# บทที่ 2

# ความรู้พื้นฐาน

## Epstein-Barr Virus

Epstein-Barr Virus (EBV) เป็นไวรัสที่แยกได้ครั้งแรกจาก lymphoblastoid cells ของ African Burkitt's lymphoma ซึ่งนำมาเพาะเลี้ยงในหลอดแก้วโดย Epstein และผู้ร่วมงานในปี คศ. 1964[23-25] EBV เป็นไวรัสที่จัดอยู่ในพวก Herpes virus ซึ่งไวรัสที่จัดอยู่ในพวก Herpes virus มีอยู่หลายชนิดที่ทำให้เกิดมะเร็งในสัตว์ได้ เช่น Marek's Disease Herpes Virus (MDHV) ทำให้เกิดมะเร็งในไก่[26] Herpes virus saimiri และ Herpes virus ateles ทำให้เกิด lymphoma และ leukemia ในลิงบางชนิด Lucke'frog virus ทำให้เกิด adenosarcoma ในกบ[26] และมีไวรัสหลายชนิดในพวก Herpes virus ที่มีหลักฐานว่าอาจเป็นสาเหตุหรือเกี่ยวข้องกับมะเร็งบางชนิดในคน เช่น Herpes simplex virus type 2 กับมะเร็งปากมดลูก และ Human cytomegalovirus กับ Kaposi'sarcoma[27] EBV ซึ่งทั่วๆ ไปยอมรับว่าเป็นสาเหตุของโรค IM ในคน และจากการศึกษาในปัจจุบันพบว่ามีความสัมพันธ์อย่างใกล้ชิดกับมะเร็ง 2 ชนิดในคน คือ nasopharyngeal carcinoma (NPC) และ Burkitt's lymphoma (BL)[28-31] โดยมีหลักฐานว่าพบ EBV-DNA และ EBV nuclear antigen (EBNA) ในเซลล์มะเร็งของผู้ป่วยดังกล่าว[32,33] และพบว่าผู้ป่วยมีระดับแอนติบอดี้ต่อ EBV specific antigens ในระดับสูง[34-36] นอกจากนี้มีผู้ศึกษาถึงคุณสมบัติของ EBV ในการทำให้เกิด transformation ของเซลล์ในหลอดแก้วและการเกิดมะเร็งในสัตว์ทดลองพบว่า EBV สามารถ transform เซลล์ B-lymphocytes ของคน ชะนี และลิงบางชนิดได้ และถ้าฉีด EBV เข้าในลิงบางชนิดจะทำให้ลิงนั้นเป็นมะเร็งได้[2,3] และจากการศึกษาโดยกล้องจุลทัศน์อีเล็คตรอน พบว่ามี EBV particles ใน lymphoblastoid cell lines จาก nasopharyngeal biopsies[37] อย่างไรก็ตามพบว่าพวกที่มีการติดเชื้อ EBV ได้แก่พวกคนและลิง[38,39] และจะพบ EBV อยู่ตาม

B-lymphocytes และ epithelial cells ของ anaplastic carcinoma ของ nasopharynx เท่านั้น (40,41,42)

1. ลักษณะทั่วๆไปของ EBV

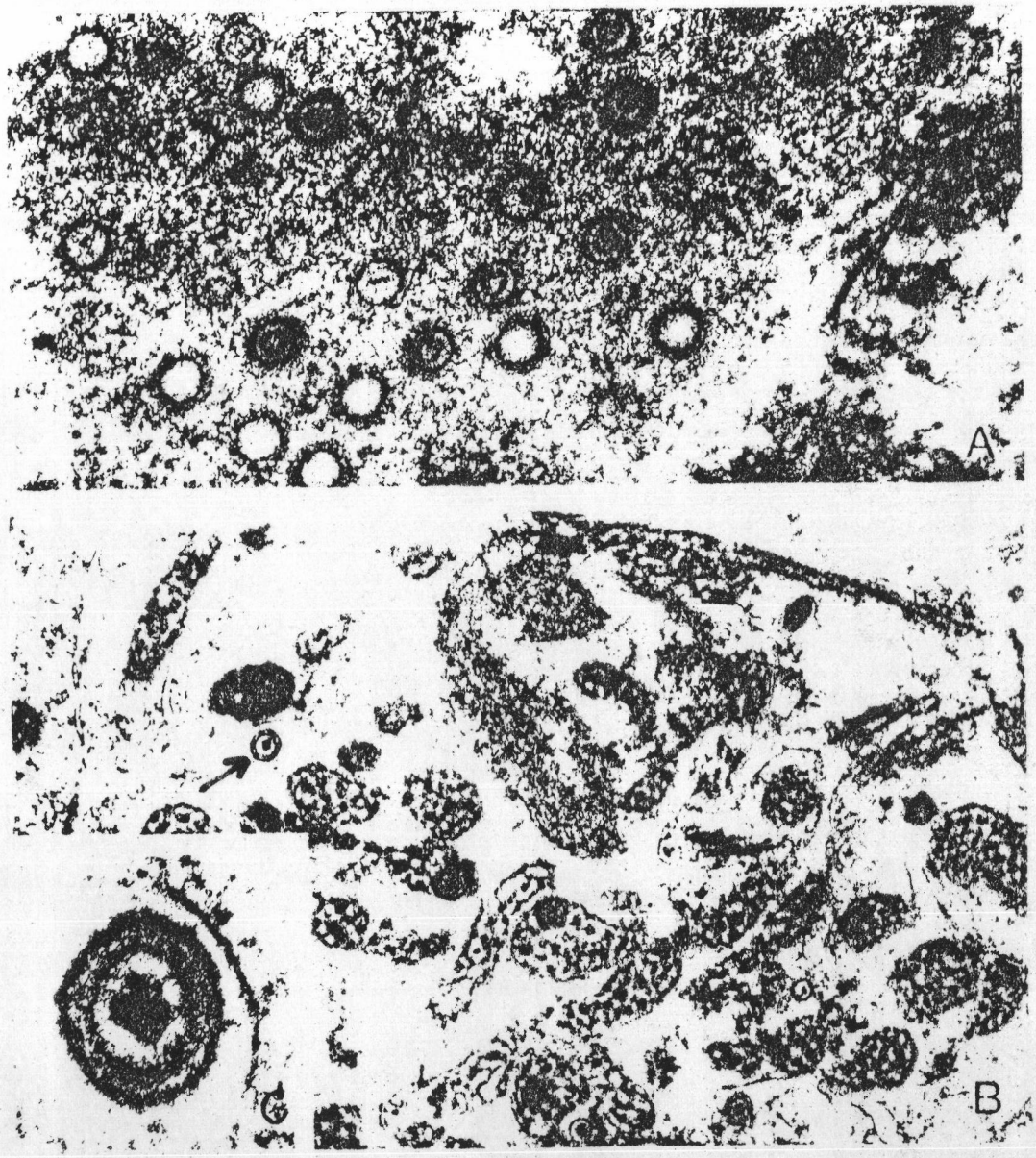
EBV เป็นไวรัสที่จัดในพวก Herpes virus เมื่อยังเป็น immature particle จะมีเส้นผ่าศูนย์กลางขนาด 75-80 mμ อยู่ใน nuclei และ cytoplasm ของเซลล์มองจากภายนอกจะเห็นรูปร่างเป็นหกเหลี่ยม (hexagonal) (รูปที่ 1A) เมื่อเป็น mature particle และมี envelope ห่อหุ้มอยู่จะมีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 120 mμ หุ้ม nucleoid ขนาด 45 mμ nucleoid ประกอบด้วย double stranded DNA (รูปที่ 1B,1C) ไวรัสเหล่านี้จะออกจากเซลล์โดยการ budding มี envelope ซึ่งได้มาจาก membrane ของเซลล์ที่มัน budding ออกมาห่อหุ้มอยู่ น้ำหนักโมเลกุลของ DNA ประมาณ $100 \times 10^2$ Daltons นอกจากประกอบด้วย DNA แล้ว ยังประกอบด้วยโปรตีนซึ่งมีโครงสร้างที่แตกต่างกันถึง 8 ชนิด ซึ่งโปรตีนเหล่านี้จะเกี่ยวข้องกับ EBV antigens ชนิดต่างๆ (43) จากการศึกษาถึงโครงสร้างแสดงให้เห็นว่าทั้งรูปร่างลักษณะ และการเรียงตัวของ capsomer จัดอยู่ในลักษณะของ Herpes virus จากการศึกษาทางอิมมูนวิทยาก็แสดงให้เห็นว่า EBV เป็นไวรัสชนิดใหม่ในกลุ่มของ Herpes virus และจากการศึกษาทางชีวเคมีแสดงให้เห็นว่า DNA ของ EBV แตกต่างจาก Herpes virus อื่นๆ (44)

