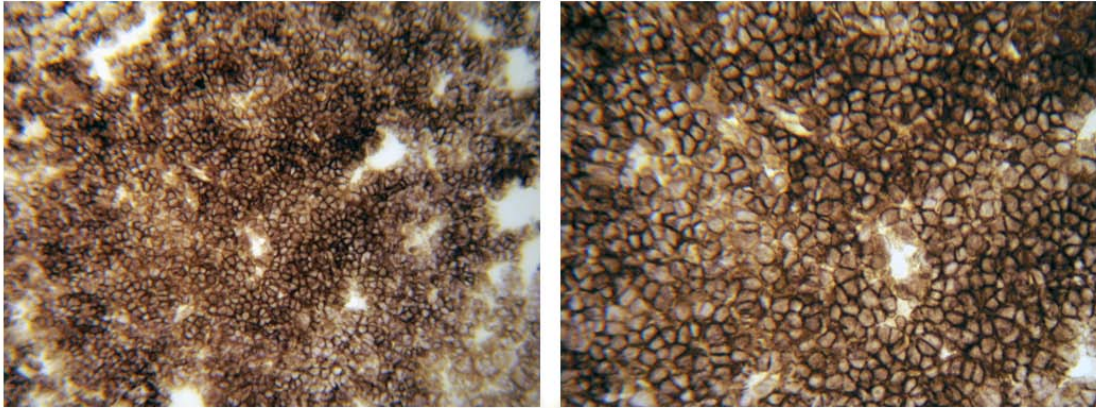


ภาพที่ 13 การวิจัยนำร่องในชิ้นเนื้อต่อมทอนซิล เซลล์ที่มีการแสดงออกของ Foxp3 พบการติดสีน้ำตาลที่บริเวณนิวเคลียสของเซลล์ที่กำลังขยาย 200 เท่า (ภาพซ้าย) และ 400 เท่า (ภาพขวา)

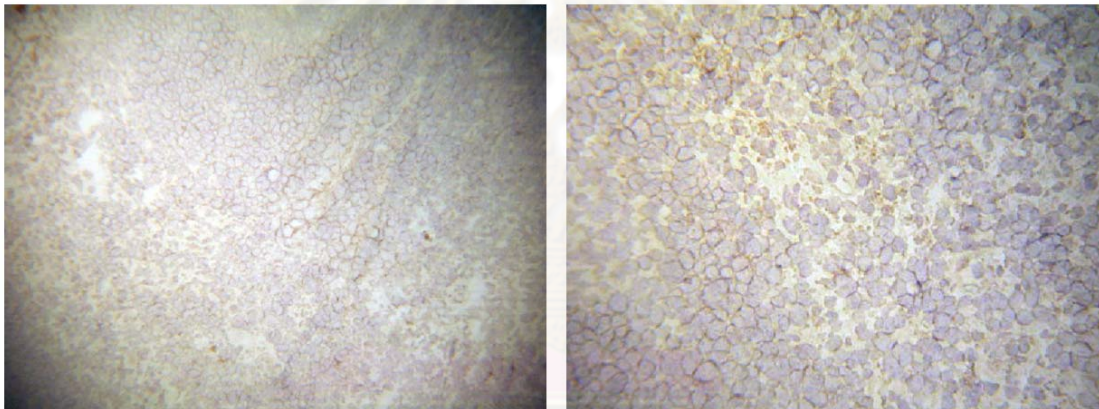


ภาพที่ 14 การวิจัยนำร่องในชิ้นเนื้อต่อมทอนซิล เซลล์ที่มีการแสดงออกของ CD3 พบการติดสีที่เซลล์เมมเบรนเป็นวงสีน้ำตาลล้อมรอบเซลล์ที่กำลังขยาย 200 เท่า (ภาพซ้าย) และ 400 เท่า (ภาพขวา)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาพที่ 15 การวิจัยนำร่องในชิ้นเนื้อต่อมทอนซิล เซลล์ที่มีการแสดงออกของ CD4 พบการติดสีที่เซลล์เมมเบรนเป็นวงสีน้ำตาลล้อมรอบเซลล์ ที่กำลังขยาย 200 เท่า (ภาพซ้าย) และ 400 เท่า (ภาพขวา)



ภาพที่ 16 การวิจัยนำร่องในชิ้นเนื้อต่อมทอนซิล แสดงกลุ่มควบคุมผลลบซึ่งไม่พบการติดสีเมื่อย้อมด้วยวิธีทางอิมมูโนฮิสโตเคมี โดยใช้ PBS แทนที่แอนติบอดี ที่กำลังขยาย 200 เท่า (ภาพซ้าย) และ 400 เท่า (ภาพขวา)

ศูนย์วิทยุโทรพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

5. การนับจำนวนเซลล์

บันทึกภาพชิ้นเนื้อจากกล้องจุลทรรศน์ชนิดใช้แสงขาว (Leica DM1000 LED, Leica microsystem, Inc., Germany) ที่กำลังขยาย high-power visual field (hpf) คือ 400 เท่า (400x) ในแต่ละชิ้นเนื้อถ่ายภาพ 3 ตำแหน่ง (3 ภาพ) คือ ซ้าย กลาง ขวา จากนั้นนำภาพที่ได้มาทำการนับเซลล์โดยใช้โปรแกรม ImageJ 1.38x เซลล์ที่ติดสีน้ำตาลถือว่าเป็นผลบวก (positive) ในบริเวณเนื้อเยื่อเกี่ยวพันใต้ชั้นเยื่อบุผิว (subepithelial connective tissue) ซึ่ง Foxp3 จะติดสีน้ำตาลบริเวณนิวเคลียส (nucleus) ส่วน CD3 และ CD4 จะติดสีน้ำตาลบริเวณโดยรอบเซลล์

จากนั้นผู้นับ 2 รายทำการนับเซลล์ที่มีการแสดงออกของ Foxp3, CD3 หรือ CD4 ทุกภาพ แล้วนำจำนวนเซลล์ที่นับได้มาหาค่าเฉลี่ยระหว่างผู้นับทั้ง 2 ในแต่ละภาพ ซึ่งจะนำมาหาค่าเฉลี่ยระหว่าง 3 ตำแหน่งในชิ้นเนื้อของผู้ป่วย 1 รายต่อไป

สำหรับชิ้นเนื้อที่พบการติดสีน้ำตาลในเซลล์ที่อยู่ภายในชั้นเยื่อบุผิว (intraepithelium) ให้บันทึกว่าพบ “ผลบวกที่ชั้นเยื่อบุผิว” ด้วย

การจัดระดับการติดสีของชิ้นเนื้อ

จำแนกระดับจำนวนเซลล์ที่มีการติดสีของ Foxp3 ในแต่ละชิ้นเนื้อ โดยนับจำนวนที่ติดสีแล้วแบ่งกลุ่มตามปริมาณการติดสี จากเกณฑ์ของ Lee และคณะ [52] ดังนี้

- คะแนน 0 : ไม่พบเซลล์ที่ติดสี/hpf
- คะแนน 1 : ติดสีน้อยกว่า 5 เซลล์/hpf
- คะแนน 2 : ติดสี 5-10 เซลล์/hpf
- คะแนน 3 : ติดสี 11-15 เซลล์/hpf
- คะแนน 4 : ติดสี 16-30 เซลล์/hpf
- คะแนน 5 : ติดสีมากกว่า 30 เซลล์/hpf

ศูนย์วิทยุทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การวิเคราะห์ข้อมูล

การทดสอบทางสถิติใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูปเอสพีเอสเอส (SPSS) รุ่น 17 ในการวิเคราะห์ โดยใช้สถิติเชิงพรรณนา (descriptive statistics) อธิบายข้อมูลพื้นฐานทั่วไปของผู้ป่วย จำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของ Foxp3, CD3 และ CD4 ร้อยละจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของ Foxp3 ต่อจำนวน CD3⁺ ทีเซลล์ และต่อจำนวน CD4⁺ ทีเซลล์เฉลี่ยในแต่ละกลุ่มตัวอย่าง

เปรียบเทียบความแตกต่างของการนับเซลล์ระหว่างผู้รับ 2 คน โดย Paired-Sample T-test ที่ระดับความเชื่อมั่น $p > 0.20$ และค่า correlation ใกล้เคียง 1

การทดสอบสมมุติฐานหาความแตกต่างของการแสดงออกของ Foxp3, CD3 และ CD4 ระหว่างกลุ่มตัวอย่างโดยใช้สถิติ One-Way ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่น $p < 0.05$

เปรียบเทียบความแตกต่างของการแสดงออกของ Foxp3, CD3 และ CD4 ระหว่างชนิดของรอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปาก คือ ชนิดร่างแห และชนิดฝ่อลีบหรือแผลถลอกโดยสถิติ Unpaired-Sample T test ที่ระดับความเชื่อมั่น $p < 0.05$

หาความสัมพันธ์ระหว่างชนิดกลุ่มตัวอย่างกับระดับของจำนวนเซลล์ที่มีการติดสี โดยสถิติ Fisher's Exact test ที่ระดับความเชื่อมั่น $p < 0.05$

หาความสัมพันธ์ระหว่างชนิดของกลุ่มตัวอย่างกับการแสดงออกของ Foxp3, CD3 และ CD4 ภายในชั้นเยื่อบุผิว โดยสถิติ Fisher's Exact test ที่ระดับความเชื่อมั่น $p < 0.05$

บทที่ 4

ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

ลักษณะทั่วไปของกลุ่มศึกษา

1. ผู้ป่วยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปาก

ตารางที่ 1 แสดงลักษณะทั่วไปของผู้ป่วยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปาก จำนวน 20 ราย ประกอบด้วยผู้ป่วยเพศหญิง 17 รายและผู้ป่วยเพศชาย 3 ราย คิดเป็นอัตราส่วน หญิงต่อชาย เท่ากับ 5.7:1 ช่วงอายุของผู้ป่วยอยู่ระหว่าง 18-63 ปี โดยมีค่าเฉลี่ย 46.1 ± 12.4 ปี ระยะเวลาในการเกิดรอยโรคก่อนมารับการรักษาที่คลินิกบัณฑิตศึกษา ภาควิชาเวชศาสตร์ช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยมีตั้งแต่ 0.5-133 เดือน โดยมีค่าเฉลี่ย 10.8 ± 26.1 เดือน ซึ่งผู้ป่วยที่มีรอยโรคชนิดร่าแหจะมารับการรักษาหลังเกิดรอยโรคได้ตั้งแต่ 0.5-133 เดือน โดยเฉลี่ย 20.0 ± 45.4 เดือน ในขณะที่ผู้ป่วยที่มีรอยโรคชนิดฝ่อลีบหรือแผลถลอกจะมารับการรักษาค่อนข้างเร็วกว่า คือ 1-18 เดือน โดยเฉลี่ย 6.0 ± 6.0 เดือน

ตำแหน่งของรอยโรคพบได้บริเวณเยื่อบุกระพุ้งแก้มของผู้ป่วยทุกราย (ร้อยละ 100) ตำแหน่งรองลงมา คือ เหงือก ลิ้น เพดานปาก และได้ลิ้น โดยตำแหน่งของรอยโรคที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ ทั้งหมดได้มาจากบริเวณเยื่อบุกระพุ้งแก้ม

สำหรับลักษณะของรอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากเป็นชนิดร่าแหจำนวน 6 ราย (ร้อยละ 30) ชนิดฝ่อลีบจำนวน 12 ราย (ร้อยละ 60) ชนิดแผลถลอกจำนวน 2 ราย (ร้อยละ 10) โดยเมื่อจัดลำดับคะแนนตามลักษณะ และความรุนแรงของรอยโรคทางคลินิกตามเกณฑ์ของ Thongprasom และคณะ [1, 34] พบว่าระดับคะแนน 1 พบในผู้ป่วย 6 ราย (ร้อยละ 30) คะแนน 2 พบ 5 ราย (ร้อยละ 25) คะแนน 3 พบ 7 ราย (ร้อยละ 35) คะแนน 4 และ 5 พบอย่างละ 1 ราย (ร้อยละ 5) (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 แสดงข้อมูลทั่วไปของผู้ป่วยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปาก

	N (%)
Sex: Female	17 (85)
Male	3 (15)
Female:male ratio	5.7:1
Age	18-63 years (mean 46.1 ± 12.4)
Duration: Reticular	0.5-133 months (mean 20.0 ± 45.4)
Atrophic/ulcerative	1-18 months (mean 6.0 ± 6.1)
Total	0.5-133 months (mean 10.8 ± 26.1)
Site of OLP lesion: Buccal mucosa	20 (100)
Gingiva	12 (60)
Tongue	5 (25)
Palate	2 (10)
Floor of mouth	1 (5)
Biopsy site: Buccal mucosa	20 (100)
Type of OLP lesion: Reticular	6 (30)
Atrophic	12 (60)
Ulcerative	2 (10)
Score of OLP lesion: 1	6 (30)
2	5 (25)
3	7 (35)
4	1 (5)
5	1 (5)

2. อาสาสมัครที่มีเนื้อเยื่อปริทันต์อักเสบ

อาสาสมัครที่มีเนื้อเยื่อปริทันต์อักเสบ มีจำนวน 20 ราย ประกอบด้วยเพศชายจำนวน 13 ราย และเพศหญิง 7 ราย อัตราส่วน ชายต่อหญิง เท่ากับ 1.9:1 อยู่ในช่วงอายุระหว่าง 35-77 ปี โดยมีค่าเฉลี่ย 53.1 ± 12.4 ปี อาสาสมัครทั้งหมดเป็นผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคปริทันต์อักเสบ (periodontitis) (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 แสดงข้อมูลทั่วไปของอาสาสมัครที่มีเนื้อเยื่อปริทันต์อักเสบ

	N (%)
Sex: Male	13 (65)
Female	7 (35)
Male:female ratio	1.9:1
Age	35-77 years (mean 53.1 ± 12.4)
Biopsy site: Gingiva	20 (100)

3. อาสาสมัครที่มีเนื้อเยื่อปกติ

อาสาสมัครที่มีเนื้อเยื่อปกติ มีจำนวน 10 ราย ประกอบด้วยเพศหญิง 7 ราย และเพศชาย จำนวน 3 ราย อัตราส่วนหญิงต่อชาย เท่ากับ 2.3:1 อยู่ในช่วงอายุระหว่าง 18-77 ปี โดยมีค่าเฉลี่ย 33.9 ± 22.6 ปี เป็นผู้ป่วยที่ได้รับการตัดขึ้นเนื้อจากการผ่าตัดฟันคุด (impacted tooth) 6 ราย ผ่าตัดฟันฝัง (embedded tooth) 1 ราย ผ่าตัดสันเหงือก (alveoloplasty) 1 ราย ผ่าตัดปุ่มกระดูก (torectomy) 1 ราย และศัลยกรรมเพื่อฝังรากเทียม (implant tooth surgery) 1 ราย (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 แสดงข้อมูลทั่วไปของอาสาสมัครที่มีเนื้อเยื่อปกติ

	N (%)
Sex: Female	7 (70)
Male	3 (30)
Female:male	2.3:1
Age	18-77 years (mean 33.9 ± 22.6)
Operation: Surgical removal of impacted tooth	6 (60)
Surgical removal of embedded tooth	1 (10)
Alveoloplasty	1 (10)
Torectomy	1 (10)
Implant tooth surgery	1 (10)

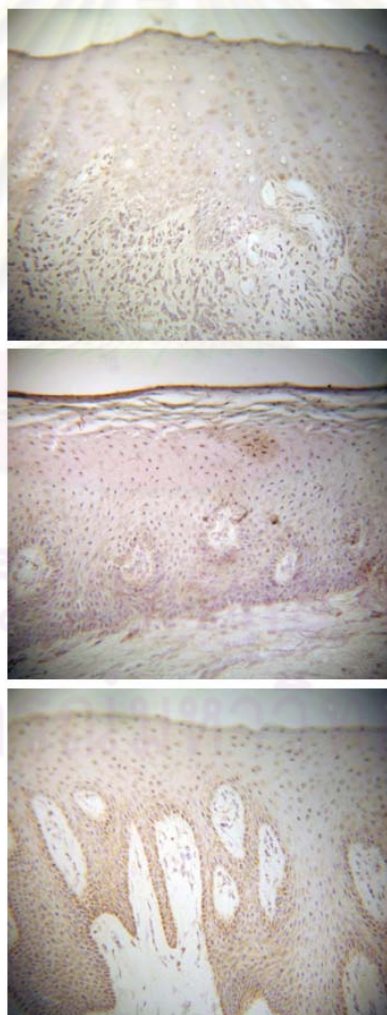
ผลการย้อมอิมมูโนฮิสโตเคมี

การนับจำนวนเซลล์

ก่อนทำการนับเซลล์ทุกภาพในการศึกษานี้ ได้หาความแตกต่างของการนับจำนวนเซลล์ระหว่างผู้ทำการนับ 2 ราย เพื่อเปรียบเทียบความเที่ยงตรงและความแม่นยำของการนับ โดยใช้สถิติ Paired-Sample T test โดยจากการนับเซลล์ทั้งหมด 76 ภาพ พบว่าการนับไม่มีความต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p=0.351$) โดยมีค่า correlation เท่ากับ 0.999

1. ค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของ Foxp3, CD3 และ CD4 ในชั้นใต้เยื่อบุผิว

การควบคุมผลลบซึ่งทำโดยการหยดสารละลาย PBS แทนที่แอนติบอดีปฐมภูมิ ไม่ปรากฏการติดสีที่เซลล์เมื่อย้อมด้วยวิธีการอิมมูโนฮิสโตเคมี (ภาพที่ 17)

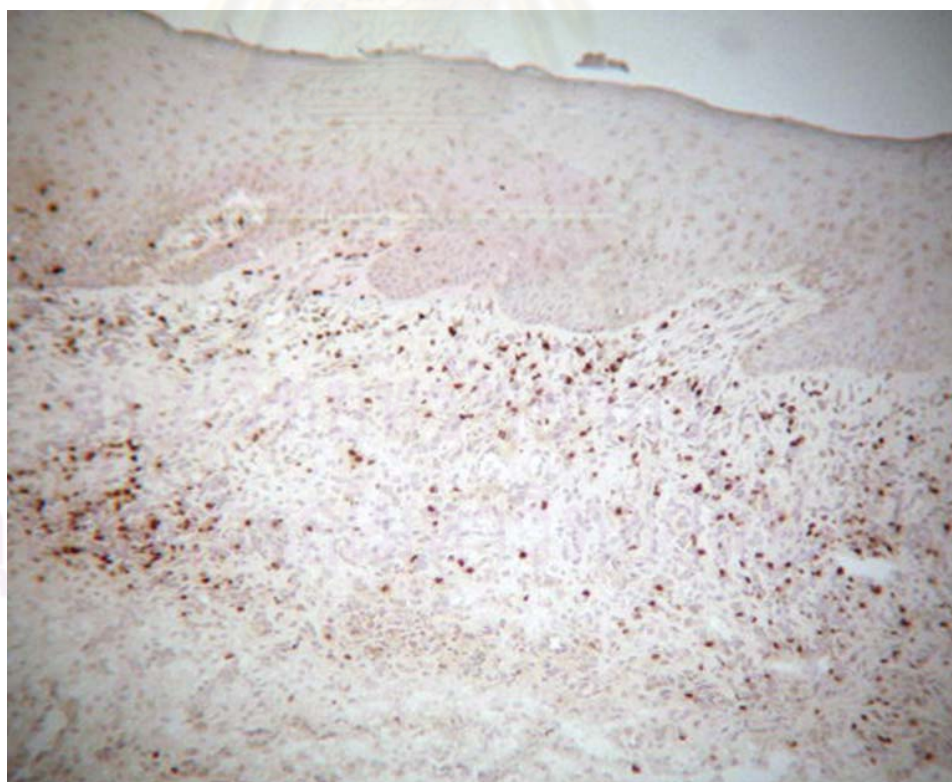


ภาพที่ 17 แสดงการควบคุมผลลบของชั้นเนื้อโรคไลเคน แพลนัสในช่องปาก (ภาพบน) เนื้อเยื่อปริทันต์อักเสบ (ภาพกลาง) และเนื้อเยื่อปกติ (ภาพล่าง) ที่กำลังขยาย 200 เท่า

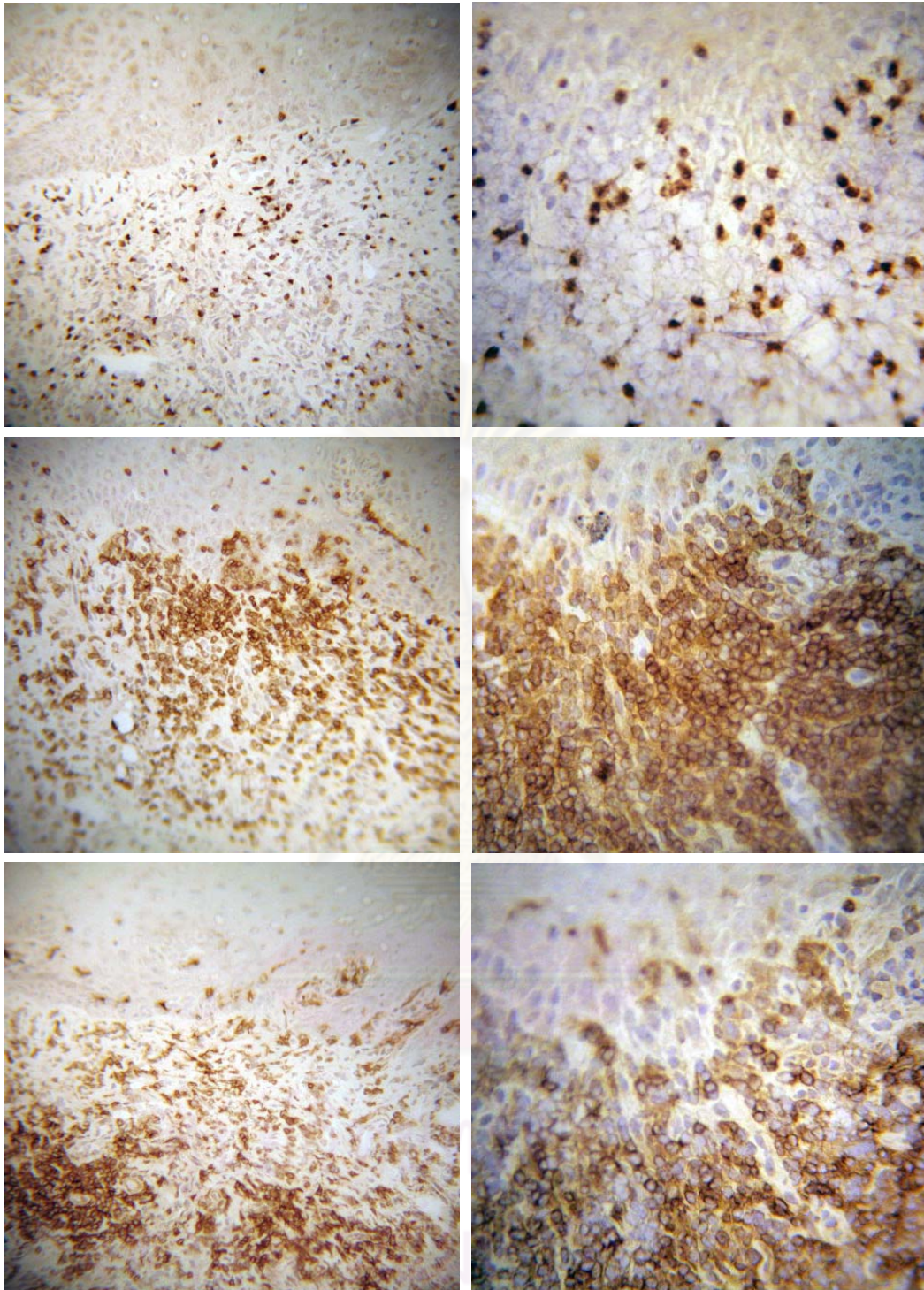
1.1 การแสดงออกของ Foxp3

พบการแสดงออกทางอิมมูโนฮิสโตเคมีต่อ Foxp3 ในผู้ป่วยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปาก 20 ราย (ร้อยละ 100) ในผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบ 20 ราย (ร้อยละ 100) และในผู้ป่วยเนื้อเยื่อปกติ 10 ราย (ร้อยละ 100) โดยพบการแสดงออกอยู่ในโมโนนิวเคลียร์เซลล์ที่อยู่ใต้ชั้นเยื่อผิว

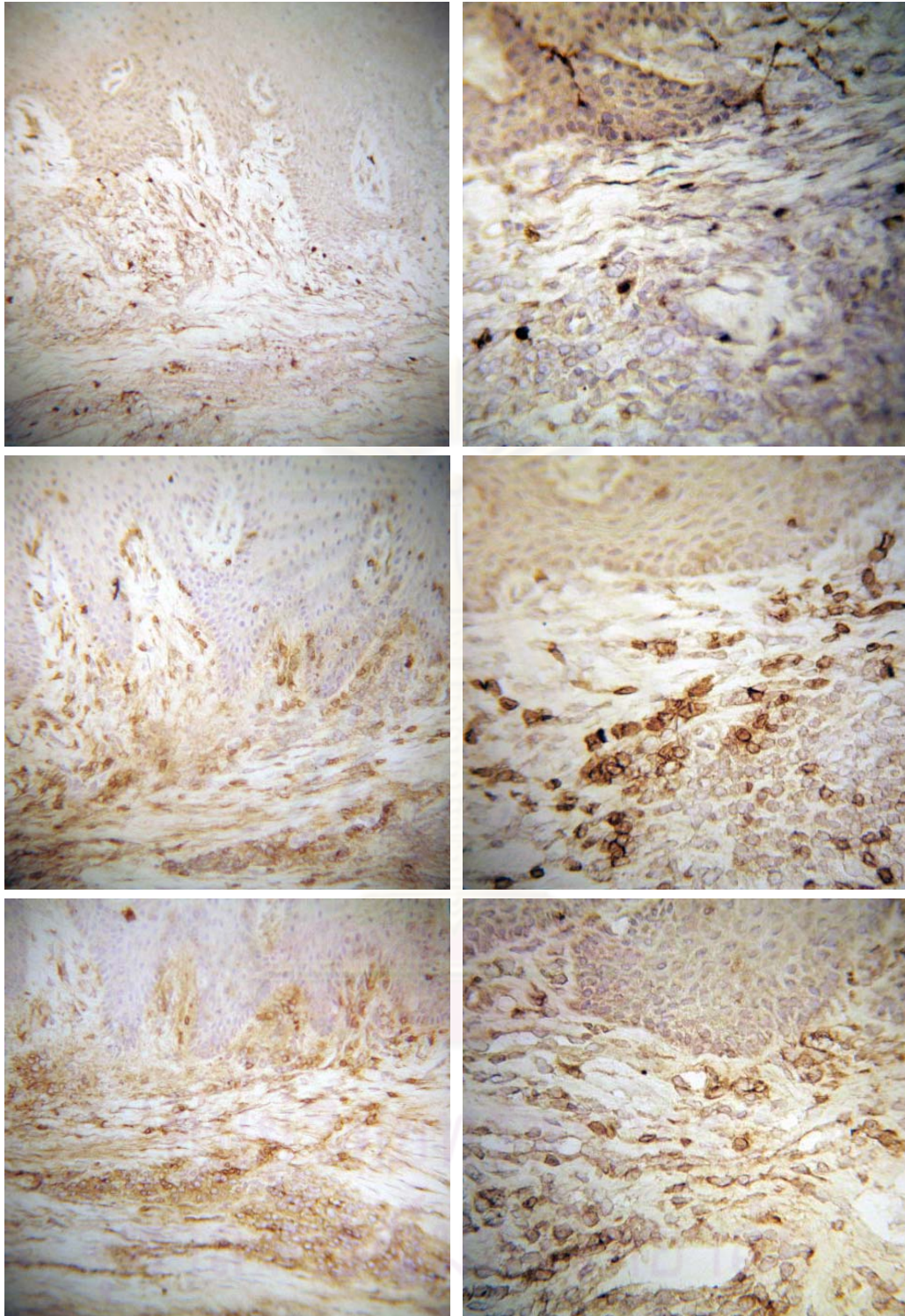
รอยโรคไลเคนแพลนัส ในช่องปากพบเซลล์ที่มีการแสดงออกของ Foxp3 ซึ่งจะเห็นเป็นสีน้ำตาลที่บริเวณนิวเคลียสของเซลล์ กระจายอยู่บริเวณชั้นลามินา โพรเปรีย (ภาพที่ 18) โดยจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของ Foxp3 มีค่าเฉลี่ย 100.04 ± 43.27 เซลล์/hpf (ภาพที่ 19) สำหรับเนื้อเยื่อปริทันต์อักเสบมีจำนวน 11.58 ± 10.83 เซลล์/hpf (ภาพที่ 20) และเนื้อเยื่อปกติ 3.8 ± 2.67 เซลล์/hpf (ภาพที่ 21) โดยข้อมูลทั้งหมดมีการกระจายตัวปกติ จึงใช้สถิติ One-Way ANOVA ในการคำนวณหาความแตกต่างของจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของ Foxp3 ระหว่างรอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากกับเนื้อเยื่อปริทันต์อักเสบหรือเนื้อเยื่อปกติ พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p=0.000$) รวมทั้งระหว่างเนื้อเยื่อปริทันต์อักเสบกับเนื้อเยื่อปกติ ($p=0.017$) (ภาพที่ 22)



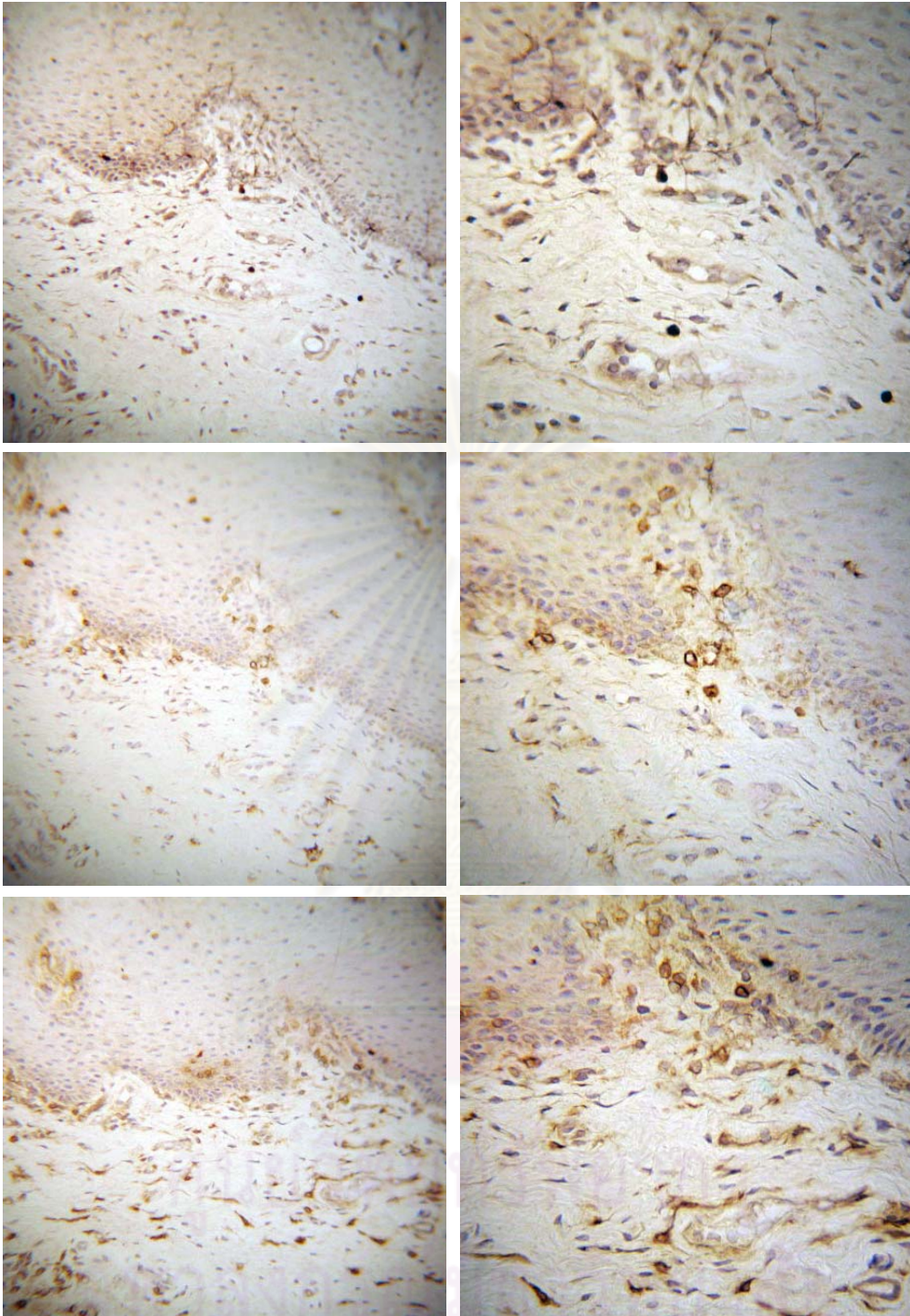
ภาพที่ 18 พบเซลล์ที่มีการแสดงออกของ Foxp3 เป็นจำนวนมากภายในชั้นลามินา โพรเปรีย ที่กำลังขยาย 100 เท่า



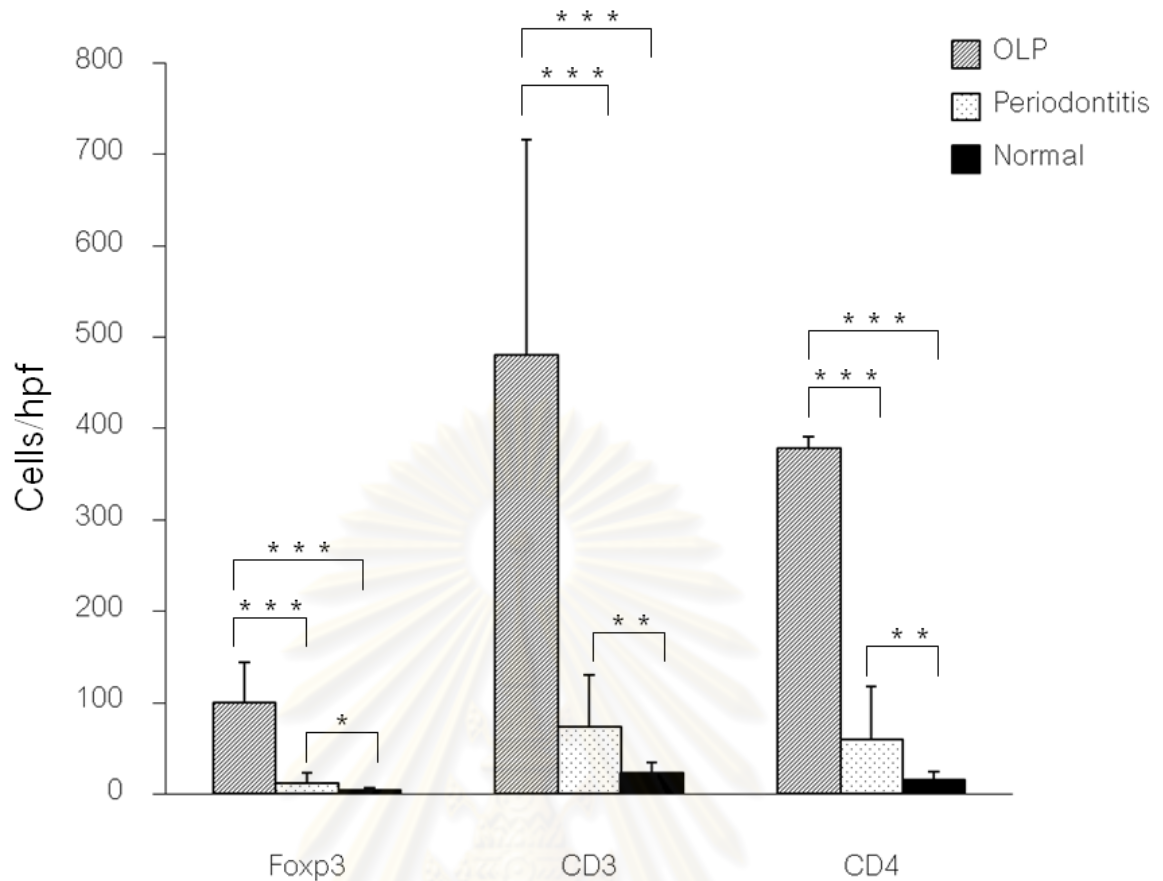
ภาพที่ 19 ในรอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากพบเซลล์ที่มีการแสดงออกของ Foxp3 โดยเห็น การติดสีที่นิวเคลียสของเซลล์เป็นจุดสีน้ำตาลทึบ (ภาพบน) สำหรับเซลล์ที่มีการแสดงออกของ CD3 (ภาพกลาง) และ CD4 (ภาพล่าง) พบการติดสีที่เซลล์เมมเบรนเป็นวงสีน้ำตาลล้อมรอบเซลล์ ที่กำลังขยาย 200 เท่า (ภาพซ้าย) และ 400 เท่า (ภาพขวา)



ภาพที่ 20 ในเนื้อเยื่อปริทันต์อักเสบพบเซลล์ที่มีการแสดงออกของ Fc γ R1 โดยเห็นการติดสีที่นิวเคลียสของเซลล์เป็นจุดสีน้ำตาลทึบ (ภาพบน) สำหรับเซลล์ที่มีการแสดงออกของ CD3 (ภาพกลาง) และ CD4 (ภาพล่าง) เห็นการติดสีที่เซลล์เมมเบรนเป็นวงสีน้ำตาลล้อมรอบเซลล์ที่กำลังขยาย 200 เท่า (ภาพซ้าย) และ 400 เท่า (ภาพขวา)



ภาพที่ 21 ในเนื้อเยื่อปกติพบเซลล์ที่มีการแสดงออกของ Foxp3 โดยเห็นการติดสีที่นิวเคลียสของเซลล์เป็นจุดสีน้ำตาลทึบ (ภาพบน) สำหรับเซลล์ที่มีการแสดงออกของ CD3 (ภาพกลาง) และ CD4 (ภาพล่าง) เห็นการติดสีที่เซลล์เมมเบรนเป็นวงสีน้ำตาลล้อมรอบเซลล์ที่กำลังขยาย 200 เท่า (ภาพซ้าย) และ 400 เท่า (ภาพขวา)



ภาพที่ 22 แผนภูมิแสดงค่าเฉลี่ยของจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของ Fcpx3, CD3 และ CD4 ต่อ 1 hpf ในรอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปาก เนื้อเยื่อปริทันต์อักเสบ และเนื้อเยื่อปกติ

* = $p < 0.05$, ** = $p < 0.01$ และ *** = $p < 0.001$

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สำหรับการจำแนกระดับของจำนวนเซลล์ที่มีการติดสีของ Foxp3 ตามเกณฑ์ของ Lee และคณะ [52] พบว่าในรอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากมีคะแนนการติดสีเท่ากับ 5 คือ พบเซลล์ที่มีการแสดงออกของ Foxp3 มากกว่า 30 เซลล์/hpf ในผู้ป่วยทุกราย ส่วนในเนื้อเยื่ออักเสบ ระดับคะแนนมีได้ตั้งแต่ 1-5 โดยพบมากที่สุดที่ระดับคะแนนเท่ากับ 2 ซึ่งพบเซลล์ที่มีการแสดงออกของ Foxp3 5-10 เซลล์/hpf จำนวน 9 ราย (ร้อยละ 45) และระดับ 1 ซึ่งพบเซลล์ที่มีการแสดงออกของ Foxp3 น้อยกว่า 5 เซลล์/hpf จำนวน 4 ราย (ร้อยละ 20) ตามลำดับ ส่วนเนื้อเยื่อปกติมีระดับคะแนนตั้งแต่ 1-3 โดยพบมากที่สุดที่ระดับคะแนนเท่ากับ 1 จำนวน 6 ราย (ร้อยละ 60) (ตารางที่ 4) เมื่อดูความสัมพันธ์ระหว่างกลุ่มตัวอย่างกับระดับของจำนวนเซลล์ที่มีการติดสีโดยสถิติ Fisher's Exact test พบว่ามีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p=0.000$)

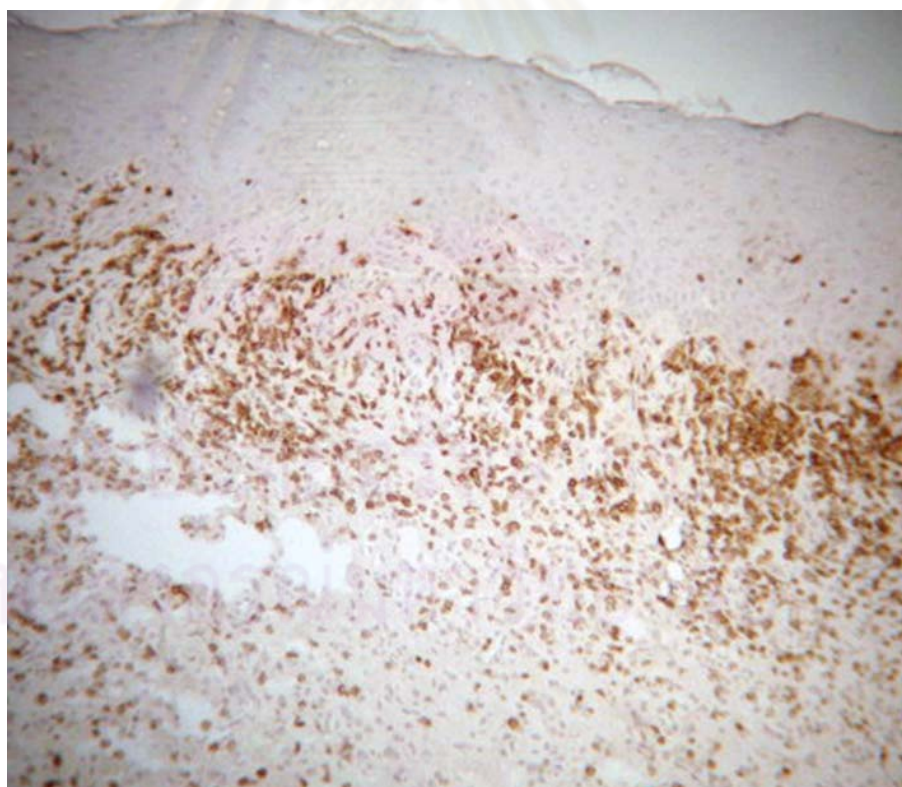
ตารางที่ 4 ระดับจำนวนเซลล์ที่มีการติดสีของ Foxp3 จำแนกตามเกณฑ์ของ Lee และคณะ [52]

Group	N	Level of Foxp3 expression (%)					<i>p value</i>
		1	2	3	4	5	
OLP	20	-	-	-	-	20 (100%)	0.000
Periodontitis	20	4 (20%)	9 (45%)	2 (10%)	3 (15%)	2 (10%)	
Normal tissue	10	6 (60%)	3 (30%)	1 (10%)	-	-	

1.2 การแสดงออกของ CD3

พบการแสดงออกทางอิมมูโนฮิสโตเคมีต่อ CD3 ในผู้ป่วยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปาก 20 ราย (ร้อยละ 100) ในผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบ 20 ราย (ร้อยละ 100) และในผู้ป่วยเนื้อเยื่อปกติ 10 ราย (ร้อยละ 100) โดยพบการแสดงออกอยู่ในโมโนนิวเคลียร์เซลล์ที่อยู่ใต้ชั้นเยื่อผิว

รอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากพบเซลล์ที่มีการแสดงออกของ CD3 ซึ่งจะเห็นเป็นวงสีน้ำตาลล้อมรอบเซลล์ เป็นจำนวนหนาแน่นบริเวณชั้นลามินา โพรเปรีย (ภาพที่ 23) โดยจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของ CD3 มีค่าเฉลี่ย 480.73 ± 236.01 เซลล์/hpf (ภาพที่ 19) เนื้อเยื่อปริทันต์อักเสบมีจำนวน 73.45 ± 56.46 เซลล์/hpf (ภาพที่ 20) และเนื้อเยื่อปกติ 22.81 ± 11.31 เซลล์/hpf (ภาพที่ 21) โดยข้อมูลทั้งหมดมีการกระจายตัวปกติ จึงใช้สถิติ One-Way ANOVA ในการคำนวณหาความแตกต่างกันของจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของ CD3 ระหว่างรอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากกับเนื้อเยื่อปริทันต์อักเสบหรือเนื้อเยื่อปกติ พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p=0.000$) รวมทั้งระหว่างเนื้อเยื่อปริทันต์อักเสบกับเนื้อเยื่อปกติ ($p=0.003$) (ภาพที่ 22)

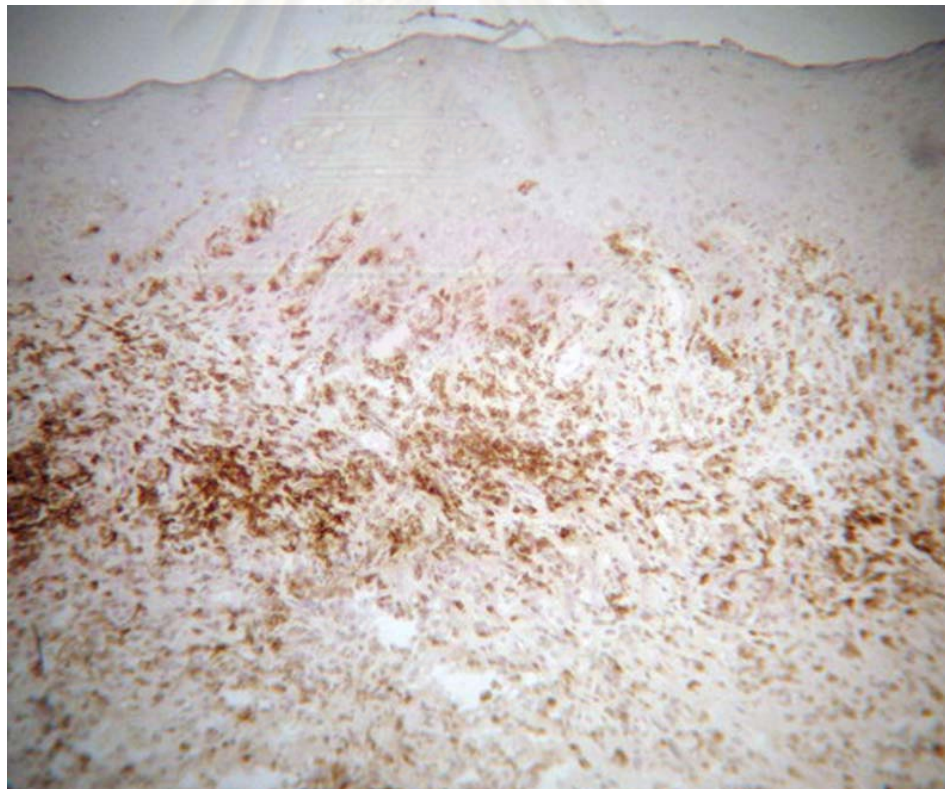


ภาพที่ 23 พบเซลล์ที่มีการแสดงออกของ CD3 เป็นจำนวนมากตั้งแต่บริเวณใต้ชั้นเบสเมมเบรกลงไปตลอดชั้นลามินา โพรเปรีย โดยมีลักษณะเกาะกลุ่มกันหนาแน่นเป็นแถบยาวขนานไปกับชั้นเยื่อผิวที่กำลังขยาย 100 เท่า

1.3 การแสดงออกของ CD4

พบการแสดงออกทางอิมมูโนฮิสโตเคมีต่อ CD4 ในผู้ป่วยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปาก 20 ราย (ร้อยละ 100) ในผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบ 20 ราย (ร้อยละ 100) และในผู้ป่วยเนื้อเยื่อปกติ 10 ราย (ร้อยละ 100) โดยพบการแสดงออกอยู่ในโมโนนิวเคลียร์เซลล์ที่อยู่ใต้ชั้นเยื่อผิว

รอยโรคไลเคนแพลนัส ในช่องปากพบเซลล์ที่มีการแสดงออกของ CD4 ซึ่งจะเห็นเป็นวงสีน้ำตาลล้อมรอบเซลล์ เป็นจำนวนมากในส่วนลึกของชั้นลามินา โพรเปรีย (ภาพที่ 24) โดยจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของ CD4 มีค่าเฉลี่ย 378.93 ± 212.38 เซลล์/hpf (ภาพที่ 19) เนื้อเยื่อปริทันต์อักเสบมีจำนวน 59.99 ± 57.57 เซลล์/hpf (ภาพที่ 20) และเนื้อเยื่อปกติ 14.93 ± 8.93 เซลล์/hpf (ภาพที่ 21) โดยข้อมูลทั้งหมดมีการกระจายตัวปกติ จึงใช้สถิติ One-Way ANOVA ในการคำนวณหาความแตกต่างของจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของ CD4 ระหว่างรอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากกับเนื้อเยื่อปริทันต์อักเสบหรือเนื้อเยื่อปกติ พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p=0.000$) รวมทั้งระหว่างเนื้อเยื่ออักเสบกับเนื้อเยื่อปกติ ($p=0.008$) (ภาพที่ 22)



ภาพที่ 24 พบเซลล์ที่มีการแสดงออกของ CD4 หนาแน่นบริเวณชั้นลามินา โพรเปรียที่ลึกลงไปมากกว่าส่วนที่ติดชั้นเบสเมมเบรนที่กำลังขยาย 100 เท่า

2. สัดส่วนจำนวนของ Foxp3⁺ เภอูลาทอริ ทีเซลล์ต่อจำนวน CD3⁺ ทีเซลล์ และต่อจำนวน CD4⁺ ทีเซลล์

2.1 สัดส่วนจำนวนของ Foxp3⁺ เภอูลาทอริ ทีเซลล์ต่อจำนวน CD3⁺ ทีเซลล์

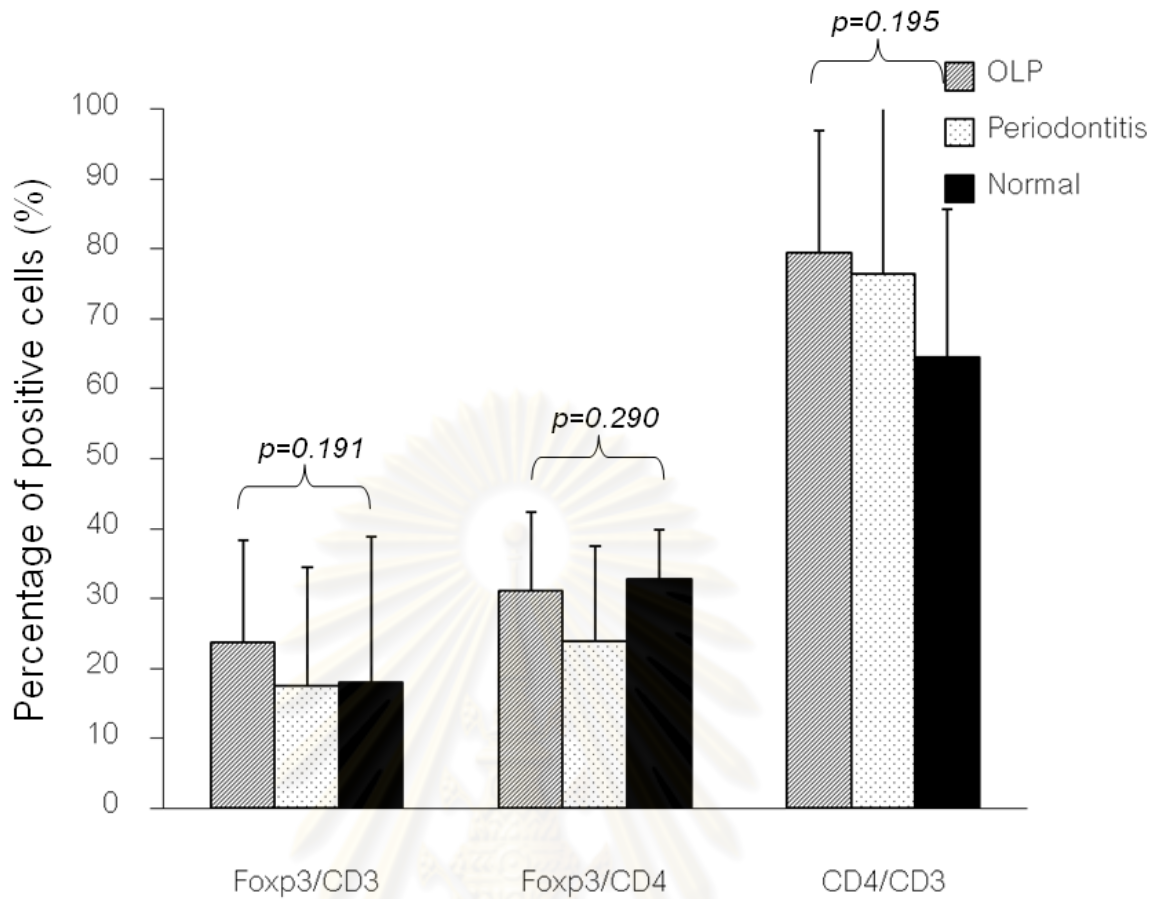
รอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากพบว่ามีค่าเฉลี่ยของสัดส่วนจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของ Foxp3 ต่อจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของ CD3 คิดเป็นร้อยละ 31.08 ± 14.47 เนื้อเยื่อปริทันต์อักเสบพบร้อยละ 23.96 ± 17.00 และเนื้อเยื่อปกติพบร้อยละ 32.76 ± 21.00 โดยข้อมูลทั้งหมดมีการกระจายตัวปกติ ใช้สถิติ One-Way ANOVA ในการคำนวณหาความแตกต่างของสัดส่วนจำนวนของ Foxp3⁺ เภอูลาทอริ ทีเซลล์ต่อจำนวน CD3⁺ ทีเซลล์ระหว่างรอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปาก เนื้อเยื่อปริทันต์อักเสบ และเนื้อเยื่อปกติ พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p=0.191$) (ภาพที่ 25)

2.2 สัดส่วนจำนวนของ Foxp3⁺ เภอูลาทอริ ทีเซลล์ต่อจำนวน CD4⁺ ทีเซลล์

รอยโรคไลเคนแพลนัส ในช่องปากพบว่ามีค่าเฉลี่ยของสัดส่วนจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของ Foxp3 ต่อจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของ CD4 คิดเป็นร้อยละ 23.79 ± 11.21 เนื้อเยื่อปริทันต์อักเสบพบร้อยละ 17.48 ± 13.46 และเนื้อเยื่อปกติพบร้อยละ 17.91 ± 7.07 โดยข้อมูลทั้งหมดมีการกระจายตัวปกติ ใช้สถิติ One-Way ANOVA ในการคำนวณหาความแตกต่างของสัดส่วนจำนวนของ Foxp3⁺ เภอูลาทอริ ทีเซลล์ต่อจำนวน CD4⁺ ทีเซลล์ระหว่างรอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปาก เนื้อเยื่อปริทันต์อักเสบ และเนื้อเยื่อปกติ พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p=0.290$) (ภาพที่ 25)

2.3 สัดส่วนจำนวนของ CD4⁺ ทีเซลล์ต่อจำนวน CD3⁺ ทีเซลล์

รอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากพบว่ามีค่าเฉลี่ยของสัดส่วนจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของ CD4 ต่อจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของ CD3 คิดเป็นร้อยละ 79.43 ± 17.47 เนื้อเยื่อปริทันต์อักเสบพบร้อยละ 76.53 ± 24.69 และเนื้อเยื่อปกติพบร้อยละ 64.47 ± 21.21 โดยข้อมูลทั้งหมดมีการกระจายตัวปกติ ใช้สถิติ One-Way ANOVA ในการคำนวณหาความแตกต่างของสัดส่วนจำนวนของ CD4⁺ ทีเซลล์ต่อจำนวน CD3⁺ ทีเซลล์ ระหว่างรอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปาก เนื้อเยื่อปริทันต์อักเสบ และเนื้อเยื่อปกติ พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p=0.195$) (ภาพที่ 25)



ภาพที่ 25 แผนภูมิแสดงค่าเฉลี่ยสัดส่วนของจำนวนของ Fxp3⁺ เวกูลาทอรี ทีเซลล์ต่อจำนวน CD3⁺ ทีเซลล์ และ CD4⁺ ทีเซลล์ในรอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปาก เนื้อเยื่อปริทันต์อักเสบ และเนื้อเยื่อปกติ

Fxp3/CD3 = Percentage of Fxp3⁺ cells of CD3⁺ cells

Fxp3/CD4 = Percentage of Fxp3⁺ cells of CD4⁺ cells

CD4/CD3 = Percentage of CD4⁺ cells of CD3⁺ cells

ศูนย์เวชทันตกรรม
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3. ค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของ Foxp3, CD3 และ CD4 จำแนกตามชนิดของรอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปาก

3.1 การแสดงออกของ Foxp3

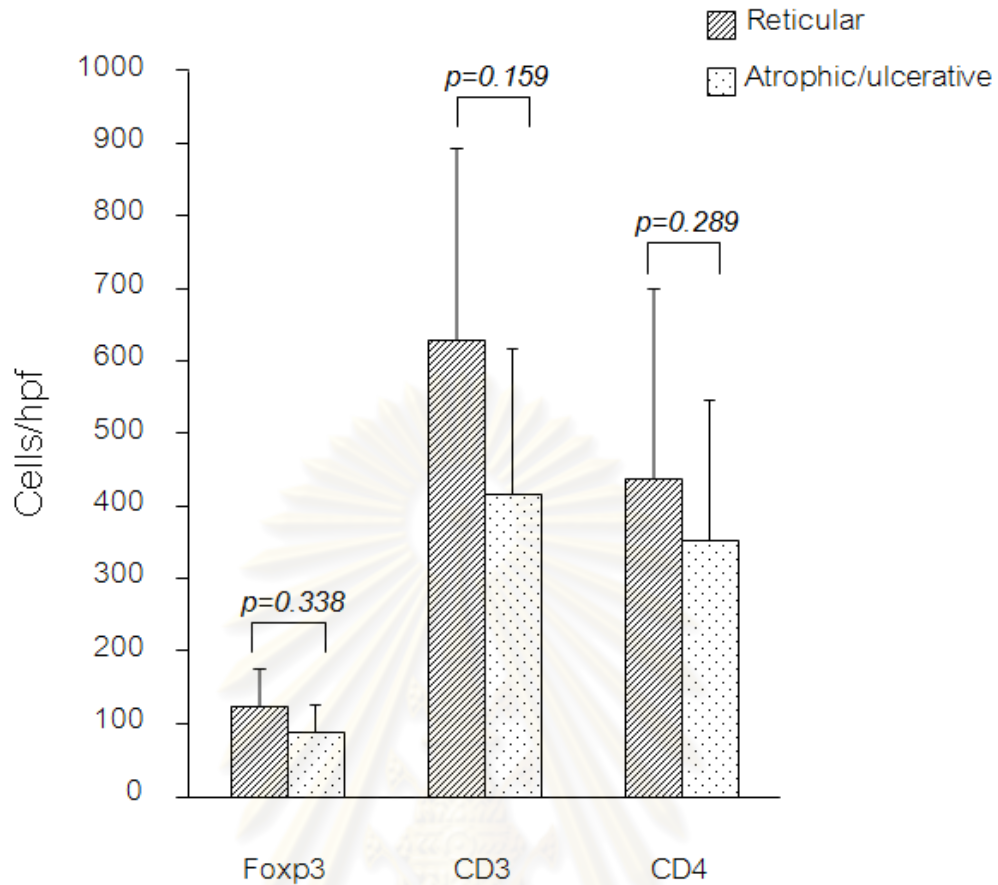
ในรอยโรคไลเคนแพลนัส ในช่องปากพบว่ามีค่าเฉลี่ยของจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของ Foxp3 ในรอยโรคชนิดร่างแห 6 รายเป็นจำนวน 124.81 ± 52.06 เซลล์/hpf และชนิดฝ่อลีบหรือแผลถลอก 14 รายเป็นจำนวน 89.42 ± 35.91 เซลล์/hpf โดยข้อมูลทั้งหมดมีการกระจายตัวปกติ ใช้สถิติ Unpaired-Sample T test ในการคำนวณหาความแตกต่างของจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของ Foxp3 ระหว่างรอยโรคชนิดร่างแห และชนิดฝ่อลีบหรือแผลถลอก พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p=0.338$) (ภาพที่ 26)

3.2 การแสดงออกของ CD3

ในรอยโรคไลเคนแพลนัส ในช่องปากพบว่ามีค่าเฉลี่ยของจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของ CD3 ในรอยโรคชนิดร่างแห 6 รายเป็นจำนวน 629.69 ± 264.93 เซลล์/hpf และชนิดฝ่อลีบหรือแผลถลอก 14 รายเป็นจำนวน 416.88 ± 199.45 เซลล์/hpf โดยข้อมูลทั้งหมดมีการกระจายตัวปกติ ใช้สถิติ Unpaired-Sample T test ในการคำนวณหาความแตกต่างของจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของ CD3 ระหว่างรอยโรคชนิดร่างแห และชนิดฝ่อลีบหรือแผลถลอก พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p=0.159$) (ภาพที่ 26)

3.3 การแสดงออกของ CD4

ในรอยโรคไลเคนแพลนัส ในช่องปากพบว่ามีค่าเฉลี่ยของจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของ CD4 ในรอยโรคชนิดร่างแห 6 รายเป็นจำนวน 437.28 ± 263.94 เซลล์/hpf และชนิดฝ่อลีบหรือแผลถลอก 14 รายเป็นจำนวน 353.92 ± 192.06 เซลล์/hpf โดยข้อมูลทั้งหมดมีการกระจายตัวปกติ ใช้สถิติ Unpaired-Sample T test ในการคำนวณหาความแตกต่างของจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของ CD4 ระหว่างรอยโรคชนิดร่างแห และชนิดฝ่อลีบหรือแผลถลอก พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p=0.289$) (ภาพที่ 26)



ภาพที่ 26 แผนภูมิแสดงค่าเฉลี่ยของจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของ Foxp3, CD3 และ CD4 ต่อ 1 hpf ในรอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากชนิดร่างแห และชนิดฝ่อลีบหรือแผลถลอก

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4. สัดส่วนจำนวนของ Foxp3⁺ เกล็ดเลือดที่เซลล์ต่อจำนวน CD3⁺ ทีเซลล์ และต่อจำนวน CD4⁺ ทีเซลล์จำแนกตามชนิดของรอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปาก

4.1 สัดส่วนจำนวนของ Foxp3⁺ เกล็ดเลือดที่เซลล์ต่อจำนวน CD3⁺ ทีเซลล์

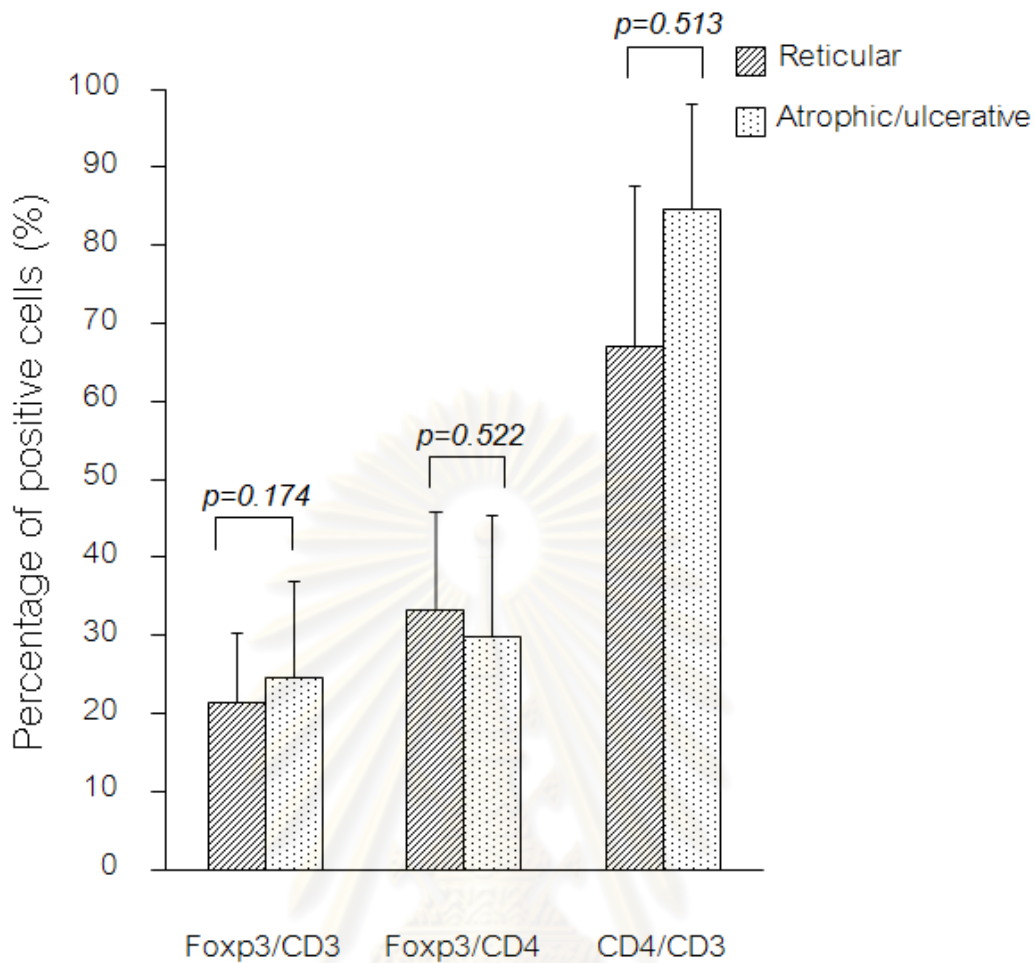
ในรอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากพบว่ามีค่าเฉลี่ยของสัดส่วนจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของ Foxp3 ต่อจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของ CD3 ในรอยโรคชนิดร่างแหคิดเป็นร้อยละ 21.56 ± 8.83 ชนิดผื่นหรือแผลถลอกพบร้อยละ 24.74 ± 12.26 โดยข้อมูลทั้งหมดมีการกระจายตัวปกติ จึงใช้สถิติ Unpaired-Sample T test ในการคำนวณหาความแตกต่างของสัดส่วนจำนวนของ Foxp3⁺ เกล็ดเลือดที่เซลล์ต่อจำนวน CD3⁺ ทีเซลล์ ระหว่างรอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากชนิดร่างแหและชนิดผื่นหรือแผลถลอก พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p=0.174$) (ภาพที่ 27)