2. EBV associated antigens

จากการศึกษาในปัจจุบันโดยวิธี immunofluorescence, complement fixation, anticomplement fixation, absorption techniques และ cytotoxicity test เราสามารถตรวจพบ EBV antigens ได้ถึง 6 ชนิด

2.1 Epstein-Barr viral nuclear antigen (EBNA)

ตรวจพบได้โดยวิธี anticomplement immunofluorescence ใน lymphoblastoid cell lines แอนติเจนนี้จะพบอยู่ใน nuclei ของ transform cell (45) EBNA นี้ตรวจพบได้ใน lymphocytes หรือ epithelial cells ซึ่งถูกติดเชื้อด้วย EBV (45) การที่พบว่ามี EBNA จะสัมพันธ์กับการเกิด EBV-DNA ในเซลล์ ส่วนคุณสมบัติทางเคมี และหน้าที่ของแอนติบอดีนี้ยังไม่ทราบแน่ชัด




รูปที่ 1 โครงสร้างของ EBV ใน cell culture จาก BL

A ไวรัสซึ่งยังเจริญเติบโตไม่เต็มที่ (immature particles) ใน thin section ของ nucleus ของ lymphoblastoid cells (x76500)

B ไวรัสที่เจริญเต็มที่ (mature particles) ซึ่งประกอบด้วย envelope capsid และ nucleoid ใน cytoplasm (x42000)

C ภาพขยายของ mature particle (x213500)

2.2 Lymphocyte-defined membrane antigen (LYDMA)

ตรวจพบโดยวิธี cytotoxicity test แอนติเจนนี้จะปรากฏบนผิวของ lymphoblastoid cells ที่มี EBV genome อยู่ และเป็นแอนติเจนชนิดเดียวที่ไม่สามารถตรวจพบได้โดยการใช้ specific antibody (46)

2.3 Membrane antigen (MA)

ตรวจพบโดยวิธี membrane immunofluorescent technique เป็นส่วนของเปลือกหุ้ม (envelope) ของไวรัส ตรวจพบได้บนผิวของ lymphocytes จาก BL biopsies และ lymphoblastoid cell lines ไม่ว่าจะมาจากผู้ป่วย IM BL, NPC, seropositive donors หรือ lymphocytes ปกติ ซึ่งถูก transform โดย EBV ในหลอดแก้ว (47-51) และมีคุณสมบัติเฉพาะแตกต่างจาก EBV-associated antigens ชนิดอื่นๆ การที่พบ MA ใน lymphoblastoid cells ขึ้นอยู่กับการที่มี EBV particle อยู่และจะเกิดการติดเชื้อในเซลล์ (49)

MA แบ่งออกเป็น 2 พวก

2.3.1 Early membrane antigens (EMA) เกิดขึ้นก่อนหรือในขณะที่ยังไม่มี EBV-DNA replication (52)

2.3.2 Late membrane antigen (LMA) เกิดขึ้นในเวลาต่อมาเมื่อมีการเพิ่มจำนวนของไวรัส LMA จะเกิดร่วมกับ EA และ VCA (52)

ทั้ง EMA และ LMA พบได้ในเซลล์ที่มีการเพิ่มจำนวนของไวรัสและบนเปลือกหุ้มของไวรัสที่ออกมาอยู่นอกเซลล์

2.4 Early antigen (EA)

ในปี 1970 Henle และผู้ร่วมงานได้ตรวจพบแอนติเจนซึ่งอยู่ใน lymphoblastoid cell lines ของ BL (53,54) โดยวิธี indirect immunofluorescence และได้ให้ชื่อว่า "Early antigen" เป็น intracellular antigen ซึ่งไม่ใช่ส่วนของตัวไวรัส เกิดขึ้นในระยะเริ่มแรกของวงจรชีวิตของไวรัส ไม่ขึ้นอยู่กับการสังเคราะห์ DNA (53) เพราะสามารถพบแอนติเจนนี้เมื่อมี DNA inhibitor เช่น cytosine arabinoside (55) การเติม iododeoxyuridine

(IUDR) และ bromodeoxyuridine (BUDR) [56-58] ใน lymphoblastoid cell culture ก็จะเหนี่ยวนำให้เกิดการสร้าง EA ขึ้นได้

EA แบ่งออกเป็น 2 subgroup ในด้านการติดสี immunofluorescence และการทนทานต่อ alcohol ในขบวนการ fixation เซลล์ และการทนทานต่อ proteolytic enzymes

2.4.1 Diffused component (D) ซึ่งพบใน nucleus และ cytoplasm ทนทานต่อ alcohol ในขบวนการ fixation ของเซลล์ แต่ถูกทำลายโดยพวก proteolytic enzymes [59]

2.4.2 Restricted component (R) ซึ่งพบใน cytoplasm ถูกทำลายโดย ethanol หรือ methanol ในขบวนการ fixation ของเซลล์ แต่ทนทานต่อ proteolytic enzymes [59]