4.2 สัดส่วนจำนวนของ Foxp3⁺ เกล็ดเลือดที่เซลล์ต่อจำนวน CD4⁺ ทีเซลล์

ในรอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากพบว่ามีค่าเฉลี่ยของสัดส่วนจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของ Foxp3 ต่อจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของ CD4 ในรอยโรคชนิดร่างแหคิดเป็นร้อยละ 33.51 ± 12.47 ชนิดผื่นหรือแผลถลอกพบร้อยละ 30.04 ± 15.57 โดยข้อมูลทั้งหมดมีการกระจายตัวปกติ จึงใช้สถิติ Unpaired-Sample T test ในการคำนวณหาความแตกต่างของสัดส่วนจำนวนของ Foxp3⁺ เกล็ดเลือดที่เซลล์ต่อจำนวน CD4⁺ ทีเซลล์ ระหว่างรอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากชนิดร่างแหและชนิดผื่นหรือแผลถลอก พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p=0.522$) (ภาพที่ 27)

4.3 สัดส่วนจำนวนของ CD4⁺ ทีเซลล์ต่อจำนวน CD3⁺ ทีเซลล์

ในรอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากพบว่ามีค่าเฉลี่ยของสัดส่วนจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของ CD4 ต่อจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของ CD3 ในรอยโรคชนิดร่างแหคิดเป็นร้อยละ 67.18 ± 20.60 ชนิดผื่นหรือแผลถลอกพบร้อยละ 84.69 ± 13.55 โดยข้อมูลทั้งหมดมีการกระจายตัวปกติ จึงใช้สถิติ Unpaired-Sample T test ในการคำนวณหาความแตกต่างของสัดส่วนจำนวนของ CD4⁺ ทีเซลล์ ต่อจำนวน CD3⁺ ทีเซลล์ ระหว่างรอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากชนิดร่างแหและชนิดผื่นหรือแผลถลอก พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p=0.513$) (ภาพที่ 27)



ภาพที่ 27 แผนภูมิแสดงค่าเฉลี่ยสัดส่วนของจำนวนของ Fcpx3⁺ เภอูลาทอรี ทีเซลล์ต่อจำนวน CD3⁺ ทีเซลล์ และ CD4⁺ ทีเซลล์ในรอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากชนิดร่างแห และชนิดฝอสิบหรือแผลถลอก

Fcpx3/CD3 = Percentage of Fcpx3⁺ cells of CD3⁺ cells

Fcpx3/CD4 = Percentage of Fcpx3⁺ cells of CD4⁺ cells

CD4/CD3 = Percentage of CD4⁺ cells of CD3⁺ cells

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

5. การแสดงออกของ Foxp3, CD3 และ CD4 ภายในชั้นเยื่อบุผิว

ภายในชั้นเยื่อบุผิวของชิ้นเนื้อตัวอย่างส่วนใหญ่ทั้งในรอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปาก (ภาพที่ 28) เนื้อเยื่อปริทันต์อักเสบ และเนื้อเยื่อปกติ (ภาพที่ 29) สามารถพบการแสดงออกของ Foxp3, CD3 และ CD4 โดยมักพบในบริเวณชั้นเบซัลเซลล์ และชั้นพริกเกิลเซลล์

5.1 การแสดงออกของ Foxp3 ภายในชั้นเยื่อบุผิว

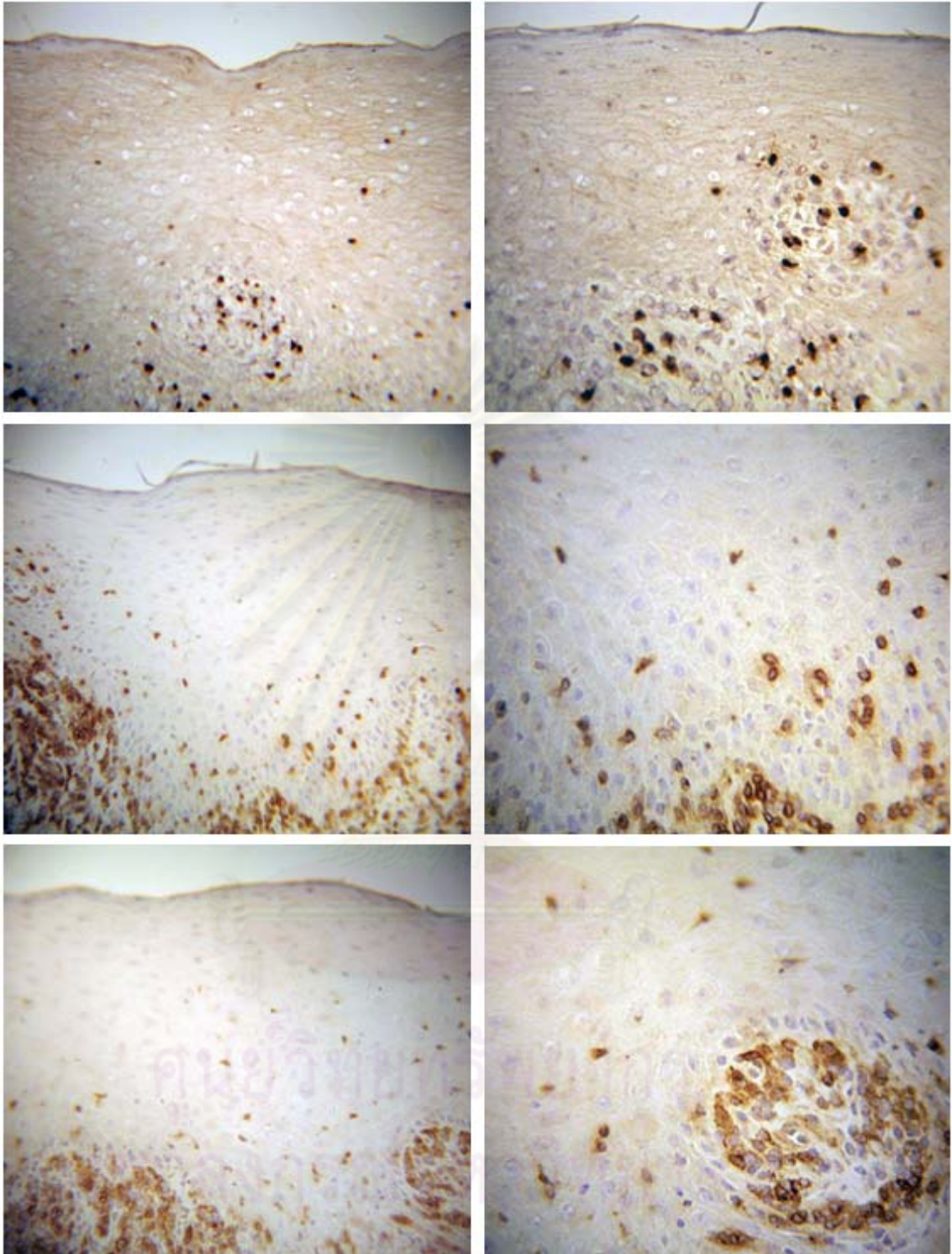
พบการแสดงออกของ Foxp3 ภายในชั้นเยื่อบุผิวในรอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากทั้ง 20 ราย (ร้อยละ 100) สำหรับเนื้อเยื่อปริทันต์อักเสบพบ 18 ราย (ร้อยละ 90) และเนื้อเยื่อปกติพบ 8 ราย (ร้อยละ 80) ซึ่งใช้สถิติ Fisher's Exact test ทดสอบไม่พบความสัมพันธ์ทางสถิติระหว่างการแสดงออกของ Foxp3 กับชนิดของกลุ่มตัวอย่าง ($p=0.138$)

5.2 การแสดงออกของ CD3 ภายในชั้นเยื่อบุผิว

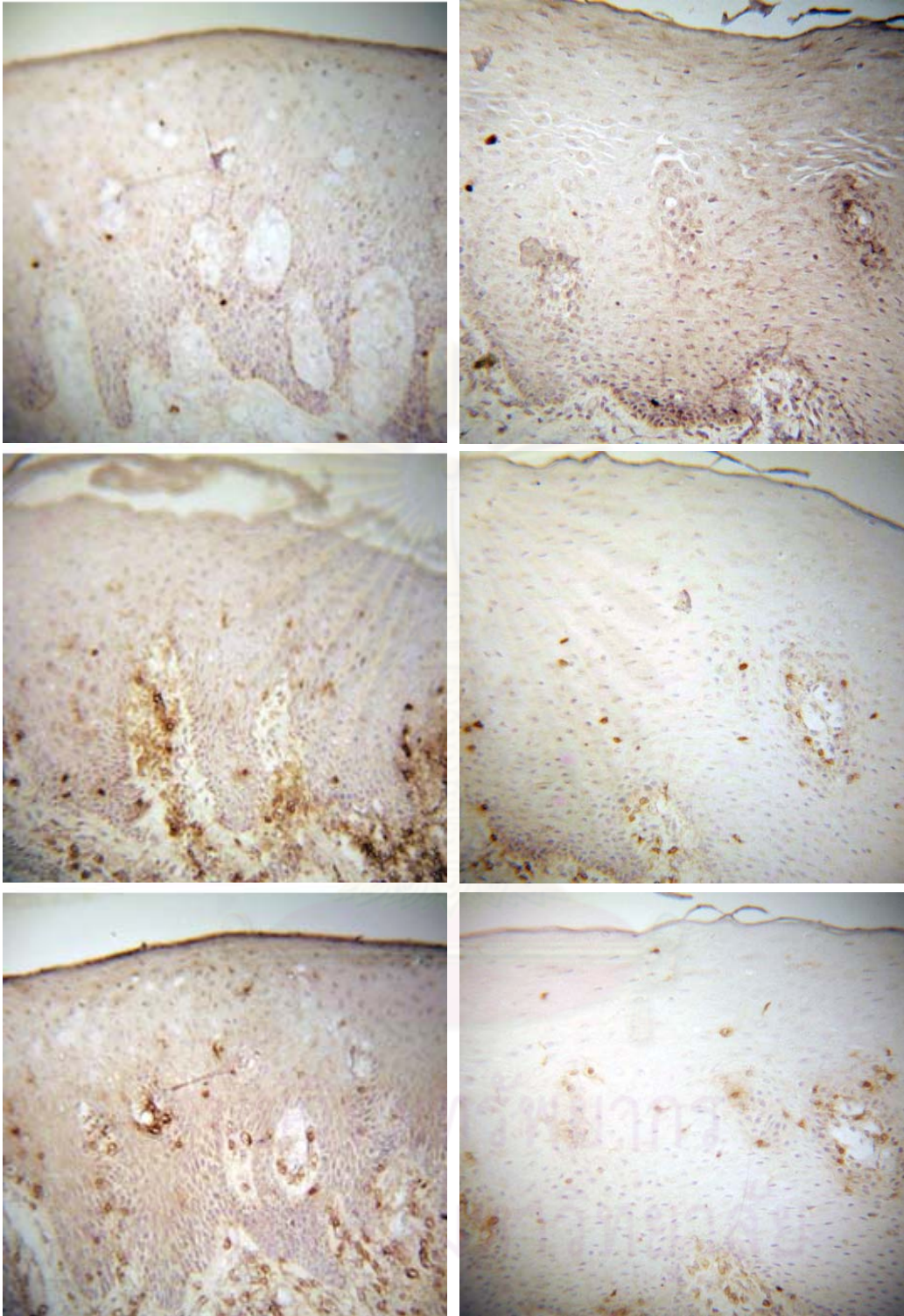
พบการแสดงออกของ CD3 ภายในชั้นเยื่อบุผิวในรอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากทั้ง 20 ราย (ร้อยละ 100) เช่นเดียวกับเนื้อเยื่อปริทันต์อักเสบซึ่งพบทั้ง 20 ราย (ร้อยละ 100) สำหรับเนื้อเยื่อปกติพบ 9 ราย (ร้อยละ 90) ซึ่งใช้สถิติ Fisher's Exact test ทดสอบไม่พบความสัมพันธ์ทางสถิติระหว่างการแสดงออกของ CD3 กับชนิดของกลุ่มตัวอย่าง ($p=0.200$)

5.3 การแสดงออกของ CD4 ภายในชั้นเยื่อบุผิว

พบการแสดงออกของ CD4 ภายในชั้นเยื่อบุผิวในรอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากทั้ง 20 ราย (ร้อยละ 100) เช่นเดียวกับเนื้อเยื่อปริทันต์อักเสบซึ่งพบทั้ง 20 ราย (ร้อยละ 100) สำหรับเนื้อเยื่อปกติพบ 9 ราย (ร้อยละ 90) ซึ่งใช้สถิติ Fisher's Exact test ทดสอบไม่พบความสัมพันธ์ทางสถิติระหว่างการแสดงออกของ CD4 กับชนิดของกลุ่มตัวอย่าง ($p=0.200$)



ภาพที่ 28 พบเซลล์ที่มีการแสดงออกของ Foxp3 (ภาพบน) CD3 (ภาพกลาง) และ CD4 (ภาพล่าง) บริเวณชั้นเยื่อเมือกของรอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากที่กำลังขยาย 200 (ภาพซ้าย) และ 400 (ภาพขวา)



ภาพที่ 29 พบเซลล์ที่มีการแสดงออกของ Fcpx3 (ภาพบน) CD3 (ภาพกลาง) และ CD4 (ภาพล่าง) บริเวณชั้นเยื่อบุผิวของเนื้อเยื่อปริทันต์อักษเสบ (ภาพซ้าย) และเนื้อเยื่อปกติ (ภาพขวา) ที่กำลังขยาย 200 เท่า

อภิปรายผล สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

อภิปรายผลการวิจัย

จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าผู้ป่วยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากมักอยู่ในช่วงวัยกลางคน โดยพบในเพศหญิงมากกว่าเพศชาย ซึ่งใกล้เคียงกับหลายการศึกษาที่ผ่านมาทั้งในประเทศไทย และต่างประเทศ [4, 5] ถึงแม้รอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากชนิดร่างแหจะเป็นลักษณะที่พบได้มากที่สุด [1, 4, 20] แต่ผู้ป่วยที่มารับการตรวจรักษา ส่วนใหญ่เป็นรอยโรคชนิดฝ่อลีบ (ร้อยละ 60) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้านี้ [35] เนื่องจากรอยโรคชนิดแผลถลอกมักทำให้เกิดอาการปวดแสบปวดร้อน จำเป็นต้องทำการรักษา ซึ่งเมื่อจำแนกระดับความรุนแรงของรอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากทางคลินิกตามเกณฑ์ของ Thongprasom และคณะ [1, 34] มีได้ตั้งแต่ระดับคะแนน 2-5 ในขณะที่ระดับคะแนน 1 ซึ่งมีลักษณะทางคลินิกเป็นเพียงรอยโรคสีขาวที่ไม่มีรอยแดง ผู้ป่วยมักไม่มีอาการหรือผู้ป่วยไม่ได้สังเกตเห็นรอยโรค [4, 18] จึงอาจมาพบแพทย์หรือทันตแพทย์เพื่อรับการตรวจรักษาได้น้อยกว่า นอกจากนี้ยังพบว่าผู้ป่วยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากชนิดฝ่อลีบหรือแผลถลอกมักมารับการรักษาเร็วกว่าผู้ป่วยที่เป็นรอยโรคชนิดร่างแห ซึ่งน่าจะเป็นผลมาจากการที่ผู้ป่วยมีอาการต่าง ๆ ที่ทำให้เกิดความไม่สบายในช่องปาก และรบกวนต่อการดำเนินชีวิตประจำวัน เช่น มีอาการเจ็บปวด แสบร้อน หรือแปร่งฟันมีเลือดออก เป็นต้น

ในการศึกษานี้พบว่ารอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากพบที่บริเวณเยื่อบุกระพุ้งแก้มของผู้ป่วยทุกราย ซึ่งจากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าเป็นตำแหน่งที่สามารถพบรอยโรคได้บ่อยที่สุด [1, 20] ดังนั้นรอยโรคที่ได้รับการตัดเพื่อใช้ในการศึกษาทั้งหมดจึงเป็นตำแหน่งเยื่อบุกระพุ้งแก้ม ทั้งนี้ผู้ป่วยอาจมีรอยโรคที่บริเวณอื่นในช่องปากได้ในขณะเดียวกัน เช่น เหงือก ลิ้น เพดานปาก หรือใต้ลิ้น แต่พิจารณาตัดชิ้นเนื้อบริเวณเยื่อบุกระพุ้งแก้มเนื่องจากสามารถทำได้ง่ายกว่าส่วนอื่น

สำหรับเนื้อเยื่ออักเสบที่ได้จากอสาสมัคนั้น เนื่องจากการอักเสบเกิดได้จากโรคหลายชนิด ซึ่งมีลักษณะการอักเสบและลักษณะที่ปรากฏทางจุลพยาธิวิทยาที่แตกต่างกัน ดังนั้นจึงคัดเลือกเฉพาะชิ้นเนื้อที่ได้รับการวินิจฉัยเป็นโรคปริทันต์อักเสบมาทำการรักษา เพื่อให้ลักษณะการอักเสบและลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาเป็นไปในทางเดียวกัน นอกจากนี้ผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบส่วนใหญ่มักอยู่ในวัยกลางคนและสูงอายุ ซึ่งเป็นช่วงอายุที่ใกล้เคียงกับกลุ่มผู้ป่วยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปาก

ส่วนเนื้อเยื่อปกติที่ใช้ในการศึกษานี้ส่วนใหญ่ได้รับการผ่าตัดฟันคุด (ร้อยละ 60) ซึ่งผู้ป่วยจะมีอายุเฉลี่ยต่ำกว่ากลุ่มผู้ป่วยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปาก และกลุ่มเนื้อเยื่อปริทันต์

อีกเสบ แต่ก็จัดอยู่ในกลุ่มประชากรที่เป็นผู้ใหญ่ (adult) เช่นเดียวกัน โดยไม่มีผู้ป่วยเด็กที่อาจทำให้จำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวที่นับได้มีความแตกต่างออกไป [54] นอกจากนี้ จากการศึกษาที่พบว่ามีความแตกต่างของสัดส่วนเพศชายต่อหญิงในแต่ละกลุ่มการศึกษา ซึ่งเป็นสิ่งที่ไม่สามารถควบคุมได้เนื่องจากข้อจำกัดด้านจำนวนตัวอย่างในแต่ละกลุ่มการศึกษา แต่ปัจจัยด้านเพศอาจไม่มีผลกระทบต่อจำนวนเซลล์ที่นับได้ เนื่องจากการศึกษาในอดีตพบว่าค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดต่าง ๆ ในชาวเอเชียพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญระหว่างเพศของประชากร [54] ดังนั้นในการศึกษานี้ สิ่งที่น่าจะมีบทบาทต่อจำนวนเซลล์ที่นับได้ในขั้นเนื้อน่าจะเป็นชนิดของกลุ่มตัวอย่างที่แตกต่างกันมากกว่า

CD3⁺ ทีเซลล์

ผลการข้อมูมิโนอิสโตเคมีในการศึกษานี้ พบว่าเซลล์ที่มีการแสดงออกของ CD3 ซึ่งเป็นตัวบ่งชี้การเป็นทีเซลล์นั้นมีการแสดงออกเป็นจำนวนมาก และมีความหนาแน่นเห็นเป็นแถบหนาใต้ชั้นเยื่อผิวของรอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปาก โดยถือเป็นลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาที่เด่นชัดในรอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปาก [4, 1, 19, 2] ส่วนบีเซลล์ มาโครฟาจ แลงเกอร์ฮานส์ เซลล์ และเนเจอร์ล คิลเลอร์เซลล์ พบได้ในปริมาณที่น้อยกว่าทีเซลล์มาก [55, 56] แตกต่างจากเนื้อเยื่อปริทันต์อักเสบ และเนื้อเยื่อปกติซึ่งทีเซลล์จะมีการกระจายตัวอยู่ทั่วไปมากกว่า จากผลการศึกษาจึงพบจำนวน CD3⁺ ทีเซลล์มากที่สุด ในรอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปาก รองลงมาคือเนื้อเยื่อปริทันต์อักเสบ และพบได้น้อยมากในเนื้อเยื่อปกติ เนื่องจากทีเซลล์มีบทบาทสำคัญในพยาธิกำเนิดของโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากที่เกี่ยวข้องกับกลไกการกำจัดแอนติเจนแบบจำเพาะ โดยเฉพาะ CD8⁺ ทีเซลล์ซึ่งมีบทบาทโดยตรงในการกำจัดแอนติเจนที่แสดงโดยเบซัลเซลล์ เหนี่ยวนำให้เกิดกระบวนการตายแบบอะพอโตซิสของเซลล์สังเคราะห์เคอราตินตามมาโดยการหลั่ง TNF- α และ CD4⁺ ทีเซลล์ซึ่งกระตุ้น CD8⁺ ทีเซลล์โดยการหลั่ง IFN- γ และ IL-2 [3] อย่างไรก็ตาม เมื่อเปรียบเทียบจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของ CD3 ในรอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากชนิดว่างแห และชนิดฝ่อลีบหรือแผลถลอกไม่พบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญระหว่างรอยโรคสองชนิดนี้

จากผลการศึกษาแสดงถึงจำนวน CD3⁺ ทีเซลล์ในเนื้อเยื่อปริทันต์อักเสบน้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับรอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปาก ซึ่งอาจเกิดจากการที่เซลล์อักเสบเหล่านี้กระจายตัวอยู่ทั่วไปใต้ชั้นเยื่อผิว โดยไม่มีการเกาะกลุ่มหนาแน่นเป็นแถบเช่นเดียวกับรอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปาก นอกจากนี้ เซลล์อักเสบส่วนใหญ่ที่มีบทบาทและพบมากในโรคปริทันต์อักเสบ คือ พลาสมาเซลล์ ทั้งในโรคปริทันต์ชนิดเฉียบพลัน (rapidly progressive periodontitis) และชนิดที่พบในผู้ใหญ่ (adult periodontitis) [57, 58] โดยพบเป็นจำนวนมากทั้งบริเวณกึ่งกลาง

ของชั้นลามินา โพรเปรีย และด้านข้างผนังของร่องลึกปริทันต์ (periodontal pocket) ซึ่ง IgG^+ เซลล์เป็นชนิดที่พบได้มากที่สุด คือ ประมาณร้อยละ 35-65 ของจำนวนเซลล์ทั้งหมด ส่วน IgA^+ เซลล์ และ IgM^+ เซลล์พบเพียงร้อยละ 8-11 และ 1-3 ตามลำดับ สำหรับที่เซลล์นั้นเป็นเซลล์ อักเสบชนิดที่พบได้น้อยมากในบริเวณกึ่งกลางของชั้นลามินา โพรเปรีย ในขณะที่บริเวณใต้เยื่อ ผนังของร่องลึกปริทันต์สามารถพบที่เซลล์ได้มากกว่า คือ ประมาณร้อยละ 30 ของจำนวนเซลล์ ทั้งหมด [58]

การแสดงออกของ CD3 สามารถพบได้บริเวณชั้นเยื่อผนังเช่นกัน รอยโรคไลเคน แพลนัส ในช่องปากและโรคปริทันต์อักเสบพบการแสดงออกของ CD3 ในผู้ป่วยทุกราย ส่วนเนื้อเยื่อปกติ สามารถพบได้ร้อยละ 90 แสดงถึงการมีบทบาทของทีเซลล์บริเวณชั้นเยื่อผนังทั้งในเนื้อเยื่อที่มี พยาธิสภาพ และเนื้อเยื่อปกติ นอกจากนี้การศึกษาในอดีตยังพบว่าจำนวนของทีเซลล์ในเยื่อผนัง ของรอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากนั้นมีจำนวนสูงกว่าเนื้อเยื่อปกติอย่างมีนัยสำคัญ โดยที่พบ ส่วนใหญ่มักเป็น $CD8^+$ ทีเซลล์ [59, 60, 61, 62] และมักพบเป็นกลุ่มบริเวณชั้นเบซัลเซลล์ ใกล้กับ ตำแหน่งที่เบสเมทเมมเบรนถูกทำลาย โดยพบได้มากกว่าบริเวณที่เบสเมทเมมเบรนไม่ถูก ทำลายอย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้ ยังพบว่าทีเซลล์มีการหลั่งเอนไซม์ MMP-9 ซึ่งอาจทำลาย โครงสร้างโปรตีนบริเวณเบสเมทเมมเบรน ทำให้ทีเซลล์สามารถเคลื่อนผ่านเข้าไปยังชั้นเยื่อผนัง [63] ซึ่งเซลล์เหล่านี้มีความสำคัญในพยาธิกำเนิดของโรคไลเคน แพลนัสในช่องปาก โดยเฉพาะ $CD8^+$ ทีเซลล์ที่ทำให้เกิดการทำลายเนื้อเยื่อตนเองจากการสร้างไซโตไคน์ เช่น $TNF-\alpha$ เหนี่ยวนำ ให้เกิดการตายแบบอะพอปโตซิสของเซลล์สังเคราะห์เคอราตินตามมา [2]

CD4⁺ ทีเซลล์

สำหรับ $CD4^+$ ทีเซลล์จากการศึกษานี้พบเซลล์ที่มีการแสดงออกของ CD4 เป็นจำนวน มากบริเวณชั้นลามินา โพรเปรียส่วนที่อยู่ลึกลงไป สอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้านี้ซึ่งพบว่า $CD4^+$ ทีเซลล์มักพบในตำแหน่งลึกลงไปใต้ชั้นเยื่อผนัง ต่างจาก $CD8^+$ ทีเซลล์ที่พบในบริเวณใกล้ ชั้นเบสเมทเมมเบรนมากกว่า [4, 29, 61] นอกจากนี้ บางการศึกษาพบว่าตำแหน่งของ $CD4^+$ ที เซลล์มักจะอยู่ติดกับพลาสมาเซลล์ ซึ่งสันนิษฐานได้ว่า $CD4^+$ ทีเซลล์อาจมีการหลั่งไซโตไคน์ที่ เหนี่ยวนำให้เซลล์ให้มีการสร้างแอนติบอดีต่อเซลล์สังเคราะห์เคอราติน [2, 61] ในขณะที่ $CD8^+$ ที เซลล์มักพบใกล้กับแมกโครฟาจ ซึ่งเชื่อว่าเซลล์เหล่านี้เหนี่ยวนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของเบส เมทเมมเบรนในรอยโรคไลเคน แพลนัส อย่างไรก็ตาม บทบาทสำคัญของ $CD4^+$ ทีเซลล์ในโรคไล เคน แพลนัส คือ รับแอนติเจนจากเซลล์ที่มีการนำเสนอแอนติเจนผ่านทาง MHC class II และถูก กระตุ้นโดย IL-12 ทำให้ $CD4^+$ ทีเซลล์มีการหลั่ง $IFN-\gamma$ และ IL-2 ซึ่งเหนี่ยวนำให้ $CD8^+$ ทีเซลล์ ทำลายเบซัลเซลล์สังเคราะห์เคอราตินตามมา [61]

ในการศึกษาครั้งนี้พบ CD4⁺ ทีเซลล์ประมาณร้อยละ 79.43 ± 17.47 ของจำนวน CD3⁺ ทีเซลล์ ซึ่งตรงกับการศึกษาก่อนหน้านี้หลายการศึกษาที่พบว่า CD4⁺ ทีเซลล์เป็นทีเซลล์ชนิดที่พบมากที่สุด ในรอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปาก [2, 61] แต่ในบางการศึกษาอาจพบว่า CD8⁺ ทีเซลล์มีจำนวนที่สูงกว่า [33] ทั้งนี้อาจจะขึ้นอยู่กับระยะเวลาการดำเนินของรอยโรค โดยรอยโรคระยะเริ่มแรกมักพบ CD4⁺ ทีเซลล์ได้มากกว่า CD8⁺ ทีเซลล์ ในขณะที่รอยโรคที่เป็นมานานจะมี CD8⁺ ทีเซลล์เพิ่มมากขึ้น ซึ่งอาจทำให้มีจำนวนมากกว่า CD4⁺ ทีเซลล์ได้ [4, 33]

นอกจากนี้ยังพบเซลล์ที่มีการแสดงออกของ CD4 ภายในชั้นเยื่อบุผิวเช่นเดียวกับ CD3 โดยสามารถพบในผู้ป่วยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากและโรคปริทันต์อักเสบทุกราย และในเนื้อเยื่อปกติพบร้อยละ 90 โดยจากการศึกษาก่อนหน้านี้พบว่าจำนวนของ CD4⁺ ทีเซลล์ในชั้นเยื่อบุผิวนั้นไม่มีความแตกต่างกันระหว่างตำแหน่งที่เบสเมมเบรนถูกทำลายและไม่ถูกทำลาย ซึ่งสันนิษฐานได้ว่า CD4⁺ ทีเซลล์นั้นไม่มีการเคลื่อนผ่านเบสเมมเบรนที่ถูกทำลายเข้าไปในชั้นเยื่อบุผิว ทั้งนี้อาจเพราะ CD8⁺ ทีเซลล์มีการแสดงออกของโมเลกุลยึดเกาะ เพื่อใช้ในการเคลื่อนผ่านที่เหมาะสมกว่า CD4⁺ ทีเซลล์ [63] ซึ่งโมเลกุลยึดเกาะที่สำคัญของเซลล์เม็ดเลือดขาวในโรคไลเคน แพลนัสในช่องปาก คือ ICAM-1 [33, 63]

Foxp3⁺ เรกูลาทอรี ทีเซลล์

สำหรับการศึกษาเรกูลาทอรี ทีเซลล์นั้น จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่า Foxp3 เป็นตัวบ่งชี้การเป็นเรกูลาทอรี ทีเซลล์ที่มีความน่าเชื่อถือ เนื่องจาก CD25⁺CD4⁺ ทีเซลล์ซึ่งก็คือ เรกูลาทอรี ทีเซลล์นั้นมีการแสดงออกของ Foxp3 อย่างเด่นชัด และการแสดงออกนี้จำกัดอยู่ในกลุ่ม CD25⁺CD4⁺ ทีเซลล์เท่านั้น [8, 44] การศึกษาเรกูลาทอรี ทีเซลล์ในครั้งนี้จึงสามารถใช้ในการแสดงออกของ Foxp3 เพียงอย่างเดียวเพื่อเป็นตัวบ่งชี้การเป็น เรกูลาทอรี ทีเซลล์ได้ [8, 10]

การศึกษาแสดงค่าเฉลี่ยของจำนวน Foxp3⁺ เรกูลาทอรี ทีเซลล์ในรอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากจำนวน 100.04 ± 43.27 เซลล์/hpf ซึ่งสามารถตรวจพบการติดสีน้ำตาลเข้มได้ชัดเจนกระจายอยู่เป็นจำนวนมากในชั้นลามินา โพรเปรียของชั้นเนื้อ โดยมีความแตกต่างจากการศึกษาก่อนหน้านี้ของ Tao และคณะ [53] ซึ่งพบการแสดงออกของ Foxp3 ในรอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากในผู้ป่วย 20 ราย โดยเฉลี่ย 40.99 ± 24.68 เซลล์/hpf ซึ่งอาจเป็นเพราะวิธีในการเก็บรักษาชิ้นเนื้อก่อนทำการย้อมทางอิมมูโนฮิสโตเคมีแตกต่างกัน เนื่องจากการศึกษานี้ใช้ชิ้นเนื้อแช่แข็ง (frozen tissue) ซึ่งมีข้อดี คือ องค์ประกอบของแอนติเจนมีสภาพดีกว่า เนื่องจากถูกแช่แข็งให้คงสภาพภายในเวลาที่รวดเร็ว และกระบวนการคงสภาพไม่ก่อให้เกิดปฏิกิริยาใด ๆ ที่ทำลายโปรตีนในเนื้อเยื่อ [65, 66] จึงอาจทำให้พบปฏิกิริยาที่ให้ผลบวกต่อเซลล์ได้มากกว่า เมื่อเทียบกับชิ้นเนื้อในพาราฟิน (paraffin embedded tissue) ที่มีข้อดีกว่าในด้านการเก็บรักษา ซึ่งถูกเลือกใช้

ในการศึกษาของ Tao และคณะ อย่างไรก็ตาม เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของจำนวนเซลล์ การแสดงออกของ Foxp3 พบว่าในการศึกษาครั้งนี้กลุ่มรอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากมีการแสดงออกของ Foxp3 มากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.001$) เช่นเดียวกับการศึกษาของ Tao และคณะ

การเพิ่มจำนวนของเรกูลาทอรี ทีเซลล์ในรอยโรคภูมิคุ้มกันต้านทานเนื้อเยื่อตนเองได้รับการอธิบายว่าเพื่อควบคุมการตอบสนองของแอนติเจนที่มีความจำเพาะต่อเนื้อเยื่อตนเอง และแอนติเจนที่มีการแสดงออกต่อระบบภูมิคุ้มกันผ่านทางเยื่อเมิว เพื่อให้เกิดความสมดุลระหว่างทีเซลล์ที่ทำลายเนื้อเยื่อตนเอง และเรกูลาทอรี ทีเซลล์ ซึ่งสามารถอธิบายได้โดยเรกูลาทอรี ทีเซลล์นั้นอาจถูกกระตุ้นให้มีการเพิ่มจำนวนโดยการเหนี่ยวนำของทีเซลล์ที่ทำลายเนื้อเยื่อตนเองที่มีจำนวนมากบริเวณรอยโรค [3] เพื่อควบคุมระบบภูมิคุ้มกันให้เกิดความสมดุลโดยการหลั่ง IL-4, IL-10 และ TGF- β [7] หรือโดยการสัมผัสระหว่างเซลล์ เพื่อลดการทำงานของทีเซลล์ชนิดอื่น ๆ ที่จำเพาะต่อแอนติเจน [39, 67]

อย่างไรก็ตาม เรกูลาทอรี ทีเซลล์เหล่านี้อาจมีความบกพร่องที่มีส่วนก่อให้เกิดความเรื้อรังของโรคไลเคน แพลนัสในช่องปาก โดยเฉพาะความผิดปกติของกลไกการกดภูมิคุ้มกันของ TGF- β 1 ซึ่งได้รับการสนับสนุนไว้หลายประการ เช่น ขาดแคลนเรกูลาทอรี ทีเซลล์ที่สามารถหลั่ง TGF- β 1 ได้ การหลั่ง TGF- β 1 ถูกยับยั้ง ตัวรับของ TGF- β 1 มีความผิดปกติหรือจำนวนไม่เพียงพอ ความผิดปกติของสัญญาณภายในเซลล์ที่ได้รับจากตัวรับของ TGF- β 1 หรือ TGF- β 1 ที่หลั่งไม่สามารถทำงานได้ เป็นต้น [2]

เมื่อพิจารณาถึงการที่ Torgerson [10] สรุปลักษณะความผิดปกติของเรกูลาทอรี ทีเซลล์ทั้งจำนวน และความสามารถในการทำงานในผู้ป่วยโรคภูมิคุ้มกันต้านทานเนื้อเยื่อตนเองจากการศึกษาที่ผ่านมา พบว่าโรคไลเคนแพลนัสในช่องปากนั้นยังไม่สามารถจัดอยู่ในกลุ่มใดกลุ่มหนึ่งใน 6 กลุ่มตามการจำแนกของ Torgerson โดยผลการศึกษาครั้งนี้และของ Tao และคณะยืนยันถึงการเพิ่มจำนวนของ Foxp3⁺ เรกูลาทอรี ทีเซลล์ แต่ในปัจจุบันยังไม่มีผู้ศึกษาถึงความสามารถในการทำงานของ Foxp3⁺ เรกูลาทอรี ทีเซลล์ในโรคไลเคน แพลนัสในช่องปาก

สำหรับความแตกต่างของจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของ Foxp3 ระหว่างชนิดของรอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากนั้นได้จำแนกเป็น 2 กลุ่ม คือ ชนิดว่างแห และชนิดฝ่อลีบหรือแผลถลอก เนื่องจากต้องการทราบความแตกต่างของจำนวน Foxp3⁺ เรกูลาทอรี ทีเซลล์ ระหว่างรอยโรคที่ไม่รุนแรง คือ ชนิดว่างแห เปรียบเทียบกับชนิดที่มีความรุนแรงและมักก่อให้เกิดอาการปวดแสบปวดร้อน คือ ชนิดฝ่อลีบหรือแผลถลอก โดยจากการศึกษานี้แม้จำนวนเซลล์ที่นับได้ในรอยโรคชนิดว่างแหในผู้ป่วย 6 ราย มากกว่าชนิดฝ่อลีบหรือแผลถลอกในผู้ป่วย 14 ราย แต่ในทางสถิติพบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างรอยโรค 2 กลุ่มนี้ ซึ่งแตกต่างจากการศึกษาของ

Tao และคณะที่พบว่าจำนวน Foxp3⁺ เรกูลาทอรี ทีเซลล์ในรอยโรคชนิดร่างแฮมมีจำนวน 63.6 ± 23.2 เซลล์/hpf ในผู้ป่วย 7 ราย สูงกว่าชนิดฝ่อลีบหรือแผลถลอกที่มีจำนวนเซลล์ 28.8 ± 16.8 เซลล์/hpf ในผู้ป่วย 13 ราย อย่างมีนัยสำคัญ ($p=0.013$) ทั้งนี้อาจเป็นเพราะมีความแตกต่างกันในเรื่องของวิธีการเก็บชิ้นเนื้อ ชนิดของแอนติบอดีที่ใช้ในการศึกษา และระยะเวลาการดำเนินของโรค แต่อย่างไรก็ตาม ทั้งสองการศึกษานี้เป็นการศึกษาในกลุ่มตัวอย่างที่ค่อนข้างเล็ก ถ้าเพิ่มจำนวนกลุ่มตัวอย่างอาจจะทำให้เห็นความแตกต่างที่ชัดเจนขึ้น

สำหรับเนื้อเยื่อปริทันต์อีกเสบพบว่าจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของ Foxp3 น้อยกว่าในรอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปาก แต่มีจำนวนสูงกว่าเนื้อเยื่อปกติอย่างมีนัยสำคัญ แสดงให้เห็นว่าการเพิ่มจำนวนของ Foxp3⁺ เรกูลาทอรี ทีเซลล์ในเนื้อเยื่อโรคปริทันต์ซึ่งสอดคล้องกับหลายการศึกษาที่ผ่านมา ซึ่งพบว่าการเพิ่มจำนวนของเซลล์เหล่านี้มีความสัมพันธ์กับรอยโรคที่มีความรุนแรง จึงคาดว่าเรกูลาทอรี ทีเซลล์มีบทบาทสำคัญในโรคปริทันต์อีกเสบ เนื่องจากความสามารถในการกดการทำงานของทีเซลล์อื่น ๆ ที่ทำลายเนื้อเยื่อ จึงช่วยลดการถูกทำลายของเนื้อเยื่อปริทันต์ [68, 69, 70] แต่ทั้งนี้ในบางการศึกษาอาจพบว่าจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของ Foxp3 ในเนื้อเยื่อโรคปริทันต์อีกเสบนั้นไม่มีความแตกต่างกับเนื้อเยื่อปกติ [71]

นอกจากนี้ยังพบความสัมพันธ์เชิงลบระหว่างจำนวนเรกูลาทอรี ทีเซลล์กับ receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand (RANKL) ซึ่งมีความสำคัญในการแปรรูปของเซลล์ออสทีโอคลาสต์ (osteoclast) โดยพบ RANKL ในเนื้อเยื่อโรคปริทันต์อีกเสบจำนวนมากกว่าเนื้อเยื่อปกติอย่างมีนัยสำคัญ และไซโตไคน์บางชนิดที่หลังจากเรกูลาทอรี ทีเซลล์ เช่น IL-10 สามารถกดการสร้างและการแสดงออกของ RANKL โดยทีเซลล์ซึ่งถูกกระตุ้น [71] นอกจากนี้ ยังพบว่าการใช้ anti-GITR ซึ่งยับยั้งการทำงานของเรกูลาทอรี ทีเซลล์นั้น ชักนำให้เซลล์อีกเสบเข้ามาบริเวณรอยโรคมากขึ้น และทำให้ระดับการละลายตัวของกระดูกเบ้าฟัน (alveolar bone) สูงขึ้น ทั้งในการศึกษาทางห้องปฏิบัติการ (in vitro) และในสิ่งมีชีวิต (in vivo) [69] แสดงถึงความสำคัญของเรกูลาทอรี ทีเซลล์ในโรคปริทันต์อีกเสบ ซึ่งอาจมีบทบาทในการลดความรุนแรงของโรคปริทันต์อีกเสบได้

จากการศึกษาพบการแสดงออกของ Foxp3 บริเวณชั้นเยื่อบุผิวในชิ้นเนื้อเกือบทั้งหมด ทั้งในรอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปาก เนื้อเยื่อปริทันต์อีกเสบ และเนื้อเยื่อปกติ ซึ่งอาจแสดงถึงบทบาทของ Foxp3⁺ เรกูลาทอรี ทีเซลล์บริเวณชั้นเยื่อบุผิว ในการทำหน้าที่ควบคุมระบบภูมิคุ้มกัน ซึ่งไม่ได้มีเฉพาะชั้นได้เยื่อบุผิวเท่านั้น และมีบทบาททั้งในเนื้อเยื่อที่มีพยาธิสภาพและเนื้อเยื่อปกติ

เมื่อดูสัดส่วนจำนวนของ Foxp3⁺ เรกูลาทอรี ทีเซลล์ในทีเซลล์ของโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากพบว่าคิดเป็นร้อยละ 31.08 ± 14.47 ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับ

เนื้อเยื่อปริทันต์อักเสบหรือเนื้อเยื่อปกติ ผลการศึกษานี้ใกล้เคียงกับการศึกษาของ de Boer และคณะ [8] ที่ศึกษาในรอยโรคไลเคน แพลนัสบริเวณผิวหนัง พบสัดส่วนจำนวน Foxp3⁺ เวกูลาทอรีทีเซลล์ใน CD3⁺ ทีเซลล์ที่ไม่แตกต่างจากเนื้อเยื่อปกติ และเนื้อเยื่อโรคผิวหนังอักเสบชนิดอื่น ๆ โดยคิดเป็นร้อยละ 25-29 ของจำนวนทีเซลล์ นอกจากนี้ สัดส่วนจำนวนของ Foxp3⁺ เวกูลาทอรีทีเซลล์ใน CD4⁺ ทีเซลล์ ซึ่งยังไม่มีรายงานการศึกษาในรอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปาก พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับเนื้อเยื่ออักเสบหรือเนื้อเยื่อปกติเช่นเดียวกัน

เมื่อเปรียบเทียบระหว่างชนิดของรอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปาก พบว่าสัดส่วนของจำนวนของ Foxp3⁺ เวกูลาทอรีทีเซลล์ใน CD3⁺ ทีเซลล์หรือใน CD4⁺ ทีเซลล์ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญระหว่างรอยโรคไลเคน แพลนัสชนิดร่างแห และชนิดผื่นหรือแผลถลอก ซึ่งอาจแสดงให้เห็นบทบาทของ Foxp3⁺ เวกูลาทอรีทีเซลล์ในรอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากที่แม้ว่าลักษณะของรอยโรคชนิดร่างแหมีความรุนแรงน้อยกว่าชนิดผื่นหรือแผลถลอก แต่กลไกการควบคุมการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันโดย Foxp3⁺ เวกูลาทอรีทีเซลล์น่าจะไม่มี ความแตกต่างกัน ทั้งนี้ในการหาข้อสรุปในอนาคตควรจะศึกษาในกลุ่มผู้ป่วยจำนวนมากขึ้น

ดังนั้นจากผลการศึกษาอาจสันนิษฐานได้ว่าการเพิ่มจำนวนของ Foxp3⁺ เวกูลาทอรีทีเซลล์นั้นเพิ่มขึ้นเพื่อตอบสนองต่อจำนวนของ CD3⁺ หรือ CD4⁺ ทีเซลล์ที่เพิ่มขึ้นในรอยโรคเหล่านี้ เพื่อให้เกิดความสมดุลระหว่างทีเซลล์ที่ทำหน้าที่กระตุ้นภูมิคุ้มกัน และทีเซลล์ที่ทำหน้าที่กดภูมิคุ้มกัน เพื่อควบคุมการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันไม่ให้มีมากเกินไป นอกจากนี้ การทำหน้าที่ของ Foxp3⁺ เวกูลาทอรีทีเซลล์ในรอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากอาจมีความผิดปกติโดยมีการทำหน้าที่ในการกดภูมิคุ้มกันลดลง แม้จะมีจำนวนที่มากขึ้น ทำให้เกิดการเพิ่มจำนวนและการทำหน้าที่ของ effector ทีเซลล์ ก่อให้เกิดพยาธิสภาพของโรคขึ้น

ข้อจำกัดในการศึกษา

เนื่องจากงานวิจัยนี้มีข้อจำกัดของเวลา ทำให้การเก็บข้อมูลในงานวิจัยมีกลุ่มตัวอย่างขนาดเล็ก อีกทั้งมีข้อจำกัดของวัสดุเครื่องมือทางห้องปฏิบัติการ และงบประมาณ ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงเป็นการศึกษาการแสดงผลของโมเลกุลดังกล่าวในเนื้อเยื่อผู้ป่วยเพียงในระดับโปรตีน แต่ไม่ได้ทำการศึกษาถึงหน้าที่ในระบบภูมิคุ้มกันทางห้องปฏิบัติการ (in vitro functional assay) ของเวกูลาทอรีทีเซลล์ในโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากว่ามีความผิดปกติหรือไม่ อย่างไรก็ตาม ข้อมูลจากการศึกษานี้สามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการศึกษาถึงความสัมพันธ์ของ Foxp3⁺ เวกูลาทอรีทีเซลล์กับโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากในแนวลึกได้ และอาจนำไปประยุกต์เป็นแนวทางการศึกษาต่อไปได้ในอนาคต

สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าจำนวน Foxp3⁺ เกล็ดเลือดที่เซลล์ CD3⁺ ที่เซลล์ และ CD4⁺ ที่เซลล์บริเวณใต้ชั้นเยื่อเมือระหว่างกลุ่มตัวอย่างมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยพบเซลล์เหล่านี้ได้มากที่สุดในรอบโรคไลเคน แพลนัสในช่องปาก รองลงมา คือ เนื้อเยื่อปริทันต์อักเสบ และเนื้อเยื่อปกติ อย่างไรก็ตาม ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างสัดส่วนจำนวน Foxp3⁺ เกล็ดเลือดที่เซลล์ต่อจำนวน CD3⁺ ที่เซลล์ และ CD4⁺ ที่เซลล์ ระหว่างทั้ง 3 กลุ่ม รวมทั้งระหว่างโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากชนิดร่าแห และชนิดผ่อลึบหรือแผลถลอก การศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าจำนวน Foxp3⁺ เกล็ดเลือดที่เซลล์ที่เพิ่มขึ้นในรอบโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากนั้น น่าจะมีความสัมพันธ์เกี่ยวข้องกับการเกิดพยาธิสภาพของรอบโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากของผู้ป่วยคนไทย

ข้อเสนอแนะ

การศึกษาเกล็ดเลือดที่เซลล์ในโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากยังมีน้อยมากและกลุ่มตัวอย่างที่ศึกษามีขนาดเล็ก สำหรับการศึกษาดำเนินไปในอนาคตอาจต้องมีการเก็บตัวอย่างจำนวนมากขึ้นเพื่อสามารถใช้อ้างอิงในระดับประชากร และร่วมกับการศึกษาการแสดงออกของ Foxp3 ในระดับ mRNA ในเนื้อเยื่อหรือในเซรัมควบคู่ไปด้วย ซึ่งอาจทำให้ผลการศึกษามีความชัดเจนยิ่งขึ้น และควรมีการศึกษาถึงบทบาทหน้าที่ในระบบภูมิคุ้มกันของเกล็ดเลือดที่เซลล์ในโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากในเชิงลึกต่อไป ซึ่งอาจจะศึกษาในห้องปฏิบัติการหรือในสัตว์ทดลอง นอกจากนี้ยังควรมีการศึกษาเกี่ยวกับเกล็ดเลือดที่เซลล์ในโรคในช่องปากอื่น ๆ เช่น โรคปริทันต์อักเสบ หรือโรคภูมิคุ้มกันต้านทานเนื้อเยื่อตนเองชนิดอื่น ๆ ที่มีรอบโรคในช่องปาก เนื่องจากการยังมีการศึกษาในเรื่องนี้อยู่บ่อย และควรมีการศึกษาผลของการใช้ยารักษาโรคไลเคนแพลนัสหรือโรคในช่องปากอื่น ๆ ต่อระดับจำนวนของเกล็ดเลือดที่เซลล์ร่วมด้วย

ศูนย์วิจัยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายการอ้างอิง

- [1] กอบกาญจน์ ทองประสม, บรรณานิการ. ไคเคน แพลนัส. เวชศาสตร์ช่องปากขั้นสูง. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2552.
- [2] Sugerman, P. B., et al. The pathogenesis of oral lichen planus. Crit. Rev. Oral Biol. Med. 13 (2002): 350-65.
- [3] Mason, D., and Powrie, F. Control of immune pathology by regulatory T cells. Curr. Opin. Immunol. 10 (1998): 649-55.
- [4] Scully, C., et al. Update on oral lichen planus: etiopathogenesis and management. Crit. Rev. Oral Biol. Med. 9 (1998): 86-122.
- [5] Thongprasom, K., et al. Oral lichen planus: a retrospective comparative study between Thai and Croatian patients. Acta. Dermatovenerol. Croat. 17 (2009): 2-8.
- [6] Fontenot, J. D., and Rudensky, A. Y. A well adapted regulatory contrivance: regulatory T cell development and the forkhead family transcription factor Foxp3. Nat. Immunol. 6 (2005): 331-7.
- [7] Sakagushi, S. Regulatory T cells: key controllers of immunologic self-tolerance. Cell 101 (2000): 455-8.
- [8] de Boer, O. J., van der Loos, C. M., Teeling, P., van der Wal, A. C., and Teunissen, M. B. Immunohistochemical analysis of regulatory T cell markers Foxp3 and GITR on CD4⁺CD25⁺ T cells in normal skin and inflammatory dermatoses. J. Histochem. Cytochem. 55 (2007): 891-8.
- [9] O'Garra, A., and Vieira, P. Regulatory T cells and mechanisms of immune system control. Nat. Med. 10 (2004): 801-5.
- [10] Torgerson, T. R. Regulatory T cells in human autoimmune diseases. Springer Semin. Immunopathol. 28 (2006): 63-76.
- [11] Chang, X., Zheng, P., and Liu, Y. Foxp3: a genetic link between immunodeficiency and autoimmune diseases. Autoimmun. Rev. 5 (2006): 399-402.
- [12] Marazuela, M., et al. Regulatory T cells in human autoimmune thyroid disease. J. Clin. Endocrinol. Metab. 91 (2006): 3639-46.

- [13] Kuhn, A., Beissert, S., and Krammer, P. H. CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells in human lupus erythematosus. Arch. Dermatol. Res. 301 (2009): 71-81.
- [14] Cao, D., van Vollenhoven, R., Klareskog, L., Trollmo, C., and Malmström, V. CD25^{bright}CD4⁺ regulatory T cells are enriched in inflamed joints of patients with chronic rheumatic disease. Arthritis. Res. Ther. 6 (2004): 335-46.
- [15] Verhagen, J., et al. Absence of T-regulatory cell expression and function in atopic dermatitis skin. J. Allergy Clin. Immunol. 117 (2006): 176-83.
- [16] Eisen, D. The evaluation of cutaneous, genital, scalp, nail, esophageal, and ocular involvement in patients with oral lichen planus. Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod. 88 (1999): 431-6.
- [17] Greenberg, M. S., and Glick, M. Burket's oral medicine diagnosis & treatment. 10th ed. Ontario: BC Decker, 2003.
- [18] Scully, C., and el-Kom, M. Lichen planus: review and update on pathogenesis. J. Oral Pathol. 14 (1985): 431-58.
- [19] Mollaoglu, N. Oral lichen planus: a review. Br. J. Oral Maxillofac. Surg. 38 (2000): 370-7.
- [20] Ismail, S. B., Kumar, S. K., and Zain, R. B. Oral lichen planus and lichenoid reactions: etiopathogenesis, diagnosis, management and malignant transformation. J. Oral Sci. 49 (2007): 89-106.
- [21] Lodi, G., et al. Current controversies in oral lichen planus: report of an international consensus meeting. Part 2. Clinical management and malignant transformation. Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod. 100 (2005): 164-78.
- [22] Warnakulasuriya, S., Johnson, N. W., and van der Waal, I. Nomenclature and classification of potentially malignant disorders of the oral mucosa. J. Oral Pathol. Med. 36 (2007): 575-80.
- [23] Rajentheran, R., McLean, N. R., Kelly, C. G., Reed, M.F., and Nolan, A. Malignant transformation of oral lichen planus. Eur. J. Surg. Oncol. 25 (1999): 520-3.
- [24] Krutchkoff, D. J., and Eisenberg, E. Lichenoid dysplasia: a distinct histopathological entity. Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. 60 (1985): 308-15.
- [25] GunaShekhar, M., et al. Oral lichen planus in childhood: A rare case report. Dermatol. Online J. 16 (2010): 9.

- [26] Sano, S. M., et al. Sensitivity of direct immunofluorescence in oral diseases. Study of 125 cases. Med. Oral Patol. Oral Cir. Bucal. 13 (2008): 287-91.
- [27] Axéll, T., and Rundqvist, L. Oral lichen planus-a demographic study. Community Dent. Oral Epidemiol. 15 (1987): 52-6.
- [28] Zhao, Z. Z., Savage, N. W., Sugerman, P. B., and Walsh, L. J. Mast cell/T cell interactions in oral lichen planus. J. Oral Pathol. Med. 31 (2002): 189-95.
- [29] Walsh, L. J., Savage, N. W., Ishii, T., and Seymour, G. J. Immunopathogenesis of oral lichen planus. J. Oral Pathol. Med. 19 (1990): 389-96.
- [30] Erdem, M. T., Gulec, A. I., Kiziltunc, A., Yildirim, A., and Atasoy, M. Increased serum levels of tumor necrosis factor alpha in lichen planus. Dermatology 207 (2003): 367-70.
- [31] Thongprasom, K., Dhanuthai, K., Sarideechaigul, W., Chaiyarit, P., and Chaimusig, M. Expression of TNF-alpha in oral lichen planus treated with fluocinolone acetonide 0.1%. J. Oral Pathol. Med. 35 (2006): 161-6.
- [32] Youngnak-Piboonratanakit, P., et al. Expression of IFN-gamma before and after treatment of oral lichen planus with 0.1% fluocinolone acetonide in orabase. J. Oral Pathol. Med. 38 (2009): 689-94.
- [33] Villarroel-Dorrego, M., Correnti, M., Delgado, R., and Tapia, F. J. Oral lichen planus: immunohistology of mucosal lesions. J. Oral Pathol. Med. 31 (2002): 410-4
- [34] Thongprasom, K., Luangjarmekorn, L., Sererat, T., and Taweessap, W. Relative efficacy of fluocinolone acetonide compares with triamcinolone acetonide in treatment of oral lichen planus. J. Oral Pathol. Med. 21 (1992): 456-8.
- [35] Thongprasom, K., Luengvisut, P., Wongwatanakij, A., and Boonjatturus, C. Clinical evaluation in treatment of oral lichen planus with topical fluocinolone acetonide: a 2-year follow-up. J. Oral Pathol. Med. 32 (2003): 315-22.
- [36] Belkaid, Y., and Rouse, B. T. Natural regulatory T cells in infectious disease. Nat. Immunol. 6 (2005): 353-60.
- [37] Itoh, M., et al. Thymus and autoimmunity: production of CD25⁺CD4⁺ naturally anergic and suppressive T cells as a key function of the thymus in maintaining immunologic self-tolerance. J. Immunol. 162 (1999): 5317-26.

- [38] Human regulatory T cell analysis. A new approach using CD127, CD25, and CD4 antibodies for identification, isolation, and characterization of viable human regulatory T lymphocytes [Online]. BD Biosciences.com (Producer). Available from http://www.bdb europe.com/images/bdb/dm/06076IF1_1166.pdf [2009, Aug 7]
- [39] Bacchetta, R., Gregori, S., and Roncarolo, M. G. CD4⁺ regulatory T cells: mechanisms of induction and effector function. Autoimmun. Rev. 4 (2005): 491-6.
- [40] Kryczek, I., et al. Foxp3 defines regulatory T cells in human tumor and autoimmune disease. Cancer Res. 69 (2009): 3995-4000.
- [41] Roncarolo, M. G., Bacchetta, R., Bordignon, C., Narula, S., and Levings, M. K. Type 1 T regulatory cells. Immunol. Rev. 182 (2001): 68-79.
- [42] Valencia, X., and Lipsky, P. E. CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺ regulatory T cells in autoimmune diseases. Nat. Clin. Pract. Rheumatol. 3 (2007): 619-26.
- [43] McHugh, R. S., et al. CD4⁺CD25⁺ immunoregulatory T cells: gene expression analysis reveals a functional role for the glucocorticoid-induced TNF receptor. Immunity 16 (2002): 311-23.
- [44] Hori, S., Nomura, T., and Sakaguchi, S. Control of regulatory T cell development by the transcription factor *Foxp3*. Science 299 (2003): 1057-61.
- [45] Blair, P. J., et al. CD4⁺CD8⁻ T cells are the effector cells in disease pathogenesis in the scurfy (sf) mouse. J. Immunol. 153 (1994): 3764-74.
- [46] Baud, O., et al. Treatment of the immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked syndrome (IPEX) by allogeneic bone marrow transplantation. N. Eng. J. Med. 344 (2001): 1758-62.
- [47] Montagnoli, C., et al. B7/CD28-dependent CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells are essential components of the memory-protective immunity to *Candida albicans*. J. Immunol. 169 (2002): 6298-308.
- [48] Lundgren, A., et al. Mucosal Foxp3-expressing CD4⁺ CD25^{high} regulatory T cells in *Helicobacter pylori*-infected patients. Infect. Immun. 73 (2005): 523-31.
- [49] Wolf, A. M., et al. Increase of regulatory T cells in the peripheral blood of cancer patients. Clin. Cancer Res. 9 (2003): 606-12.

- [50] Woo, E. Y., et al. Regulatory CD4⁺CD25⁺ T cells in tumors from patients with early-stage non-small cell lung cancer and late-stage ovarian. Cancer Res. 61 (2001): 4766-72.
- [51] Bignone, P. A., and Banham, A. H. Foxp3⁺ regulatory T cells as biomarkers in human malignancies. Expert Opin. Biol. Ther. 8 (2008): 1897-920.
- [52] Lee, A. M., et al. Number of CD4⁺ cells and location of forkhead box protein P3-positive cells in diagnostic follicular lymphoma tissue microarrays correlates with outcome. J. Clin. Oncol. 24 (2006): 5052-9.
- [53] Tao, X. A., et al. Foxp3⁺ T regulatory cells in lesions of oral lichen planus correlated with disease activity. Oral Dis. 16 (2010): 76-82.
- [54] Lee, B. W., et al. Age- and sex-related changes in lymphocyte subpopulations of healthy Asian subjects: from birth to adulthood. Cytometry 26 (1996): 8-15.
- [55] Porter, S. R., Kirby, A., Olsen, I., and Barrett, W. Immunologic aspects of dermal and oral lichen planus: a review. Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod. 83 (1997): 358-66.
- [56] Farthing, P. M., Matear, P., and Cruchley, A. T. The activation of Langerhans cells in oral lichen planus. J. Oral Pathol. Med. 19 (1990): 81-5.
- [57] Hillmann, G., Krause, S., Özdemir, A., and Dogan, S. Immunohistological and morphometric analysis of inflammatory cells in rapidly progressive periodontitis and adult periodontitis. Clin. Oral Invest. 5 (2001): 227-35.
- [58] Okada, H., Kida, T., and Yamagami, H. Identification and distribution of immunocompetent cells in inflamed gingiva of human chronic periodontitis. Infect. Immun. 41 (1983): 365-74
- [59] Ishii, T. Immunohistochemical demonstration of T cell subsets and accessory cells in oral lichen planus. J. Oral Pathol. 16 (1987): 356-61.
- [60] Matthews, J. B., Scully, C. M., and Potts, A. J. Oral lichen planus: an immunoperoxidase study using monoclonal antibodies to lymphocyte subsets. Br. J. Dermatol. 111 (1984): 587-95.
- [61] Jungell, P., Konttinen, Y. T., Nortamo, P., and Malmström, M. Immunoelectron microscopic study of distribution of T cell subsets in oral lichen planus. Scand. J. Dent. Res. 97 (1989): 361-7.

- [62] Walton, L. J., Thornhill, M. H., and Farthing, P. M. T cell antigen receptor expression by intra-epithelial lymphocytes in oral lichen planus. J. Oral Pathol. Med. 25 (1996): 534-7.
- [63] Zhou, X. J., Sugerman, P. B., Savage, N. W., Walsh, L. J., and Seymour, G. J. Intra-epithelial CD8+ T cells and basement membrane disruption in oral lichen planus. J. Oral Pathol. Med. 31 (2002): 23-7.
- [64] Eisen, D., Carrozzo, M., Bagan Sebastian, J. V., and Thongprasom, K. Number V Oral lichen planus: clinical features and management. Oral Dis. 11 (2005): 338-49.
- [65] Warnke, R., and Levy, R. Detection of T and B cell antigens hybridoma monoclonal antibodies: a biotin-avidin-horseradish peroxidase method. J. Histochem. Cytochem. 28 (1980): 771-6.
- [66] Whiteland, J. L., Nicholls, S. M., Shimeld, C., Easty, D. L., Williams, N. A., and Hill, T. J. Immunohistochemical detection of T-cell subsets and other leukocytes in paraffin-embedded rat and mouse tissues with monoclonal antibodies. J. Histochem. Cytochem. 43 (1995): 313-20.
- [67] Yagi, H., et al. Crucial role of *FOXP3* in the development and function of human CD25⁺CD4⁺ regulatory T cells. Int. Immunol. 16 (2004): 1643-56.
- [68] Dutzan, N., Gamonal, J., Silva, A., Sanz, M., and Vernal, R. Over-expression of forkhead box P3 and its association with receptor activator of nuclear factor-kB ligand, interleukin (IL) -17, IL-10 and transforming growth factor- β during the progression of chronic periodontitis. J. Clin. Periodontol. 36 (2009): 396-403.
- [69] Garlet, G.P., et al. Regulatory T cells attenuate experimental periodontitis progression in mice. J. Clin. Periodontol. 37 (2010): 591-600.
- [70] Nakajima, T., et al. Regulatory T-cells Infiltrate Periodontal Disease Tissues. J. Dent. Res. 84 (2005): 639-43.
- [71] Ernst, C. W. O., et al. Diminished forkhead box P3/CD25 double-positive T regulatory cells are associated with the increased nuclear factor-kB ligand (RANKL⁺) T cells in bone resorption lesion of periodontal disease. Clin. Exp. Immunol. 148 (2007): 271-80.