ในซีรั่มของผู้ป่วย NPC มักพบแอนติบอดี้ต่อ D component เสมอ และพบแอนติบอดี้ต่อ R component ในระดับต่ำ ซึ่งตรงข้ามกับในซีรั่มของผู้ป่วย BL ซึ่งจะพบแอนติบอดี้ต่อ R component เป็นส่วนใหญ่[14] Henle และผู้ร่วมงานพบว่าซีรั่มของผู้ป่วย NPC จะมีแอนติบอดี้ต่อ D component เพิ่มขึ้นพร้อมๆกับการเจริญของโรคจากระยะที่ I ไปสู่ระยะที่ IV [14] และยิ่งกว่านั้นการพบแอนติบอดี้ต่อ EA (D) นี้อาจส่อให้เห็นถึงการที่มะเร็งกระจายเข้าใน lymph node ซึ่งมักปรากฏเสมอในโรค NPC [14]

2.5 Viral capsid antigen (VCA)

จากการทดลองของ Henle และผู้ร่วมงาน ในปี 1966 โดยใช้วิธี indirect immunofluorescence ตรวจพบแอนติเจนบนตัวของไวรัส ไม่พบบนเปลือกหุ้มหรือผิวของเซลล์ (cell membrane) และได้ให้ชื่อว่า "Viral capsid antigen"[60] เป็น intracellular antigen เกิดในระยะหลังของ productive infection[61] จะไม่พบ VCA และ virus particles ใน biopsies ของ BL แต่หลังจากนำ BL derived cell lines มาเพาะเลี้ยงในหลอดแก้ว 3-5 วัน จะพบ VCA และ viral particles ได้[62] นอกจากจะพบ VCA บนตัวของไวรัสแล้ว ยังพบได้ในเซลล์บริเวณที่มีการสังเคราะห์ ribosome [37] และเมื่อดูด้วยกล้องจุลทัศน์อีเล็คตรอน

จะพบว่าเซลล์ที่ให้ VCA เป็นเซลล์ที่กำลังเสื่อมสภาพ (60)

2.6 complement fixing antigen (CF)

ตรวจพบได้โดยวิธี anticomplement immunofluorescence และ complement fixation test ซึ่ง Walters และ Pope ได้แบ่งแอนติเจนนี้ออกเป็น 3 พวก (63,64)

2.6.1 Heat-resistant sedimentable virion antigen ซึ่งแยกได้โดยวิธี sucrose density gradient ทนความร้อนที่ 56°ซ นาน 30 นาที

2.6.2 Heat-labile sedimentable antigen แยกได้โดยปั่นให้ตกตะกอนที่ 70,000xG 2 ชม

2.6.3 Heat-resistant soluble antigen (S)

ที่สำคัญคือ CF/S antigen ซึ่ง Sohier และ de The' (65) พบว่าในซีรั่มผู้ป่วย NPC มีแอนติบอดี้ต่อ CF/S antigen สูงกว่าผู้ป่วย BL และขณะที่ระดับแอนติบอดี้ต่อ CF/S antigen ในผู้ป่วย BL มีระดับสูงต่ำไม่คงที่ตามอาการของโรค แต่ในผู้ป่วย NPC ระดับแอนติบอดี้ต่อ CF/S antigen จะสูงและคงที่ตลอดเวลาไม่ว่าอาการของโรคจะอยู่ในระยะใด (66)

CF/S antigen นี้แตกต่างจาก VCA, EA และ MA คือสามารถตรวจพบได้ใน Burkitt's cell line บางชนิดที่ไม่พบตัวไวรัส, VCA หรือ MA เลย ซึ่งอาจจะคิดว่าไม่มีการติดเชื้อด้วย EBV แต่การที่พบ CF/S antigen ในเซลล์เหล่านี้เป็นหลักฐานข้อแรกที่แสดงว่า lymphoblastoid cell line ซึ่งดูเหมือนจะไม่มีไวรัสแล้วนั้น ยังคงมี viral genome อยู่ (64,67)

3. <u>EBV associated antibodies</u>

ในปัจจุบันพบว่าการติดเชื้อ EBV เกิดขึ้นได้กับคนทั่วโลก และแพร่กระจายติดต่อถึงกันได้ จากน้ำลายของผู้ที่มีไวรัสนี้อยู่ แอนติบอดี้ต่อ EBV จะพบได้ในระดับสูงในเด็กแรกเกิดซึ่งได้รับโดยการถ่ายทอดมาจากมารดา จนกระทั่ง 4-24 เดือน ระดับแอนติบอดี้จะลดลง และส่วนใหญ่จะมีระดับสูงขึ้นมาอีกเมื่ออายุ 4-5 ปี และโดยทั่วๆ

ไปแอนติบอดี้นี้จะพบได้ในคน 70-80% เมื่อย่างเข้าวัยหนุ่มสาว[43]

ในโรค IM พบว่า EBV เป็นสาเหตุของโรคนี้ จากการศึกษาต่อมาพบว่าผู้ที่ป่วยเป็นโรค IM มักเป็นผู้ที่ไม่มีแอนติบอดี้ต่อ EBV และผู้ป่วย IM ที่มีอาการเฉียบพลันจะมีการสร้างแอนติบอดี้ต่อ VCA แอนติบอดี้นี้จะยังคงอยู่เป็นเวลานานบางครั้งตลอดชีวิต นอกจากนี้ผู้ที่มีแอนติบอดี้ต่อ EA ยังพบได้ถึง 75% ของผู้ป่วยทั้งหมด ซึ่งจะเกิดขึ้นหลังจากเกิดแอนติบอดี้ต่อ VCA และจะหายไปภายในระยะเวลาไม่กี่เดือน [4]

ในผู้ป่วยชาวอาฟริกันที่ป่วยเป็นโรค BL จะพบแอนติบอดี้ต่อ VCA โดยพบในระดับสูง ค่าเฉลี่ยระดับแอนติบอดี้ต่อ EBV ใน African Burkitt's lymphoma พบว่าสูงเป็น 8 เท่าของคนปกติและผู้ป่วยอื่นๆ[4,29,31,68] แอนติบอดี้ต่อ EA จะพบในซีรั่มของผู้ป่วย BL ซึ่งมีแอนติบอดี้ต่อ VCA ระดับประมาณมากกว่าหรือเท่ากับ 1:40 ร่วมด้วย แต่ซีรั่มซึ่งมีแอนติบอดี้ต่อ VCA สูงไม่จำเป็นต้องมีแอนติบอดี้ต่อ EA ร่วมด้วย ลักษณะเช่นนี้พบได้ในซีรั่มของเด็กชาวอาฟริกันปกติบางคนซึ่งพบว่ามีแอนติบอดี้ต่อ VCA สูง การพบหรือไม่พบแอนติบอดี้ต่อ EA จะมีผลในการพยากรณ์โรคของผู้ป่วย เนื่องจากพบว่าซีรั่มส่วนใหญ่ซึ่งได้มาจากผู้ป่วยไม่นานก่อนจะถึงแก่กรรมจะพบแอนติบอดี้ต่อ EA และผู้ป่วยส่วนใหญ่ซึ่งมีชีวิตยืนยาวอย่างน้อย 2 ปี บางคนมีชีวิตอยู่ต่อมาถึง 9 ปีตรวจไม่พบแอนติบอดี้ต่อ EA เลย หรือพบในระดับต่ำๆและผู้ป่วยบางคนซึ่งถึงแก่กรรมโดยตรวจไม่พบแอนติบอดี้ต่อ EA นั้นพบว่าส่วนใหญ่มีสาเหตุมาจากอาการแทรกซ้อนระหว่างการผ่าตัดเอาเนื้อมะเร็งออก[69]

ในผู้ป่วยโรคอื่นๆจากการศึกษาพบว่า pattern ของระดับแอนติบอดี้อาจจะสูงหรือต่ำก็ได้ เช่นในโรค chronic lymphocytic leukemia (CLL) พบว่า 40% ของผู้ป่วยจะมีแอนติบอดี้ต่อ VCA สูง และแอนติบอดี้ต่อEA ต่ำ [70] อย่างไรก็ตามในโรค CLL นี้พบว่าผู้ป่วยบางคนตรวจไม่พบแอนติบอดี้ชนิดนี้ และระดับแอนติบอดี้ที่พบอาจคงที่อยู่ไม่ว่าปริมาณ lymphocyte หรือปริมาณเม็ดเลือดขาวทั้งหมดจะเป็นอย่างไร และแอนติบอดี้ก็ไม่ได้เกี่ยวข้องกับการพยากรณ์โรค [71]

จากการศึกษาในซีรั่มของผู้ป่วย NPC ในแต่ละคนแสดงให้เห็นว่าแอนติบอดี้ต่อ EBV แยกได้ออกเป็น 2 พวก คือแอนติบอดี้ต่อ EA และแอนติบอดี้ต่อ VCA พวกหนึ่ง อีกพวกหนึ่งคือแอนติบอดี้ต่อ EBNA และแอนติบอดี้ต่อ CF/S [72] แอนติบอดี้ต่อ VCA

มักจะคงที่อยู่ตลอดชีวิต และจะชี้ให้เห็นถึงความเกี่ยวเนื่องระหว่าง virus activation และการปลดปล่อยไวรัสออกมาในร่างกาย ในทางตรงข้ามแอนติบอดี้ที่เกี่ยวข้องกับอาการของโรคมากที่สุดคือแอนติบอดี้ต่อ EA โดยมักพบบ่อยๆในผู้ป่วยซึ่งเป็น acute lymphoproliferative disease, infectious mononucleosis หรือในผู้ป่วยมะเร็งซึ่งตรวจพบ EBV ใน tumour cells (20)

ความสัมพันธ์ระหว่าง EBNA และ CF/S กับโรคไม่ค่อยสำคัญนัก และเป็นเพียงแอนติเจนที่ตรวจพบใน non-virus producing cells เท่านั้น (30,35,45)

Wara และผู้ร่วมงานศึกษาพบว่าแอนติบอดี้ชนิด Ig A จะพบได้ในระดับสูงในผู้ป่วย NPC แต่ไม่ค่อยพบในผู้ป่วยมะเร็งบริเวณลำคอและใบหน้า, ผู้ป่วย BL, ผู้ป่วย IM , และคนปกติ (19) จากรายงานนี้ในปี 1976 Henle และผู้ร่วมงานได้ศึกษาถึงแอนติบอดี้ชนิด Ig A ต่อ EBV ในผู้ป่วย NPC และได้พบความสำคัญของแอนติบอดี้ชนิด Ig A ซึ่งแตกต่างจากผู้ป่วยมะเร็งชนิดอื่นๆอย่างเห็นได้ชัด โดยทำการศึกษาแอนติบอดี้ชนิด Ig A ต่อ VCA และ EA ในผู้ป่วย NPC, ผู้ป่วยมะเร็งบริเวณลำคอและใบหน้า, ผู้ป่วย BL, ผู้ป่วย IM และคนปกติ จากผลการศึกษาพบว่าผู้ป่วย NPC ก่อนการรักษา 93% จะพบแอนติบอดี้ชนิด Ig A ต่อ VCA และ 73% พบแอนติบอดี้ชนิด Ig A ต่อ EA และพบในระดับสูงซึ่งบางครั้งพบว่าสูงควบคู่ไปกับระดับแอนติบอดี้ชนิด Ig G แอนติบอดี้ชนิด Ig A นี้จะสูงตามระยะของโรคและผู้ป่วย NPC ที่ได้รับการรักษา 2-6 ปีต่อมาพบว่าระดับแอนติบอดี้ชนิด Ig A จะลดต่ำลงจนตรวจไม่พบ สำหรับผู้ป่วยมะเร็งชนิดอื่นๆพบว่าในผู้ป่วยมะเร็งบริเวณลำคอและใบหน้าและคนปกติจำนวนน้อยกว่า 5% ตรวจพบแอนติบอดี้ชนิด Ig A ต่อ VCA และเกือบจะไม่พบแอนติบอดี้ต่อ EA เลย ในผู้ป่วย BL จำนวน 28% พบแอนติบอดี้ชนิด Ig A ต่อ VCA และ 4% พบแอนติบอดี้ต่อ EA ในผู้ป่วย IM ตรวจพบแอนติบอดี้ชนิด Ig A ต่อ VCA จำนวน 38% และตรวจพบแอนติบอดี้ต่อ EA จำนวน 3% และระดับแอนติบอดี้ที่ตรวจพบในผู้ป่วยเหล่านี้ก็พบได้ในระดับต่ำๆ (20)

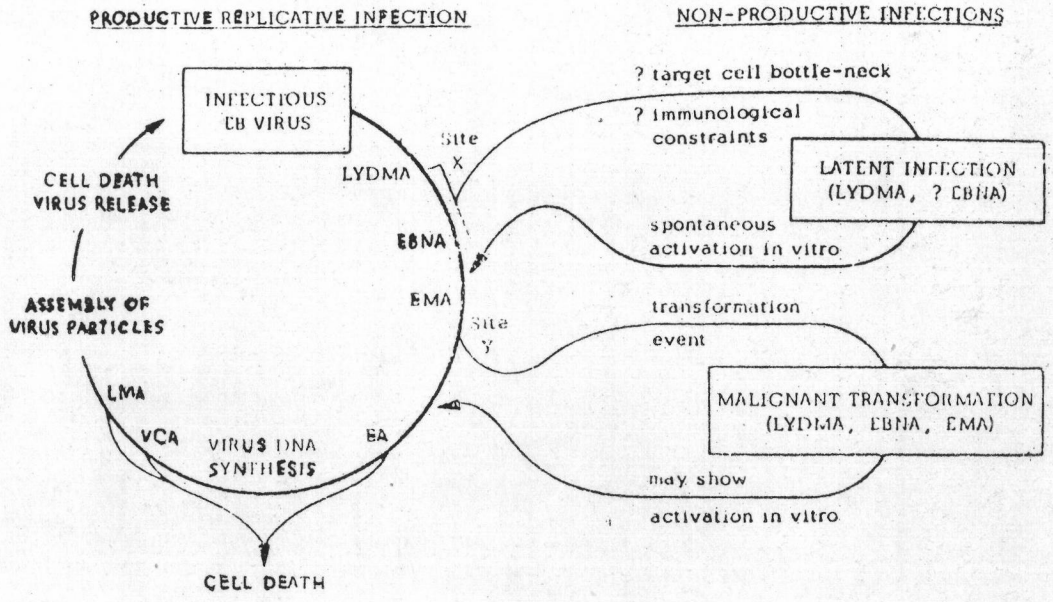
4. <u>EBV infection</u>

โดยทั่วไปการติดเชื้อที่เกิดจาก Herpes virus สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 แบบคือ

4.1 Productive infection ไวรัสเมื่อเข้าไปในเซลล์บางชนิด ไวรัสจะเพิ่มจำนวนในเซลล์นั้นได้และทำให้เซลล์ตายในเวลาต่อมา (44) ในคนที่ได้รับการติดเชื้อ EBV จะมี productive infection ของ EBV เกิดขึ้นที่ oropharynx และในผู้ป่วย IM ก็เช่นกัน ซึ่งจะทำให้เกิดการกระจายของไวรัสจากคนหนึ่งไปยังคนอื่นๆ ได้(73,74) การติดเชื้อแบบนี้จะเกิดแอนติเจนชนิด EBNA ขึ้นก่อนอาจจะเกิดก่อน LYDMA หรือพร้อมๆกันและตามมาด้วยการสร้าง EMA และ EA และจะห้ามการสังเคราะห์ cellular macromolecule หลังจากนั้นจะสร้าง DNA, LMA และท้ายสุดจะสร้าง VCA เกิดการ assembly ของ virus particle และปล่อย EB virus ออกจากเซลล์ (รูปที่ 2)

4.2 Non-productive infection เมื่อไวรัสเข้าไปในเซลล์บางชนิดแล้วไวรัสไม่สามารถเพิ่มจำนวนได้และไม่ทำให้เซลล์นั้นตาย แต่อาจจะทำให้เซลล์นั้นเกิดการ transformation คือทำให้เซลล์เปลี่ยนรูปร่างไปเป็นเซลล์มะเร็ง ตัวอย่างของไวรัสที่ทำให้เกิด infection แบบนี้ได้แก่ Herpes saimiri ในลิงแถบอาฟริกาใต้ (75) และ MDHV ที่ทำให้เกิด Marek's disease ในไก่ ไวรัสเหล่านี้ไม่สามารถตรวจพบได้ แต่พบ viral genome หรือ DNA ของไวรัสอยู่ในเซลล์มะเร็ง มี genes บางส่วนของไวรัสเท่านั้นที่สามารถ express ได้ ดังนั้นจึงพบ virus specific antigens บางชนิดในเซลล์มะเร็งได้ แต่ในบางกรณีสามารถทำให้ genes ทั้งหมดของไวรัส express หรือทำให้ไวรัสเพิ่มจำนวนในเซลล์มะเร็งได้โดยใช้สารบางอย่างกระตุ้น เช่น BUDR หรือ IUDR หรือการนำเซลล์มะเร็งนี้มาเพาะเลี้ยงในหลอดแก้ว (26,27)

เป็นที่น่าสังเกตุว่าในคนที่ได้รับการติดเชื้อ Herpes virus อาจมี productive infection และ non-productive infection แบบมี transformation เกิดขึ้นในคนๆเดียวกัน แต่เกิดที่เซลล์ต่างกัน เช่น Herpes virus of Marek's disease (MDHV) ทำให้ lymphoid cell เจริญเติบโตกลายเป็นเซลล์มะเร็งได้ แต่เซลล์นั้นไม่สร้างไวรัสและในขณะเดียวกันอาจเกิด productive infection ในเซลล์ของ bursa of fabricious และ epithelial cell ของ feather follicles ซึ่งไวรัสที่ถูกสร้างในเซลล์เหล่านี้เป็นสาเหตุของการแพร่กระจายของไวรัส EBV ก็เช่นกัน คนที่ได้รับการติดเชื้อ EBV นั้นจะมี productive




รูปที่ 2 การ express ของ antigens ในเซลล์ ใน productive infection และ non productive infection แบบ in vivo

infection เกิดขึ้นที่ oropharynx ส่วนการ transformation จะเกิดขึ้นที่ B-lymphocyte และ epithelial cells ของนาโสฟาริงส์ (26,27)

การเกิด malignant transformation ใน BL พบว่า EBV ทำให้เกิดการสร้าง EBNA, LYDMA และ EMA (45,46) ตามลำดับ และการเพิ่มจำนวนของไวรัสจะหยุดชะงักในช่วงนี้เนื่องมาจากมี factors ต่างๆมาเกี่ยวข้องในการทำให้เซลล์เปลี่ยนแปลง (รูปที่ 2) ซึ่งในเซลล์มะเร็งของ NPC ในทางอิมมูนวิทยาจะตรวจพบเฉพาะ EBNA เท่านั้น (76)

EBNA นี้คล้ายกับ nuclear T neoantigen ส่วน EMA และ LYDMA นั้นคล้ายกับ transplantation membrane neoantigen ที่เกิดเนื่องจาก oncogenic DNA virus (52)

นาโสฟาริงส์

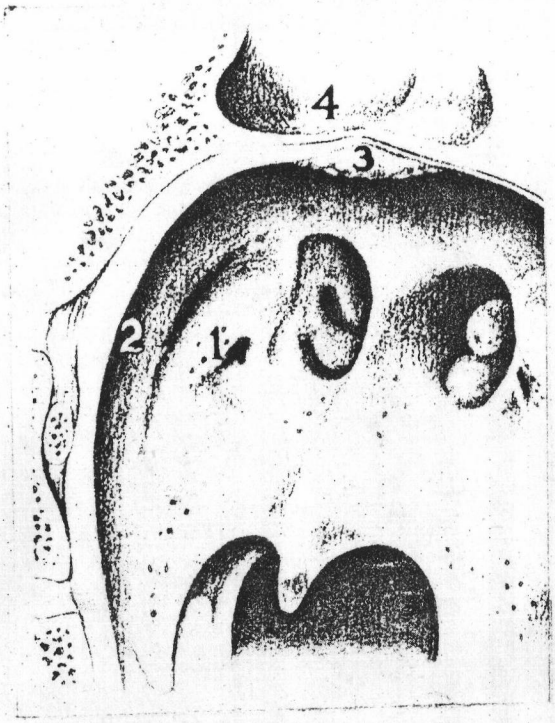
นาโสฟาริงส์เป็นส่วนที่ใหญ่ที่สุดของฟาริงส์ อยู่หลังโพรงจมูก ใต้ฐานกระโหลกศีรษะ และเหนือ soft palate ผิวชั้นนอกบุด้วย stratified squamous หรือ ciliated columnar epithelium ตามผนังประกอบด้วย glandular lymphoid tissue และ connective tissue การเกิดของมะเร็งพบว่าเริ่มเกิดขึ้นที่บริเวณ eustachian cushion, fossa of Rosenmuller และผนังด้านบนของนาโสฟาริงส์ (รูปที่ 3) การแพร่กระจายของมะเร็งไปตามท่อน้ำเหลืองมักจะทำให้ต่อมน้ำเหลืองโตขึ้น และเซลล์มะเร็งอาจกระจายไปยังเนื้อเยื่ออื่นๆ หรืออวัยวะอื่นๆ ได้ (77)

Nasopharyngeal carcinoma ( NPC ) เมื่อตรวจดูด้วยกล้องจุลทัศน์อีเล็คตรอน พบว่าเป็น variation ของ squamous cell carcinoma ทั้งหมดซึ่งแยกออกเป็น กลุ่ม เมื่อตรวจดูด้วยกล้องจุลทัศน์ ดังนี้

1. Keratinizing squamous cell carcinoma มะเร็งพวกนี้มี squamous differentiation ชัดเจน

2. Non-keratinizing carcinoma มะเร็งพวกนี้มี squamous differentiation ไม่ชัดเจนเหมือนแบบแรก

3. Undifferentiated carcinoma




รูปที่ 3 มองจากด้านข้างเยื้องไปทางด้านหลังของ nasopharynx

1 choanae

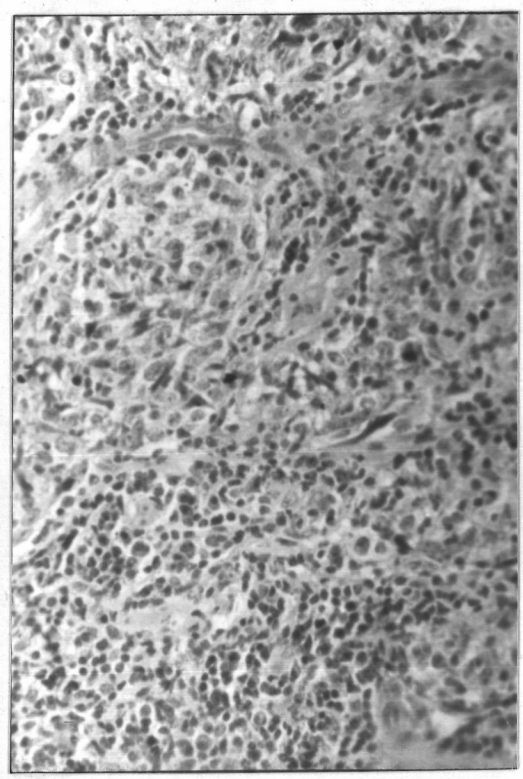
2 Rosenmuller'fossa

3 roof of tonsil of Luscha

4 บริเวณที่ติดกับ sphenoidal sinus

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 4 ลักษณะทาง histology ของ undifferentiated carcinoma ของ nasopharynx ภายใน lymph node พบ non keratinizing tumour cells ปะปนกัน lymphocytes ซึ่งอาจจะเรียกลักษณะอย่างนี้ว่า lymphoepithelioma (x200)



Lymphoepithelial carcinoma หรือ lymphoepithelioma หมายถึงการเจริญเติบโตจาก lymphoepithelial structure ซึ่งพบได้ใน tonsil, base of tongue, nasopharynx, thymus คำว่า lymphoepithelioma นี้จะนำมาใช้กับ non-keratinizing และ undifferentiated nasopharyngeal carcinoma ซึ่งในทาง histology จะตรวจพบ lymphocytes มากมายปะปนอยู่ระหว่าง tumour cells [78,79] (รูปที่ 4)

Moench และ Phillips ได้แบ่งระยะของโรคออกเป็น 4 ระยะตาม TNM classification คือ[80]

ระยะที่ I ($T_1$; $N_0$) เนื้องอกจำกัดอยู่ใน soft tissue ของนาโสฟาริงส์ ต่อมน้ำเหลืองยังคลำไม่ได้

ระยะที่ II ($T_2$; $N_{1-2}$) เนื้องอกกระจายไปถึงโพรงจมูก palate หรือ oropharynx ต่อมน้ำเหลืองโตขนาด 3 ซม. หรือเล็กกว่า และเคลื่อนไปมาได้ หรือคลำต่อมน้ำเหลืองได้หลายต่อมในข้างเดียวกัน หรือต่อมน้ำเหลืองโตกว่า 3 ซม. เคลื่อนไปมาได้

ระยะที่ III ($T_{1-2}$; $N_3$) การแพร่กระจายของมะเร็งเหมือนระยะที่ II คลำต่อมน้ำเหลืองได้ข้างเดียว เคลื่อนไปมาไม่ได้ หรือคลำได้หลายต่อมทั้ง 2 ข้าง

ระยะที่ IV ($T_{3-4}$; $N_{1-2-3}$) มะเร็งกระจายถึงเส้นประสาท ทำลายกระดูกหรือกระจายลงต่ำกว่า oropharynx

<u>อุบัติการของโรค NPC</u>

อุบัติการของ NPC จะขึ้นอยู่กับสภาพภูมิประเทศ เชื้อชาติ และอายุรวมทั้งพันธุกรรมและสิ่งแวดล้อม สิ่งเหล่านี้จะเกี่ยวข้องในการทำให้เกิดโรค [81] NPC จะพบได้บ่อยในชาวจีนที่อาศัยอยู่ทางตะวันออกเฉียงใต้ของประเทศจีน โดยเฉพาะมณฑลกวางตุ้ง และพวกที่มีความเป็นอยู่และมีวัฒนธรรมแบบจีนในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ [82] ชาวเชื้อสายมองโกลอยด์ ในญี่ปุ่น เกาหลี และชาวเชื้อสาย Caucasian ในยุโรปและอเมริกา ไม่ค่อยพบว่าเป็น NPC รวมทั้งชาวจีนที่เกิดและอาศัยอยู่ในออสเตรเลีย ซึ่งอยู่ห่างกลางสิ่งแวดล้อมแบบตะวันตก ชาวจีนในฮาวายและแคลิฟอร์เนีย

007855
I 17912696

ก็พบว่าอุบัติการของ NPC ต่ำลงอย่างเห็นได้ชัด แสดงว่าการเกิด NPC ในชาวจีนอาจเกี่ยวข้องกับพันธุกรรม เชื้อสายร่วมกับสภาพแวดล้อม หรือเกี่ยวข้องกับสภาพแวดล้อมเพียงอย่างเดียว และพบว่าผู้ชายเป็นโรคนี้มากกว่าผู้หญิง (83)

สาเหตุของการเกิด NPC ยังไม่ทราบแน่ชัด อย่างไรก็ตามพบว่ามีหลาย factor อาจเป็นสาเหตุสำคัญ Clifford กล่าวว่า (84) อาจเนื่องจากเผ่าพันธุ์ หรือสิ่งแวดล้อม หรือทั้ง 2 สิ่งมีบทบาทสำคัญในการทำให้เกิด NPC ขึ้น

จากการสำรวจของ National cancer ครั้งที่ 3 ( 1967-1971) ในประเทศสหรัฐอเมริกา (85) พบว่าโรค NPC มีจำนวน 0.2% ของโรคมะเร็งทั้งหมด เมื่อดูตามเพศ พบว่าในผู้ชายมีอัตราการเกิดโรค 0.8 คน ต่อ 100,000 คน ในผู้หญิงอัตราการเกิดโรค เป็น 0.3 คน ต่อ 100,000 คน และอุบัติการของ NPC ต่อ 100,000 คน เมื่อดูตามอายุพบว่าในเด็กผู้ชาย 5-9 ปี เป็น 0.1 ในผู้ชายอายุ 40-44 ปี เป็น 1.1 ในผู้ชายอายุ 60-64 ปี เป็น 2.5 และในผู้ชายอายุ 70-74 ปี เป็น 3.4 ในเด็กไม่ค่อยพบว่าเป็น NPC แต่อาจพบว่าเป็น malignant lymphoma, mesenchymal tumour, neuroblastoma และ rhabdomyosarcoma ได้

จากการสำรวจที่โรงพยาบาลศิริราช ในปี พ.ศ. 2521 (86) ซึ่งได้จัดอันดับโรคมะเร็งต่างๆ 10 อันดับแรก ดังนี้

| | |
|---|---|
| มะเร็งปากมดลูก | 20.65 % |
| มะเร็งช่องปาก | 8.42 % |
| มะเร็งเต้านม | 7.11 % |
| มะเร็งทางเดินหายใจและปอด | 6.77 % |
| มะเร็งตับ | 4.94 % |
| มะเร็งผิวหนัง | 4.70 % |
| มะเร็งเม็ดเลือดขาว | 4.61 % |
| มะเร็งนาโสฟาริงส์ | 3.98 % |
| มะเร็งหลอดอาหาร | 3.05 % |
| มะเร็งกล่องเสียง | 2.87 % |

พบว่า NPC จัดอยู่ในอันดับที่ 8 คิดเป็นร้อยละ 3.98 และจากการสำรวจจากสถาบันมะเร็งแห่งชาติ และโรงพยาบาล 120 แห่งในประเทศไทย ในปี พ.ศ.2522 และได้รวบรวมสถิติของอุบัติการของ NPC เมื่อดูตามเพศและอายุตามตารางที่ 1[87] และพบว่ามะเร็งนาโสฟาริงส์มีอุบัติการสูงขึ้นเรื่อยๆ ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2519 พบเป็นร้อยละ 5.5 ของมะเร็งชนิดต่างๆที่รวมอยู่ในมะเร็งบริเวณศีรษะและลำคอ ปี พ.ศ. 2520 พบเพิ่มเป็นร้อยละ 13.3 ปี พ.ศ. 2521 พบเป็นร้อยละ 18.5 และปี พ.ศ. 2522 พบเป็นร้อยละ 20.2 [87]

| อายุ / เพศ | 15 | 20 | 25 | 30 | 35 | 40 | 45 | 50 | 55 | 60 | 65 | 75 | ทุกช่วงอายุ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| ชาย | 0.11 | 0.23 | 0.16 | 0.45 | 1.2 | 2.18 | 3.09 | 2.22 | 4.47 | 4.63 | 3.86 | 5.14 | 0.72 |
| หญิง | 0.12 | 0.14 | 0.17 | 0.47 | 0.61 | 1.05 | 1.17 | 1.53 | 2.07 | 1.16 | 1.83 | 0.77 | 0.35 |

ตารางที่ 1 อุบัติการของมะเร็งนาโสฟาริงส์ต่อประชากร 100,000 คน เมื่อดูตามเพศและอายุ (จากการสำรวจที่สถาบันมะเร็งแห่งชาติ และโรงพยาบาล 120 แห่งในประเทศไทยปี พ.ศ. 2522)

จะเห็นได้ว่า โรค NPC เป็นโรคมะเร็งที่พบได้บ่อย และมีแนวโน้มว่าอุบัติการของโรค NPC จะเพิ่มสูงขึ้นเรื่อยๆ ในประเทศไทย

ในชาวอาฟริกาซึ่งอาศัยในบริเวณที่สูงและอากาศเย็น พบว่าสิ่งแวดล้อมเหล่านี้มีบทบาทในการเกิด NPC ประชากรในพื้นที่เหล่านี้อาศัยในกระท่อมซึ่งการระบายอากาศไม่ดีพอ และหายใจเอาแต่เถ้าถ่านของไม้ซึ่งเผาไหม้เข้าไป สิ่งเหล่านี้มีปริมาณของ polynuclear aromatic hydrocarbon มาก[88] และในไต้หวันระดับของ carcinogenic element พวกโครเมี่ยม นิเกิล อาร์เซนิค จะพบมากอยู่ตามปุ่มโคนผมและตามเล็บมือของผู้ป่วย NPC และครอบครัว [89]

Polunin พบว่า NPC อาจจะเป็นผลจาก malnutrition เช่นเดียวกับการขาดวิตามินเอและธาตุเหล็กซึ่งจำเป็นในการรักษาและคงสภาพของ epithelial cell ให้ดีอยู่เสมอ [90] และ factor อีกตัวหนึ่งซึ่งพบว่าสำคัญคือ oncogenic virus

ซึ่งในผู้ป่วย NPC พบว่ามีแอนติบอดี้ต่อ EBV antigens และพบ EBV ใน lymphoid cell ซึ่งได้มาจาก tumour specimens จากการศึกษาโดยวิธี hybridization technique พบว่าในแต่ละเซลล์มี EBV genomes ได้ตั้งแต่ 1-19 genomes (91)

Malignant lymphoma หมายถึงกลุ่มของโรคซึ่งเกิดจากการเจริญเติบโตที่ผิดปกติอย่างร้ายแรงของกลุ่มเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับระบบอิมมูนของร่างกาย กลุ่มเซลล์ดังกล่าวนี้ประกอบด้วยเซลล์ใหญ่ๆ 2 พวกคือ lymphoid cell และ histiocyte อวัยวะที่เกิดพยาธิสภาพจากการเจริญเติบโตที่ผิดปกติของเซลล์เหล่านี้มักเป็นพวกที่มีกำเนิดมาจาก lymphoid cells เช่น ต่อมน้ำเหลือง ม้าม ทอนซิล อย่างไรก็ตามอาจพบในอวัยวะนอกจาก lymphoid organ ได้ เช่น ไขกระดูก ตับ ระบบประสาท เป็นต้น

ลักษณะของ histology ที่จะบอกได้ว่า เป็น malignant lymphoma นั้นได้แก่ distortion ของอวัยวะที่เกิดพยาธิ สภาพ ทั้งนี้เนื่องจาก malignant cell ที่เกิดนั้นจะลุกลามและทำลาย lymphoid follicles, sinuses, capsules ตลอดจน fat ที่ห่อหุ้ม capsules อยู่ สำหรับชนิดของกลุ่มเซลล์ที่ infiltrate นั้นส่วนใหญ่เป็น lymphoid cell หรือ histocytic cell หรือทั้ง 2 ชนิดผสมกัน มีลักษณะเฉพาะหรือความแก่อ่อนแตกต่างกันตามชนิดของ lymphoma นอกจากนั้นยังมีเซลล์ข้างเคียง เช่น พวก eosinophil, plasma cell และ fibroblast ปะปนมาด้วย เซลล์ข้างเคียงเหล่านี้จะมากน้อยแตกต่างกันไปตามชนิดของ lymphoma

โดยอาศัยหลักดังกล่าวนี้ จึงแบ่ง malignant lymphoma ออกเป็น 2 พวกใหญ่ ๆ คือ Hodgkin's disease (HD) และ Non-Hodgkin's disease (NHD) ลักษณะของเซลล์ที่ช่วยแยก HD ออกจาก NHD คือ

a. Reed Sternberg cells (RD) ตามที่ Rappaport(92) กล่าวไว้เข้าใจกันว่าต้นกำเนิดของเซลล์นี้มาจาก histiocyte ขนาดใหญ่ซึ่งมีลักษณะเฉพาะ คือ มี nucleus 2 อัน เป็น vascular nuclei และ nucleolus ย้อมติดสีแดงด้วยสี hematoxylin eosin สำหรับธรรมชาติของ RD cells ว่าจะเป็น malignant cells หรือไม่นั้นเป็นที่ถกเถียงกันมาก เพราะจากการศึกษาไม่พบว่าเซลล์นี้สร้าง DNA นอกจากนั้น RD cells นี้อาจพบในโรคอื่น ๆ เช่น IM, BL หรือใน lymph node ที่มี hyperplasia ก็ได้ อย่างไรก็ตาม RD cells ร่วมกับการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิ

สภาพซึ่งเข้ากันได้ กับ lymphoma จะช่วยในการวินิจฉัย HD และ NHD อย่างเด็ดขาด

b. นอกจาก RD cells แล้ว เซลล์อื่น ๆ ข้างเคียงที่พบมากใน HD คือ eosinophils และ plasma cells ซึ่งไม่ค่อยพบใน NHD ส่วน lymphoid cells หรือ histiocytes นั้นพบได้เป็นจำนวนมาก และแสดงลักษณะของ malignant cells ชัดเจน เป็นเซลล์ตัวอ่อนและมีการแบ่งตัวที่ผิดปกติ เป็นต้น

Lukes และ Butler ได้จำแนก HD ออกเป็น 4 ชนิด ตามลักษณะทาง histology (93,94)

1. HD with lymphocytic predominance มีลักษณะที่สำคัญคือพบ mature lymphocytes จำนวนมาก อาจพบ proliferation ของ histocytes ตัวแก่รวมด้วยก็ได้ พบ RD cells ได้บ้าง

2. HD with lymphocytic depletion ลักษณะที่เด่นชัดของพวกนี้คือ ไม่พบ lymphocytes แต่พบ neoplastic reticular cells และ RD cells เป็นจำนวนมากอาจพบ diffuse หรือ nodular fibrosis ร่วมด้วย

3. HD with mixed cellularity ลักษณะเด่นชัดคือพบทั้ง lymphocytes และ histiocytes ร่วมกัน และพบ RD cells ด้วยเป็นจำนวนมาก

4. Nodular sclerosis ลักษณะที่สำคัญ คือมี nodular formation ซึ่งแบ่งออกชัดเจนด้วย collargen fibre แต่ละ nodule ประกอบด้วย RD cells, lymphocytes, histiocytes และ reactive cells อื่น ๆ

Rappaport (95) ได้ศึกษา NHD และพบว่าแตกต่างกันถึง 5 ชนิด คือ

1. Lymphocytic lymphoma well differentiate (LLWD)

ลักษณะเด่นชัด คือ neoplastic cells เป็นพวก small lymphocytes เป็นส่วนใหญ่

2. Lymphocytic lymphoma poorly differentiate (LLPD)

มีเซลล์หลายระยะจากตัวอ่อนที่สุดซึ่งเป็น undifferentiated cell นั้นมีลักษณะไม่เหมือน lymphoblast และ lymphoma ซึ่งประกอบด้วย neoplastic cells ชนิดนี้ Craver's classification ให้ไว้เป็น reticulum cell sarcoma

3. Histiocytic lymphoma (differentiated) ลักษณะ neoplastic histiocyte ซึ่งเป็นตัวแก่มี phagocytic activity และมี fibril ของ reticulum เซลล์ขนาดโตประมาณ 15-20 μ

4. Undifferentiate หรือ syncytial form ขนาดใหญ่มาก 15-35 μ พวกนี้เป็นเซลล์อ่อน ไม่มี reticulin-fibre และไม่มี phagocytosis สำหรับต้นกำเนิดของเซลล์พวกนี้เข้าใจว่าจะเป็น B-lymphocytes ตัวอ่อนมาก

5. Mixed cellularity ไม่มีลักษณะเด่นทางใดชัด แต่เป็นชนิดผสมของ lymphocytic และ histiocytic lymphoma

ในปี 1958 Burkitt's ได้รายงานถึง extranodal lymphoma ซึ่งเขาเรียกว่า Burkitt's lymphoma จัดอยู่ในพวก NHD พบในเด็กอาฟริกันโดยเข้าใจว่าเป็น endemic form ของ lymphoma ซึ่งเกิดบริเวณอาฟริกาตะวันออก ต่อมามีรายงานประกอบในอเมริกาเหนือ ยุโรป เอเชีย รวมทั้งประเทศไทยด้วย แต่อุบัติการเมื่อเปรียบเทียบกับทางอาฟริกาแล้วนับว่าน้อยมาก ลักษณะสำคัญที่แตกต่างจาก lymphoma ทั่ว ๆ ไปคือ ลักษณะทางคลินิค พยาธิวิทยา การดำเนินของโรค ตลอดจนการเปลี่ยนแปลงทางอิมมูน (96,97)

โดยทั่วไป HD จะพบน้อยกว่า NHD และมีผู้ศึกษาในพวก Caucasian พบว่า LLPD พบเป็นลำดับหนึ่ง คือ 40% ของ NHD ทั้งหมด ในอินโดนีเซียและอินเดียการกระจายของ NHD คล้ายกับที่พบในคนผิวขาว ทางด้านอายุและเพศนั้น malignant lymphoma เกิดได้กับทุกเพศทุกวัย โดยทั่วไปอุบัติการในชายสูงกว่าหญิง อย่างไรก็ตามขึ้นอยู่กับอายุผู้ป่วยด้วย ยิ่งอายุมากจะพบในชายมากขึ้นเป็นลำดับ โดยทั่ว ๆ ไป อัตราการพบในชายะหญิง ประมาณ 2:1 อายุที่พบมากที่สุดคือ 50-70 ปี ในผู้อายุต่ำกว่า 2 ปี พบน้อยมาก (98-101)