ภาคผนวก

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ก

เอกสารประกอบคำแนะนำแก่ผู้ป่วยโรคไลเคนพลาเนียสในช่องปาก

การศึกษาวิจัย เรื่อง

“ฟ็อกซ์พีสามโพซิทีฟเรกูลาทอรี ทีเซลล์ในรอยโรคไลเคน แพลเนียสในช่องปากในผู้ป่วยคนไทย”

ผู้ทำการศึกษาวิจัยหลัก

ทพญ.ปฐมาภรณ์ นาคพิพัฒน์

นิติตปริญญาโท ภาควิชาเวชศาสตร์ช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ผศ.ทพญ.ดร.พรพรรณ พิบูลย์รัตนกิจ

ภาควิชาเวชศาสตร์ช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

โครงการศึกษาวิจัยนี้เป็นการศึกษาถึงการแสดงออกของฟ็อกซ์พีสาม (Foxp3) ในการระบุถึงเรกูลาทอรี ทีเซลล์ ซึ่งเป็นที-ลิมโฟไซต์ชนิดหนึ่งที่น่าจะมีบทบาทในโรคไลเคน แพลเนียสในช่องปาก โดยการศึกษาวิจัยนี้ดูจากการตรวจย้อมชิ้นเนื้อด้วยวิธีอิมมูโนฮิสโตเคมี ซึ่งผลที่ได้จะนำมาเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่มีรอยโรคไลเคน แพลเนียส โดยท่านจะได้รับการตรวจและรักษาตามปกติที่คลินิกบัณฑิตศึกษา ภาควิชาเวชศาสตร์ช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ซึ่งในการวินิจฉัยโรคไลเคน แพลเนียสในช่องปากนี้จะอาศัยลักษณะทางคลินิกและการตรวจทางจุลพยาธิวิทยาเพื่อยืนยันการวินิจฉัย เพื่อให้การรักษาได้ถูกต้องเหมาะสม

การศึกษานี้ใช้วิธีการตรวจชิ้นเนื้อซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของการตัดชิ้นเนื้อเพื่อส่งตรวจทางจุลพยาธิวิทยา โดยจะทำการฉีดยาชาแล้วตัดชิ้นเนื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 6 มิลลิเมตร และจะแบ่งชิ้นเนื้อออกมาเพื่อใช้ในการศึกษา ผู้ป่วยจะไม่ได้รับอันตรายมากขึ้นโดยจะมีแผลเพียงตำแหน่งเดียว ซึ่งผู้ทำการรักษาจะนัดมาดูอาการและแจ้งผลการวินิจฉัยโรคให้ผู้ป่วยทราบ ในงานวิจัยนี้ข้อมูลส่วนตัวของผู้ป่วยจะไม่มีเผยแพร่ออกไป และการเปิดเผยข้อมูลของการวิจัยจะเป็นไปในรูปของการสรุปผลการวิจัย

ประโยชน์ที่ได้รับจากการศึกษานี้

ท่านจะได้รับการตรวจขึ้นเนื้อเพื่อการวินิจฉัยโรค ได้รับความรู้และคำปรึกษาแนะนำ เกี่ยวกับการปฏิบัติตัวของของท่านในการรักษาโรคไลเคน แพลนัสในช่องปาก และการศึกษานี้จะทำให้ได้รับข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับเรกูลาทอรี ที่เซลล์ในโรคไลเคน แพลนัสในช่องปาก ซึ่งจะทำให้มีความเข้าใจเกี่ยวกับการกลไกของโรค ซึ่งเป็นประโยชน์ในการพัฒนาวิธีการรักษาโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากต่อไป

ผลข้างเคียงจากการศึกษานี้

ผลข้างเคียงที่ท่านอาจได้รับจากการศึกษานี้ คือ แผลจากการตัดชิ้นเนื้อเพียงเล็กน้อย ซึ่งหายได้เองภายใน 7 วัน

หากท่านมีข้อสงสัยประการใดหรือเกิดผลข้างเคียงใด ๆ จากการศึกษาดังกล่าวนี้ ท่านสามารถติดต่อ

ทพญ.ปฐมาภรณ์ นาคพิพัฒน์

คลินิกบัณฑิตศึกษา ภาควิชาเวชศาสตร์ช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

โทรศัพท์ 02-218-8771

ผศ.ทพญ.ดร.พรพรรณ พิบูลย์รัตนกิจ

ภาควิชาเวชศาสตร์ช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

โทรศัพท์ 02-218-8942, 02-218-8771

เพื่อให้คำแนะนำ หรือให้การบำบัดรักษา

ความร่วมมือในการศึกษา

ความร่วมมือในการศึกษาเป็นไปด้วยความสมัครใจ การเข้าร่วมหรือการปฏิเสธการเข้าร่วมโครงการนี้จะไม่ผลต่อการรักษาของท่าน และผู้ที่อยู่ในคณะวิจัยในการศึกษานี้ยินดีจะตอบข้อข้องใจของท่านด้วยความเต็มใจ และท่านจะได้รับสำเนายินยอมเข้าร่วมการศึกษาด้วย 1 ชุด

เอกสารประกอบคำแนะนำแก่อาสาสมัคร

การศึกษาวิจัย เรื่อง

“ฟ็อกซ์พีสามโพซิทีฟเรกูลาทอรี ทีเซลล์ในรอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากในผู้ป่วยคนไทย”

ผู้ทำการศึกษาวิจัยหลัก

ทพญ.ปฐมาภรณ์ นาคพิพัฒน์

นิติตรินิฏญาโท ภาควิชาเวชศาสตร์ช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ผศ.ทพญ.ดร.พรพรรณ พิบูลย์รัตนกิจ

ภาควิชาเวชศาสตร์ช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

โครงการศึกษาวิจัยนี้เป็นการศึกษาถึงการแสดงออกของฟ็อกซ์พีสาม (Foxp3) ในการระบุถึงเรกูลาทอรี ทีเซลล์ ซึ่งเป็นที-ลิมโฟไซต์ชนิดหนึ่งที่อาจมีบทบาทในโรคไลเคน แพลนัสในช่องปาก โดยการศึกษาวิจัยนี้ดูจากการตรวจย้อมชิ้นเนื้อด้วยวิธีอิมมูโนฮิสโตเคมี ซึ่งผลที่ได้จะนำมาเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่มีรอยโรคไลเคน แพลนัส

อาสาสมัครที่ไม่มีรอยโรคไลเคน แพลนัสนี้จะได้รับการตรวจและรักษาตามปกติที่คลินิก ศัลยศาสตร์ คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ซึ่งเป็นผู้ที่ต้องได้รับการศัลยกรรมช่องปาก มีการตัดแต่งเนื้อเยื่อเพื่อการรักษาอยู่แล้ว เช่น การถอนฟัน ผ่าฟันคุด การผ่าตัดปุ่มกระดูก การผ่าตัดแต่งกระดูก โดยเนื้อเยื่อที่มีการอักเสบหรือเนื้อเยื่อปกติซึ่งถูกตัดออกมานี้จะนำมาใช้ในงานวิจัยโดยไม่มีผลต่อการรักษาแต่อย่างใด จึงไม่เป็นอันตรายแก่ผู้ป่วย

ในงานวิจัยนี้ข้อมูลส่วนตัวของผู้ป่วยจะไม่มีเผยแพร่ออกไป และการเปิดเผยข้อมูลของการวิจัยจะเป็นไปในรูปของการสรุปผลการวิจัย

ประโยชน์ที่ได้รับจากการศึกษานี้

ท่านจะได้รับการรักษาทางศัลยกรรมตามปกติ โดยไม่มีผลแทรกซ้อนต่อการรักษาแต่อย่างใด และการศึกษานี้จะทำให้ได้รับข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับเรกูลาทอรี ที่เซลล์ในโรคไลเคน แพลนัสในช่องปาก ซึ่งจะทำให้มีความเข้าใจเกี่ยวกับการกลไกของโรค ซึ่งอาจเป็นประโยชน์ในการพัฒนาวิธีการรักษาโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากต่อไป

ผลข้างเคียงจากการศึกษานี้

ไม่มีผลข้างเคียงเพิ่มขึ้นจากการศึกษานี้ โดยผลจากการรักษาจะหายโดยใช้เวลาตามปกติของการหายของแผลชนิดนั้น ๆ ตามลักษณะของโรคหรือการรักษา

หากท่านมีข้อสงสัยประการใดหรือเกิดผลข้างเคียงใด ๆ จากการศึกษาดังกล่าวนี้อ ท่านสามารถติดต่อ

ทพญ.ปฐมภรณ์ นาคพิพัฒน์

คลินิกบัณฑิตศึกษา ภาควิชาเวชศาสตร์ช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

โทรศัพท์ 02-218-8771

ผศ.ทพญ.ดร.พรพรรณ พิบูลย์รัตนกิจ

ภาควิชาเวชศาสตร์ช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

โทรศัพท์ 02-218-8942, 02-218-8771

เพื่อให้คำแนะนำ หรือให้การบำบัดรักษา

ความร่วมมือในการศึกษา

ความร่วมมือในการศึกษาเป็นไปด้วยความสมัครใจ การเข้าร่วมหรือการปฏิเสธการเข้าร่วมโครงการนี้จะไม่มีผลต่อการรักษาของท่าน และผู้ที่อยู่ในคณะวิจัยในการศึกษานี้ยินดีจะตอบข้อข้องใจของท่านด้วยความเต็มใจ และท่านจะได้รับสำเนายินยอมเข้าร่วมการศึกษาด้วย 1 ชุด

เอกสารยินยอมเข้าร่วมการวิจัย (Consent Form)

การวิจัยเรื่อง

“ฟ็อกซ์พีตามโพซิทีฟเรกูลาทอรี ทีเซลส์ในรอยโรคโคไลเคน แพลนัสในช่องปากในผู้ป่วยคนไทย”

ก่อนที่จะลงนามในใบยินยอมให้ทำการวิจัยนี้ ข้าพเจ้าได้รับการอธิบายจากผู้วิจัยถึงวัตถุประสงค์ของการวิจัย วิธีการวิจัย อันตราย หรืออาการที่อาจเกิดขึ้นจากการวิจัย หรือจากยาที่ใช้รวมทั้งประโยชน์ที่จะเกิดขึ้นจากการวิจัยอย่างละเอียด และมีความเข้าใจดีแล้ว

ผู้วิจัยรับรองว่าจะตอบคำถามต่างๆ ที่ข้าพเจ้าสงสัยด้วยความเต็มใจไม่ปิดบังซ่อนเร้นจนข้าพเจ้าพอใจ

ข้าพเจ้าเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้โดยสมัครใจ ข้าพเจ้ามีสิทธิที่จะบอกเลิกการเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้เมื่อใดก็ได้และการบอกเลิกการเข้าร่วมการวิจัยนี้ จะไม่มีผลต่อการรักษาโรคที่ข้าพเจ้าจะพึงได้รับต่อไป

ผู้วิจัยรับรองว่าจะเก็บข้อมูลเฉพาะเกี่ยวกับตัวข้าพเจ้าเป็นความลับ และจะเปิดเผยได้เฉพาะในรูปที่เป็นสรุปผลการวิจัย การเปิดเผยข้อมูลเกี่ยวกับตัวข้าพเจ้าต่อหน่วยงานต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกระทำได้เฉพาะกรณีจำเป็น ด้วยเหตุผลทางวิชาการเท่านั้น

ผู้วิจัยรับรองว่าหากเกิดอันตรายใดๆ จากการวิจัยดังกล่าว ข้าพเจ้าจะได้รับการรักษาพยาบาลโดยไม่คิดมูลค่า

ข้าพเจ้าได้อ่านข้อความข้างต้นแล้ว และมีความเข้าใจดีทุกประการ และได้ลงนามในใบยินยอมนี้ด้วยความเต็มใจ

ลงนาม.....ผู้ยินยอม

(.....)

ลงนาม.....พยาน

(.....)

ลงนาม.....พยาน

(.....)

ลงนาม.....หัวหน้าโครงการวิจัย

(.....)

วันที่ให้คำยินยอมเข้าร่วมวิจัย วันที่.....เดือน.....พ.ศ.....

ข้าพเจ้าไม่สามารถอ่านหนังสือได้ แต่ผู้วิจัยได้อ่านข้อความในใบยินยอมนี้ให้แก่ข้าพเจ้า
 ฟังจนเข้าใจดีแล้ว ข้าพเจ้าจึงลงนาม หรือประทับลายนิ้วหัวแม่มือขวาของข้าพเจ้าในใบยินยอมนี้
 ด้วยความเต็มใจ

ลงนาม.....ผู้ยินยอม

(.....)

ลงนาม.....พยาน

(.....)

ลงนาม.....พยาน

(.....)

ลงนาม.....หัวหน้าโครงการวิจัย

(.....)

วันที่ให้คำยินยอมเข้าร่วมวิจัย วันที่.....เดือน.....พ.ศ.....

ในกรณีที่ผู้ถูกทดลองยังไม่บรรลุนิติภาวะ จะต้องได้รับการยินยอมจากผู้ปกครองหรือผู้
 อุปการะโดยชอบด้วยกฎหมาย

ลงนาม.....ผู้ยินยอม

(.....)

ลงนาม.....พยาน

(.....)

ลงนาม.....พยาน

(.....)

ลงนาม.....หัวหน้าโครงการวิจัย

(.....)

วันที่ให้คำยินยอมเข้าร่วมวิจัย วันที่.....เดือน.....พ.ศ.....

เอกสารยกเลิกการยินยอมเข้าร่วมวิจัย (Withdrawal Form)

การวิจัยเรื่อง “ฟ็อกซ์พีสามโพซิทีฟเรกูลาทอรี ทีเซลล์ในรอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากในผู้ป่วยคนไทย”

เหตุผลในการยกเลิกการยินยอมเข้าร่วมวิจัย

- ย้ายภูมิลำเนา
- ไม่สะดวกในการเดินทาง
- เหตุผลอื่น.....
-

ลงนาม.....ผู้ยกเลิกการยินยอม

(.....)

ลงนาม.....พยาน

(.....)

ลงนาม.....พยาน

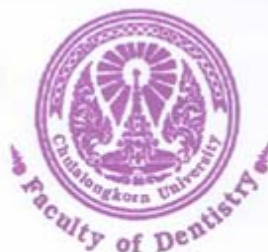
(.....)

ลงนาม.....หัวหน้าโครงการวิจัย

(.....)

วันยกเลิกการยินยอมเข้าร่วมวิจัย วันที่.....เดือน.....พ.ศ.

ศูนย์วิจัยทันตกรรมพยางกร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



No. 32/2010

Study Protocol and Consent Form Approval

The Ethics Committee of the Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand has approved the following study to be carried out according to the protocol and informed consent dated and/or amended as follows in compliance with the ICH/GCP.

Study Title : Foxp3⁺ Regulatory T Cells in Thai Patients with Oral Lichen Planus

Study Code :-

Center : Chulalongkorn University

Principle Investigator : Dr. Patamaporn Nakpipat

Protocol Date : June 3, 2010

Document Reviewed : July 2, 2010

A handwritten signature in blue ink, reading 'Surasith Kiatpongsan'.

(Associate Professor Dr. Surasith Kiatpongsan)
Chairman of Ethics Committee

A handwritten signature in blue ink, reading 'Suchit Poolthong'.

Assistant Professor Dr. Suchit Poolthong
Associate Dean for Research and International Affairs

Date of Approval : July 13, 2010

Approval Expires : July 13, 2012

*A list of the Ethics Committee members (names and positions) present at the Ethics Committee meeting on the date of approval of this study has been attached (upon requested). This Study Protocol Approval Form will be forwarded to the Principal Investigator.

ภาคผนวก ข

ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

1. ข้อมูลผู้ป่วย

1.1 กลุ่มตัวอย่างโรคไลเคน แพลนัสในช่องปาก

1.1.1 ข้อมูลทั่วไป

No.	Sex	Age (year)	Type	Severity score	Duration (month)	Site
1	F	59	Reticular	1	1.5	B, G, T
2	F	55	Reticular	1	113	B, G, P
3	M	41	Reticular	1	2	B, F, G,
4	F	18	Reticular	1	4	B
5	F	18	Reticular	1	1	B, G, T
6	F	48	Reticular	1	0.5	B, G
7	F	56	Atrophic	2	12	B, G
8	M	50	Atrophic	3	6	B, G, T
9	F	35	Atrophic	3	1	B, P, T
10	F	53	Ulceration	4	2	B, G
11	F	59	Ulceration	5	18	B
12	F	46	Atrophic	3	-	B
13	F	42	Atrophic	2	4	B, G
14	F	50	Atrophic	3	1	B
15	F	63	Atrophic	3	1	B
16	F	58	Atrophic	2	6	B, G
17	F	48	Atrophic	2	2	B, G
18	M	37	Atrophic	2	16	B
19	F	38	Atrophic	3	3	B, G, T
20	F	47	Atrophic	3	-	B

B = Buccal mucosa

F = Floor of mouth

G = Gingiva

P= Palate

T = Tongue

1.1.2 การนับจำนวนเซลล์

No.	Foxp3 (cells/hpf)	CD3 (cells/hpf)	CD4 (cells/hpf)	Foxp3/CD4 (%)	Foxp3/CD3 (%)	Intrapithelium		
						Foxp3	CD3	CD4
1	214.83	920.17	850	25.27	23.35	+	+	+
2	116.5	316.67	265.83	43.82	36.79	+	+	+
3	155.67	899.5	611.33	25.46	17.31	+	+	+
4	87.5	768	493	17.75	11.39	+	+	+
5	97.17	402.83	247.83	39.21	24.12	+	+	+
6	77.17	471	155.67	49.57	16.38	+	+	+
7	70.5	590.67	395.5	17.83	11.94	+	+	+
8	47.83	140.5	137	34.91	34.05	+	+	+
9	118.33	389	338.83	34.92	30.42	+	+	+
10	84.5	161.5	153.75	54.96	52.32	+	+	+
11	118.17	355.5	272.75	43.32	33.24	+	+	+
12	35.75	207.5	159.17	22.46	17.23	+	+	+
13	54.83	268.83	224.17	24.46	20.4	+	+	+
14	143.33	733.17	504.67	28.4	19.55	+	+	+
15	82.33	656	625.33	13.17	12.55	+	+	+
16	37.5	354	311.67	12.03	10.59	+	+	+
17	116	344.17	269.5	43.04	33.7	+	+	+
18	94.17	614.83	623.17	15.11	15.32	+	+	+
19	117.33	671.5	719.17	16.32	17.47	+	+	+
20	131.33	349.17	220.17	59.65	37.61	+	+	+

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1.2 กลุ่มตัวอย่างที่มีเนื้อเยื่อปริทันต์อักเสบ

1.2.1 ข้อมูลทั่วไป

No.	Sex	Age (year)	Site
1	M	77	-
2	M	45	17
3	M	71	16
4	M	56	16
5	M	41	17
6	M	35	16
7	M	46	48
8	F	75	15
9	F	50	26
10	M	56	11
11	F	46	34
12	M	53	17
13	M	56	48
14	F	46	28
15	M	37	12
16	F	68	38
17	F	50	32
18	M	47	11
19	F	66	38
20	M	41	18

ศูนย์วิทยุทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1.2.2 การนับจำนวนเซลล์

No.	Foxp3 (cells/hpf)	CD3 (cells/hpf)	CD4 (cells/hpf)	Foxp3/CD4 (%)	Foxp3/CD3 (%)	Intraepithelium		
						Foxp3	CD3	CD4
1	5.17	37.17	39.67	13.03	13.9	+	+	+
2	2.17	46.67	42	5.16	4.64	+	+	+
3	16.17	118	92.67	17.45	13.7	+	+	+
4	5	27.5	7.25	68.97	18.18	-	+	+
5	23.5	52	61.67	38.11	45.19	+	+	+
6	28	80	69	40.58	35	-	+	+
7	31.67	273.83	264.17	11.99	11.56	+	+	+
8	2.5	106.5	97	2.58	2.35	+	+	+
9	8.17	79.83	51.67	15.81	10.23	+	+	+
10	12.33	25.67	21.83	56.49	48.05	+	+	+
11	7.67	47.83	24.83	30.87	16.03	+	+	+
12	3.25	22.75	13.75	23.64	14.29	+	+	+
13	3.67	48.33	22.5	16.3	7.59	+	+	+
14	39.83	98.17	103.83	38.36	40.58	+	+	+
15	6	98	40.83	14.69	6.12	+	+	+
16	5.83	68	40.33	14.46	8.58	+	+	+
17	13.83	117.33	118.17	11.71	11.79	+	+	+
18	4.83	33.5	27.67	17.47	14.43	+	+	+
19	6	45.17	37.67	15.93	13.28	+	+	+
20	6	42.83	23.33	25.71	14.01	+	+	+

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1.3 กลุ่มตัวอย่างที่มีเนื้อเยื่อปกติ

1.3.1 ข้อมูลทั่วไป

No.	Sex	Age (year)	Dx	Site
1	M	62	Alveoplasty	26
2	F	19	Embedded tooth	23
3	M	77	Torectomy	Q4
4	F	22	Impacted tooth	38
5	F	27	Impacted tooth	38
6	F	18	Impacted tooth	48
7	M	19	Impacted tooth	48
8	F	58	Tooth implant	36
9	F	18	Impacted tooth	48
10	F	19	Impacted tooth	38

1.3.2 การนับจำนวนเซลล์

No.	Foxp3 (cells/hpf)	CD3 (cells/hpf)	CD4 (cells/hpf)	Foxp3/CD4 (%)	Foxp3/CD3 (%)	Inraepithelium		
						Foxp3	CD3	CD4
1	4.17	26.17	18.17	22.94	15.92	-	+	+
2	10.5	43	28.83	36.42	24.42	+	+	+
3	1.67	25.33	25.17	6.62	6.58	+	+	+
4	3.83	19.67	15.67	24.47	19.49	+	+	+
5	2	8.5	2.5	80	23.53	+	+	+
6	4.5	20.5	8.5	52.94	21.95	+	+	+
7	4	28.17	12	33.33	14.2	+	+	+
8	4.17	31.67	21.67	19.23	13.16	+	+	+
9	0.83	2.83	2.33	35.71	29.41	-	-	-
10	2.33	22.33	14.5	16.09	10.45	+	+	+

2. สถิติเชิงพรรณนาอธิบายข้อมูลทั่วไปของผู้ป่วย

2.1 จำนวนผู้ป่วยจำแนกตามชนิดของกลุ่มตัวอย่าง

Group			Site	Dx	Sex
OLP	N	Valid	20	20	20
		Missing	0	0	0
Periodontitis	N	Valid	19	20	20
		Missing	1	0	0
Normal	N	Valid	10	10	10
		Missing	0	0	0

2.2 จำนวนผู้ป่วยในแต่ละเพศจำแนกตามชนิดของกลุ่มตัวอย่าง

Group			Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
OLP	Valid	male	3	15.0	15.0	15.0
		female	17	85.0	85.0	100.0
		Total	20	100.0	100.0	
Periodontitis	Valid	male	13	65.0	65.0	65.0
		female	7	35.0	35.0	100.0
		Total	20	100.0	100.0	
Normal	Valid	male	3	30.0	30.0	30.0
		female	7	70.0	70.0	100.0
		Total	10	100.0	100.0	

2.3 อายุเฉลี่ยของผู้ป่วยจำแนกตามชนิดของกลุ่มตัวอย่าง

Group		N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
OLP	Age	20	18.00	63.00	46.0500	12.39047
	Valid N (listwise)	20				
Periodontitis	Age	20	35.00	77.00	53.1000	12.43467
	Valid N (listwise)	20				
Normal	Age	10	18.00	77.00	33.9000	22.58047
	Valid N (listwise)	10				

2.4 จำนวนผู้ป่วยจำแนกตามผลการวินิจฉัยของเนื้อเยื่อในแต่ละชนิดของกลุ่มตัวอย่าง

Group			Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
OLP	Valid	Reticular OLP	6	30.0	30.0	30.0
		Atrophic OLP	12	60.0	60.0	90.0
		Erosive OLP	2	10.0	10.0	100.0
		Total	20	100.0	100.0	
Periodontitis	Valid	Peroidontitis	20	100.0	100.0	100.0
Normal	Valid	Impacted tooth	6	60.0	60.0	60.0
		Embedded tooth	1	10.0	10.0	70.0
		Alveoloplasty	1	10.0	10.0	80.0
		Torectomy	1	10.0	10.0	90.0
		Implant	1	10.0	10.0	100.0
		Total	10	100.0	100.0	

2.5 จำนวนผู้ป่วยจำแนกตามตำแหน่งที่ทำการตัดขึ้นเนื้อในแต่ละชนิดของกลุ่มตัวอย่าง

Group			Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
OLP	Valid	Right buccal mucosa	12	60.0	60.0	60.0
		Left buccal mucosa	8	40.0	40.0	100.0
		Total	20	100.0	100.0	
Periodontitis	Valid	11	2	10.0	10.5	10.5
		12	1	5.0	5.3	15.8
		15	1	5.0	5.3	21.1
		16	3	15.0	15.8	36.8
		17	3	15.0	15.8	52.6
		18	1	5.0	5.3	57.9
		26	1	5.0	5.3	63.2
		28	1	5.0	5.3	68.4
		32	1	5.0	5.3	73.7
		34	1	5.0	5.3	78.9
		38	2	10.0	10.5	89.5
		48	2	10.0	10.5	100.0
		Total	19	95.0	100.0	
		Missing System	1	5.0		
		Total	20	100.0		
Normal	Valid	4	1	10.0	10.0	10.0
		23	1	10.0	10.0	20.0
		26	1	10.0	10.0	30.0
		36	1	10.0	10.0	40.0
		38	3	30.0	30.0	70.0
		48	3	30.0	30.0	100.0
		Total	10	100.0	100.0	

2.6 จำนวนผู้ป่วยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากโดยแบ่งระดับคะแนนตามความรุนแรงของรอยโรคตามเกณฑ์ของ Thongprasom และคณะ

	Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid 1 (white)	6	30.0	30.0	30.0
2 (red<1x1cm)	5	25.0	25.0	55.0
3 (red>1x1cm)	7	35.0	35.0	90.0
4 (erosion<1x1cm)	1	5.0	5.0	95.0
5 (erosion>1x1cm)	1	5.0	5.0	100.0
Total	20	100.0	100.0	

2.7 ระยะเวลาเฉลี่ยของการเกิดรอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากก่อนมาพบทันตแพทย์ เพื่อทำการรักษาจำแนกตามชนิดของรอยโรค ทั้งนี้ได้ทำการวิเคราะห์ข้อมูลของผู้ป่วยเพียง 18 ราย เนื่องจากไม่มีการระบุระยะเวลาการเกิดโรคของผู้ป่วยอีก 2 ราย

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
Duration	18	.50	113.00	10.7778	26.04703
Valid N (listwise)	18				

Type	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Reticular Duration	6	20.3333	45.41329	.50	113.00
Atrophic/ulceration Duration	12	6.0000	6.03023	1.00	18.00

3. ผลการยอมรับมโนทัศน์โตเคมี

3.1 การทดสอบความน่าเชื่อถือของผู้นับเซลล์ 2 ราย โดยใช้ Paired-Sample T-test ที่ระดับความเชื่อมั่น $p > 0.20$ และค่า correlation ใกล้เคียง 1

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	View1	133.8289	76	206.07445	23.63836
	View2	132.9868	76	204.83629	23.49633

Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	View1 & View2	76	.999	.000

Paired Samples Test

	Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
				Lower	Upper			
Pair 1 View1 - View2	.84211	7.82824	.89796	-.94673	2.63094	.938	75	.351

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.2 การทดสอบการกระจายตัวอย่างข้อมูลจำแนกตามชนิดของกลุ่มตัวอย่าง โดยสถิติ One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test ซึ่งพบการกระจายตัวของข้อมูลที่ปกติ นอกจากนี้ยังแสดงค่าเฉลี่ยของเซลล์ที่มีการแสดงออกของ Foxp3, CD3, และ CD4

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

Group			Fox_mean	CD3_mean	CD4_mean	Prop_Fox_CD4	Prop_Fox_CD3	Prop_CD4_CD3
OLP	N		20	20	20	20	20	20
	Normal Parameters ^{a,b}	Mean	100.0375	480.7250	378.9250	31.0840	23.7865	79.4326
		Std. Deviation	43.27258	236.01049	212.38448	14.47348	11.20854	17.46959
	Most Extreme Differences	Absolute	.136	.179	.191	.151	.169	.103
		Positive	.136	.179	.191	.151	.169	.078
		Negative	-.094	-.079	-.127	-.096	-.120	-.103
	Kolmogorov-Smirnov Z		.609	.802	.856	.676	.755	.459
	Asymp. Sig. (2-tailed)		.852	.541	.456	.751	.619	.984
	Periodontitis	N		20	20	20	20	20
Normal Parameters ^{a,b}		Mean	11.5792	73.4542	59.9917	23.9644	17.4750	76.5311
		Std. Deviation	10.82522	56.45802	57.57357	17.00228	13.45904	24.69225
Most Extreme Differences		Absolute	.274	.198	.223	.249	.293	.147
		Positive	.274	.198	.223	.249	.293	.093
		Negative	-.192	-.185	-.180	-.135	-.131	-.147
Kolmogorov-Smirnov Z			1.224	.886	.996	1.112	1.309	.657
Asymp. Sig. (2-tailed)			.100	.413	.275	.168	.065	.781
Normal		N		10	10	10	10	10
	Normal Parameters ^{a,b}	Mean	3.8000	22.8167	14.9333	32.7754	17.9112	64.4662
		Std. Deviation	2.67568	11.31219	8.93053	21.00429	7.06654	21.21378
	Most Extreme Differences	Absolute	.297	.190	.118	.231	.116	.209
		Positive	.297	.118	.118	.231	.111	.149
		Negative	-.134	-.190	-.081	-.114	-.116	-.209
	Kolmogorov-Smirnov Z		.939	.602	.373	.731	.368	.660
	Asymp. Sig. (2-tailed)		.342	.862	.999	.659	.999	.777

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

3.3 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของ Foxp3, CD3 และ CD4 ระหว่างชนิดกลุ่มตัวอย่าง โดยสถิติ One-way ANOVA

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Fox_mean	14.621	2	47	.000
CD3_mean	30.120	2	47	.000
CD4_mean	26.450	2	47	.000

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Fox_mean	Between Groups	99887.701	2	49943.851	61.987	.000
	Within Groups	37868.766	47	805.718		
	Total	137756.467	49			
CD3_mean	Between Groups	2175933.046	2	1087966.523	45.654	.000
	Within Groups	1120032.422	47	23830.477		
	Total	3295965.468	49			
CD4_mean	Between Groups	1351828.491	2	675914.246	34.503	.000
	Within Groups	920733.530	47	19590.075		
	Total	2272562.021	49			

Robust Tests of Equality of Means

		Statistic ^a	df1	df2	Sig.
Fox_mean	Welch	51.637	2	27.996	.000
CD3_mean	Welch	43.258	2	27.212	.000
CD4_mean	Welch	33.933	2	26.542	.000

a. Asymptotically F distributed.

Multiple Comparisons

Tamhane

Dependent Variable	(I) Group	(J) Group	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Fox_mean	OLP	Periodontitis	88.45833*	9.97422	.000	62.6275	114.2891
		Normal	96.23750	9.71297	.000	70.8534	121.6216
	Periodontitis	OLP	-88.45833	9.97422	.000	-114.2891	-62.6275
		Normal	7.77917	2.56421	.017	1.1822	14.3761
	Normal	OLP	-96.23750	9.71297	.000	-121.6216	-70.8534
		Periodontitis	-7.77917	2.56421	.017	-14.3761	-1.1822
CD3_mean	OLP	Periodontitis	407.27083	54.26254	.000	266.6317	547.9100
		Normal	457.90833	52.89465	.000	319.5945	596.2222
	Periodontitis	OLP	-407.27083	54.26254	.000	-547.9100	-266.6317
		Normal	50.63750	13.12143	.003	16.7223	84.5527
	Normal	OLP	-457.90833	52.89465	.000	-596.2222	-319.5945
		Periodontitis	-50.63750	13.12143	.003	-84.5527	-16.7223
CD4_mean	OLP	Periodontitis	318.93333	49.20461	.000	191.7061	446.1606
		Normal	363.99166	47.57451	.000	239.5648	488.4185
	Periodontitis	OLP	-318.93333	49.20461	.000	-446.1606	-191.7061
		Normal	45.05833	13.17995	.008	10.8427	79.2740
	Normal	OLP	-363.99166	47.57451	.000	-488.4185	-239.5648
		Periodontitis	-45.05833	13.17995	.008	-79.2740	-10.8427

* The mean difference is significant at the 0.05 level.

ศูนย์วิทยุทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.4 เปรียบเทียบสัดส่วนของจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของ Foxp3 ต่อเซลล์ที่มีการแสดงออกของ CD3 หรือ CD4 ระหว่างชนิดกลุ่มตัวอย่าง โดยสถิติ One-way ANOVA

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Prop_Fox_CD4	.215	2	47	.808
Prop_Fox_CD3	1.219	2	47	.305
Prop_CD4_CD3	1.784	2	47	.179

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Prop_Fox_CD4	Between Groups	727.488	2	363.744	1.272	.290
	Within Groups	13443.245	47	286.026		
	Total	14170.733	49			
Prop_Fox_CD3	Between Groups	457.514	2	228.757	1.713	.191
	Within Groups	6278.192	47	133.579		
	Total	6735.707	49			
Prop_CD4_CD3	Between Groups	1545.564	2	772.782	1.695	.195
	Within Groups	21433.201	47	456.026		
	Total	22978.765	49			

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.5 จำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของ Foxp3 จำแนกตามเกณฑ์ของ Lee และคณะ
ในแต่ละกลุ่มตัวอย่าง

Group * Score_stain Crosstabulation

			Score_stain					Total
			1.00	2.00	3.00	4.00	5.00	
Group OLP	Count		0	0	0	0	20	20
	% within Group		.0%	.0%	.0%	.0%	100.0%	100.0%
Periodontitis	Count		4	9	2	3	2	20
	% within Group		20.0%	45.0%	10.0%	15.0%	10.0%	100.0%
Normal	Count		6	3	1	0	0	10
	% within Group		60.0%	30.0%	10.0%	.0%	.0%	100.0%
Total	Count		10	12	3	3	22	50
	% within Group		20.0%	24.0%	6.0%	6.0%	44.0%	100.0%

3.6 ความสัมพันธ์ระหว่างชนิดของกลุ่มตัวอย่าง และระดับจำนวนเซลล์ที่มีการติดสีตาม
เกณฑ์ของ Lee และคณะ

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)	Point Probability
Pearson Chi-Square	51.034 ^a	8	.000	.000		
Likelihood Ratio	61.313	8	.000	.000		
Fisher's Exact Test	49.578			.000		
Linear-by-Linear Association	34.166 ^b	1	.000	.000	.000	.000
N of Valid Cases	50					

a. 13 cells (86.7%) have expected count less than 5. The minimum expected count is .60.

b. The standardized statistic is -5.845.

3.7 การทดสอบการกระจายตัวอย่างข้อมูลจำแนกตามชนิดรอยโรคไคเคน แพลนัสในช่องปาก โดยสถิติ One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test ซึ่งพบการกระจายตัวของข้อมูลที่ปกติ นอกจากนี้ยังแสดงค่าเฉลี่ยของเซลล์ที่มีการแสดงออกของ Foxp3, CD3, และ CD4

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

type		Fox_mean	CD3_mean	CD4_mean	Prop_Fox_CD4	Prop_Fox_CD3	Prop_CD4_CD3
Reticular	N	6	6	6	6	6	6
	Normal Mean	124.8056	629.6944	437.2778	33.5148	21.5567	67.1752
	Parameters ^{a,b} Std. Deviation	52.06048	264.92786	263.94210	12.47247	8.83113	20.60241
	Most Extreme Absolute Differences	.230	.225	.242	.241	.219	.225
	Positive	.230	.225	.242	.241	.219	.151
	Negative	-.180	-.199	-.143	-.176	-.125	-.225
	Kolmogorov-Smirnov Z	.563	.552	.593	.590	.537	.552
	Asymp. Sig. (2-tailed)	.909	.921	.874	.878	.936	.921
Atrophic/ulcerative	N	14	14	14	14	14	14
	Normal Mean	89.4226	416.8810	353.9167	30.0421	24.7421	84.6858
	Parameters ^{a,b} Std. Deviation	35.91458	199.45463	192.05826	15.57040	12.26138	13.55456
	Most Extreme Absolute Differences	.199	.198	.174	.141	.210	.138
	Positive	.118	.198	.174	.141	.210	.110
	Negative	-.199	-.165	-.134	-.124	-.124	-.138
	Kolmogorov-Smirnov Z	.744	.743	.652	.527	.785	.517
	Asymp. Sig. (2-tailed)	.637	.640	.789	.944	.568	.952

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.8 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของ Foxp3, CD3 และ CD4 ระหว่างชนิดของรอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปาก โดยสถิติ Unpaired-Sample T test

Group	type	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	
Fox_mean	OLP	1.00	6	124.8056	52.06048	21.25360
		2.00	14	89.4226	35.91458	9.59858
CD3_mean	OLP	1.00	6	629.6944	264.92786	108.15635
		2.00	14	416.8810	199.45463	53.30649
CD4_mean	OLP	1.00	6	437.2778	263.94210	107.75391
		2.00	14	353.9167	192.05826	51.32973

Independent Samples Test

Group			Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
										95% Confidence Interval of the Difference	
			F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
OLP	Fox_mean	Equal variances assumed	.970	.338	1.767	18	.094	35.38294	20.02631	-6.69078	77.45665
		Equal variances not assumed			1.517	7.133	.172	35.38294	23.32055	-19.55292	90.31880
CD3_mean		Equal variances assumed	2.157	.159	1.986	18	.062	212.81349	107.15796	-12.31703	437.94401
		Equal variances not assumed			1.765	7.553	.118	212.81349	120.57934	-68.13502	493.76200
CD4_mean		Equal variances assumed	1.192	.289	.797	18	.436	83.36112	104.64415	-136.48808	303.21031
		Equal variances not assumed			.698	7.380	.506	83.36112	119.35513	-195.94600	362.66823

3.9 เปรียบเทียบสัดส่วนของจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของ Foxp3 ต่อเซลล์ที่มีการแสดงออกของ CD3 หรือ CD4 ระหว่างชนิดของรอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปาก โดยสถิติ Unpaired-Sample T test

Group type			N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Prop_Fox_CD4	OLP	Reticular	6	33.5148	12.47247	5.09186
		Atrophic/ulcerative	14	30.0421	15.57040	4.16137
Prop_Fox_CD3	OLP	Reticular	6	21.5567	8.83113	3.60529
		Atrophic/ulcerative	14	24.7421	12.26138	3.27699
Prop_CD4_CD3	OLP	Reticular	6	67.1752	20.60241	8.41090
		Atrophic/ulcerative	14	84.6858	13.55456	3.62261

Independent Samples Test

Group	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means							
									95% Confidence Interval of the Difference	
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper	
OLP Prop_Fox_CD4	Equal variances assumed	.425	.522	-.482	18	.636	3.47271	7.20954	-11.67398	18.61940
	Equal variances not assumed			.528	11.873	.607	3.47271	6.57602	-10.87228	17.81770
Prop_Fox_CD3	Equal variances assumed	1.999	.174	-.572	18	.574	-3.18536	5.56869	-14.88475	8.51403
	Equal variances not assumed			-.654	13.207	.524	-3.18536	4.87204	-13.69400	7.32329
Prop_CD4_CD3	Equal variances assumed	.446	.513	-	18	.036	-17.51061	7.72437	-33.73890	-1.28232
	Equal variances not assumed			-	6.935	.098	-17.51061	9.15786	-39.20652	4.18530

3.10 จำนวนของชิ้นเนื้อที่พบการแสดงออกของ Foxp3, CD3, หรือ CD4 ภายในชั้นเยื่อ
บุผิว จำแนกตามชนิดของกลุ่มตัวอย่าง

Foxp3

Group			Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
OLP	Valid	Found Foxp3	20	100.0	100.0	100.0
Periodontitis	Valid	No	2	10.0	10.0	10.0
		Found Foxp3	18	90.0	90.0	100.0
		Total	20	100.0	100.0	
Normal	Valid	No	2	20.0	20.0	20.0
		Found Foxp3	8	80.0	80.0	100.0
		Total	10	100.0	100.0	

CD3

Group			Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
OLP	Valid	Found CD3	20	100.0	100.0	100.0
Periodontitis	Valid	Found CD3	20	100.0	100.0	100.0
Normal	Valid	No	1	10.0	10.0	10.0
		Found CD3	9	90.0	90.0	100.0
		Total	10	100.0	100.0	

CD4

Group			Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
OLP	Valid	Found CD4	20	100.0	100.0	100.0
Periodontitis	Valid	Found CD4	20	100.0	100.0	100.0
Normal	Valid	No	1	10.0	10.0	10.0
		Found CD4	9	90.0	90.0	100.0
		Total	10	100.0	100.0	

3.11 ความสัมพันธ์ของการแสดงออกของ Foxp3, CD3, หรือ CD4 ภายในชั้นเยื่อผิวกับ ชนิดของกลุ่มตัวอย่าง

Foxp3

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)	Point Probability
Pearson Chi-Square	3.804 ^a	2	.149	.138		
Likelihood Ratio	4.866	2	.088	.138		
Fisher's Exact Test	3.747			.138		
Linear-by-Linear Association	3.728 ^b	1	.053	.080	.059	.048
N of Valid Cases	50					

a. 3 cells (50.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is .80.

b. The standardized statistic is -1.931.

CD3

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)	Point Probability
Pearson Chi-Square	4.082 ^a	2	.130	.200		
Likelihood Ratio	3.302	2	.192	.200		
Fisher's Exact Test	3.026			.200		
Linear-by-Linear Association	2.571 ^b	1	.109	.200	.200	.200
N of Valid Cases	50					

a. 3 cells (50.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is .20.

b. The standardized statistic is -1.604.

CD4

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)	Point Probability
Pearson Chi-Square	4.082 ^a	2	.130	.200		
Likelihood Ratio	3.302	2	.192	.200		
Fisher's Exact Test	3.026			.200		
Linear-by-Linear Association	2.571 ^b	1	.109	.200	.200	.200
N of Valid Cases	50					

a. 3 cells (50.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is .20.

b. The standardized statistic is -1.604.

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวปฐมภรณ์ นาคพิพัฒน์ เกิดเมื่อวันที่ 5 เมษายน พ.ศ. 2525 จบการศึกษาระดับมัธยมศึกษา ณ โรงเรียนเตรียมอุดมศึกษาน้อมเกล้า และได้เข้ารับการศึกษาระดับปริญญาตรี สาขาทันตแพทยศาสตรบัณฑิต มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เมื่อปี พ.ศ. 2542 ภายหลังสำเร็จการศึกษาได้เริ่มรับราชการ ณ โรงพยาบาลสมเด็จพระยุพราชเดชอุดม จังหวัดอุบลราชธานี เมื่อปี พ.ศ. 2548 ในตำแหน่งทันตแพทย์ระดับ 4 จากนั้นย้ายมารับราชการ ณ โรงพยาบาลลำลูกกา จังหวัดปทุมธานี เมื่อปี พ.ศ. 2551 ในตำแหน่งปัจจุบัน คือ ทันตแพทย์ระดับชำนาญการ และในปี พ.ศ. 2552 ได้เข้ารับการศึกษาลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเวชศาสตร์ช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย