

อีวแมนแปปปีโลมาไวรัส ชนิดที่ 16 ในรอยโรคไคเคนแพลนัส อีพีทีเลียล ดิสเพลเซีย
และมะเร็งสควอมีส เซลล์ คาร์ซิโนมาในช่องปากของผู้ป่วยไทย



นางสาว กล้าวจี เกตุแก้ว

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเวชศาสตร์ช่องปาก ภาควิชาเวชศาสตร์ช่องปาก

คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2553

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Human Papillomavirus Type 16 in oral lichen planus, epithelial dysplasia
and squamous cell carcinoma in Thai patients



Miss Klawajee Ketkaew

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

ชีวแมนแปบปีโลมาไวรัส ชนิดที่ 16 ในรอยโรคไลเคน
แพลนัส อีพิทีเลียล ดิสเพลเซีย และมะเร็งสควอเมัส เซลล์
คาร์ซิโนมาในช่องปากของผู้ป่วยไทย

โดย

นางสาวกัลลวจี เกตุแก้ว

สาขาวิชา

เวชศาสตร์ช่องปาก

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทันตแพทย์หญิง ดร.ประทานพร
อารีราชการัตน์


อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

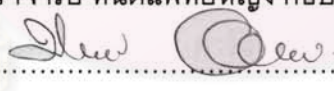
รองศาสตราจารย์ ทันตแพทย์ กิตติพงษ์ ดนุไทย

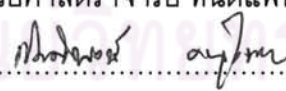
คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็น
ส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

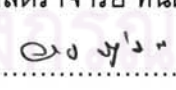

..... คณะบดีคณะทันตแพทยศาสตร์
(รองศาสตราจารย์ ทันตแพทย์หญิง วัชรารัตน์ ทัดจันทร์)

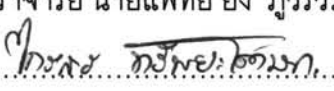
คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์


..... ประธานกรรมการ
(ศาสตราจารย์ ทันตแพทย์หญิง กอบกาญจน์ ทองประสม)


..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทันตแพทย์หญิง ดร.ประทานพร อารีราชการัตน์)


..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม
(รองศาสตราจารย์ ทันตแพทย์ กิตติพงษ์ ดนุไทย)


..... กรรมการ
(ศาสตราจารย์ นายแพทย์ ยง ภู่วรวรรณ)


..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(อาจารย์ ทันตแพทย์ ดร.ไกรสร ทรัพย์ะโตษก)

กล่าวถึง เหตุแก้ว : ฮิวแมนแปปิโลมาไวรัส ชนิดที่ 16 ในรอยโรคไลเคนแพลนัส อีพิทีเลียล ดิสเพลเซีย และมะเร็งสควอมาต เซลล์ คาร์ซิโนมาในช่องปากของผู้ป่วยไทย (Human Papillomavirus Type 16 in oral lichen planus, epithelial dysplasia and squamous cell carcinoma in Thai patients) อ. ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก : ผศ. ทพญ. ดร. ประทานพร อารีราชการัตน์, อ. ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม : รศ. ทพ. กิตติพงษ์ ดนุไทย, 101 หน้า.

ฮิวแมนแปปิโลมาไวรัส (Human Papillomavirus; HPV) เป็นไวรัสที่ก่อให้เกิดโรคของเยื่อเมือวชนิดสควอมาต (squamous epithelium) ได้ในหลายอวัยวะ รวมถึงเยื่อเมือกในช่องปาก ก่อให้เกิดความรุนแรงได้หลายระดับตั้งแต่เนื้องอกไปจนถึงมะเร็ง HPV ที่พบสัมพันธ์กับรอยโรคในช่องปากส่วนใหญ่เป็นชนิดความเสี่ยงต่ำ (low-risk HPV) ส่วนในกลุ่มความเสี่ยงสูง (high-risk HPV) พบรายงานว่ามีความสัมพันธ์กับรอยโรคมะเร็งเป็นส่วนใหญ่ การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจหาเชื้อ HPV ในรอยโรคไลเคนแพลนัส อีพิทีเลียล ดิสเพลเซีย และมะเร็งสควอมาต เซลล์ คาร์ซิโนมาในช่องปากของผู้ป่วยไทย โดยใช้ชิ้นเนื้อฝังในพาราฟินของรอยโรคไลเคนแพลนัส อีพิทีเลียล ดิสเพลเซีย มะเร็งสควอมาต เซลล์ คาร์ซิโนมาในช่องปาก และเนื้อเยื่อปกติ ส่งตรวจด้วยวิธีอิมมูโนฮิสโตเคมี โดยใช้แอนติบอดีต่อ HPV-16L1 เพื่อตรวจหาแอนติเจนของไวรัสในเนื้อเยื่อ ผลการศึกษาพบการแสดงออกของ HPV-16 ในทุกกลุ่มคือ ร้อยละ 26.7 (16/60) ในไลเคนแพลนัส ร้อยละ 73.3 (22/30) ในอีพิทีเลียล ดิสเพลเซีย ร้อยละ 23.3 (7/30) ในมะเร็งสควอมาต เซลล์ คาร์ซิโนมา และร้อยละ 15 (3/20) ในเนื้อเยื่อปกติ โดยพบ HPV-16 ในรอยโรคอีพิทีเลียล ดิสเพลเซีย สูงกว่าในมะเร็งสควอมาต เซลล์ คาร์ซิโนมา ไลเคนแพลนัส และเนื้อเยื่อปกติ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อายุเฉลี่ยของกลุ่มเนื้อเยื่อปกติต่ำกว่ากลุ่มอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญ ควรติดตามศึกษาในระยะยาวในกลุ่มเนื้อเยื่อปกติที่พบ HPV-16 ต่อไป เป็นไปได้ว่า HPV-16 อาจเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการเกิดพยาธิสภาพของรอยโรค อีพิทีเลียล ดิสเพลเซีย และมีผลในการเหนี่ยวนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของรอยโรคที่มีโอกาสเปลี่ยนเป็นมะเร็งในช่องปากให้กลายเป็นมะเร็งได้

ภาควิชา เวชศาสตร์ช่องปาก
 สาขาวิชา เวชศาสตร์ช่องปาก
 ปีการศึกษา 2553

ลายมือชื่อผู้พิมพ์ กล่าวถึง เหตุแก้ว
 ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
 ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

5276101932 : MAJOR ORAL MEDICINE

KEYWORDS : EPITHELIAL DYSPLASIA / HUMAN PAPILLOMAVIRUS /
IMMUNOHISTOCHEMISTRY / LICHEN PLANUS / SQUAMOUS CELL CARCINOMA

KLAWAJEE KETKAEW : HUMAN PAPILLOMAVIRUS TYPE 16 IN ORAL
LICHEN PLANUS, EPITHELIAL DYSPLASIA AND SQUAMOUS CELL
CARCINOMA IN THAI PATIENTS. ADVISOR : ASST. PROF. PRATANPORN
ARIRACHAKARAN, Ph.D., CO-ADVISOR : ASSOC. KITTIPONG
DHANUTHAI, 101 pp.

Human Papillomavirus (HPV) is an epitheliotropic virus which known to cause benign and malignant tumors of the mucosal epithelium including oral mucosa. HPV-associated oral lesions are mostly low-risk HPV, but high-risk HPV are also associated with malignant lesions. Oral lichen planus (OLP), epithelial dysplasia, oral squamous cell carcinoma (OSCC) and normal mucosa in paraffin sections were evaluated for HPV-16 with HPV-16L1 antibody by immunohistochemistry. HPV-16 was detected in 26.7% (16/60) of OLP, 73.3% (22/30) of epithelial dysplasia, 23.3% (7/30) of OSCC, and 15% (3/20) of normal mucosa, and the detection rate of HPV-16 in epithelial dysplasia was higher than that in OSCC, OLP and normal mucosa being statistically significant. The mean age of the group with normal mucosa was significantly lower than that in other groups. Long-term follow up on patients with presence of HPV in normal mucosa is recommended. This study confirms findings of HPV-16 prevalence in epithelial dysplasia. We concluded that HPV-16 may be involved in the pathogenesis of epithelial dysplasia. HPV-16 in association with other factors may induce pathological changes in the progression of potentially malignant lesions to malignancy.

Department : Oral Medicine

Field of Study : Oral Medicine

Academic Year : 2010

Student's Signature *Klawajee Ketkaew*

Advisor's Signature *Pratanporn Arirachakaran*

Co-advisor's Signature *Kittipong Phanthai*

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี เนื่องจากความช่วยเหลืออย่างดียิ่งจากผู้มีพระคุณหลายท่าน ซึ่งผู้ทำวิทยานิพนธ์ขอขอบพระคุณไว้ ณ โอกาสนี้

ผศ. ทพญ. ดร. ประทานพร อารีราชการัตน์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ได้ให้ความรู้แนวความคิด รวมทั้งคำแนะนำต่างๆที่เป็นประโยชน์ในการทำวิทยานิพนธ์จนสำเร็จเป็นที่เรียบร้อย

รศ. ทพ. กิตติพงษ์ ดนุไทย อาจารย์ที่ปรึกษาร่วมวิทยานิพนธ์ ที่ได้ให้ความรู้และคำแนะนำอันเป็นประโยชน์ในการทำวิทยานิพนธ์ รวมทั้งเอื้อเฟื้อชิ้นเนื้อฝิ่งในพาราฟินที่ใช้ในการทำวิจัย

ศ. นพ. พิเชฐ สัมปทานกุล ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้มอบชิ้นเนื้อมะเร็งปากมดลูกเพื่อเป็นกลุ่มควบคุมผลบวกสำหรับงานวิจัยนี้ รวมถึงเอื้อเฟื้อเครื่องมือและสถานที่ในการทำวิจัย

คุณปรีชา เรืองเวชรชัย ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้ให้คำแนะนำและความช่วยเหลือในการย้อมฮีมูโนฮิสโตเคมี

คุณสมชาย ยอดสง่า และเจ้าหน้าที่ภาควิชาพยาธิวิทยาช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้ให้ความช่วยเหลือในการตัดชิ้นเนื้อฝิ่งในพาราฟิน

คณาจารย์ทุกท่านของภาควิชาเวชศาสตร์ช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้ให้ความรู้ และข้อคิดเห็นต่างๆที่เป็นประโยชน์ต่อการศึกษาวิจัยนี้

อาจารย์ไพพรรณ พิทยานนท์ ที่ช่วยแนะนำด้านสถิติและการวิเคราะห์ข้อมูล
กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ทุกท่านที่ได้ให้คำแนะนำและตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์
อาสาสมัครทุกท่านที่ให้ความร่วมมือให้การเก็บตัวอย่างชิ้นเนื้อ

ท้ายสุดนี้ผู้เขียนวิทยานิพนธ์ขอกราบขอบพระคุณบิดามารดา และเพื่อนๆ ทุกคนในการเป็นกำลังใจ และให้การสนับสนุนในทุกๆ ด้าน ตลอดระยะเวลาการศึกษาในภาควิชาเวชศาสตร์ช่องปาก และการทำวิทยานิพนธ์นี้ ประโยชน์และความรู้ที่บังเกิดจากการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ ผู้วิจัยขอขอบแต่ทุกท่านที่มีส่วนเกี่ยวข้อง

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ฅ
สารบัญภาพ.....	ญ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	3
สมมติฐานของการวิจัย.....	3
ขอบเขตการวิจัย.....	3
ข้อตกลงเบื้องต้น.....	4
ข้อจำกัดของการวิจัย.....	4
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	4
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	5
ตอนที่ 1 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับฮิวแมนแปปปีโลมาไวรัส.....	5
ตอนที่ 2 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับโรคไลเคนแพลนัส.....	12
ตอนที่ 3 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับอีพีทีเลียล ดิสเพลเซีย.....	22
ตอนที่ 4 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับมะเร็งสควอมาส เซลล์ คาร์ซิโนมา.....	28
ตอนที่ 5 ความสัมพันธ์ระหว่างฮิวแมนแปปปีโลมาไวรัสและรอยโรคในช่องปาก..	35
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	39
ประชากรที่ศึกษา.....	39
ปัญหาทางจริยธรรม.....	40
วัสดุ อุปกรณ์ และสารเคมี.....	40
วิธีการศึกษา.....	42
การวิเคราะห์ข้อมูลและสถิติที่ใช้ในการวิจัย.....	45

บทที่ 4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล.....	46
ลักษณะทั่วไปของกลุ่มตัวอย่าง.....	46
ผลการตรวจทางอิมมูโนฮิสโตเคมี.....	52
บทที่ 5 อภิปรายผล สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ.....	62
อภิปรายผลการวิจัย.....	62
สรุปผลการวิจัย.....	65
ข้อเสนอแนะ.....	66
รายการอ้างอิง.....	67
ภาคผนวก.....	79
ภาคผนวก ก.....	80
ภาคผนวก ข.....	86
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....	101



ศูนย์วิทยุทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	การเปรียบเทียบการวินิจฉัยระดับของรอยโรคอีพีทีที่เลี้ยว ดิสแพลเซีย.....	22
2	การเปรียบเทียบจำนวน เพศ และอายุของกลุ่มตัวอย่าง.....	47
3	การเปรียบเทียบชนิดของรอยโรคไลเคนแพลนัสกับผลการพบ HPV-16.....	49
4	การเปรียบเทียบลักษณะทางคลินิกกับระดับความรุนแรงของรอยโรคอีพีทีที่เลี้ยว ดิสแพลเซีย.....	50
5	การเปรียบเทียบระดับความรุนแรงของรอยโรคอีพีทีที่เลี้ยว ดิสแพลเซียกับผลการตรวจพบ HPV-16.....	50
6	การเปรียบเทียบลักษณะทางคลินิกของรอยโรคอีพีทีที่เลี้ยว ดิสแพลเซียกับผลการตรวจพบ HPV-16.....	51
7	การเปรียบเทียบการตรวจพบ HPV-16 ในแต่ละกลุ่มตัวอย่าง.....	52
8	การเปรียบเทียบการติดเชื้อในตำแหน่งต่างๆ ของเซลล์แยกตามกลุ่มตัวอย่าง.....	56

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ลักษณะของ HPV ผ่านทางอิเล็กทรอนิกส์ไมโครสโคป.....	6
2	ลักษณะโครงสร้างจีโนมของ HPV.....	7
3	ขั้นตอนการก่อให้เกิดการติดเชื้อภายในเซลล์เยื่อบุผิวของ HPV.....	9
4	กลไกการกำจัดแอนติเจนจำเพาะในโรคไลเคนแพลนัสในช่องปาก ซึ่งมีความ เกี่ยวเนื่องระหว่างที-ลิมโฟไซต์ชนิด CD4 ⁺ และ CD8 ⁺	19
5	ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปาก.....	20
6	ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของคาร์ซิโนมา อื่น ไซตูลู.....	23
7	ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของอีพิทีเลียล ดิสเพลเซียระดับไม่รุนแรง.....	25
8	ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของอีพิทีเลียล ดิสเพลเซียระดับปานกลาง.....	26
9	ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของอีพิทีเลียล ดิสเพลเซียระดับรุนแรง.....	27
10	รอยโรคมะเร็งในช่องปากที่มีลักษณะเป็นก้อนโต.....	31
11	รอยโรคมะเร็งที่ลิ้นซึ่งมีลักษณะเป็นลิ้นโคเพลเกีย.....	32
12	รอยโรคมะเร็งซึ่งมีลักษณะเป็นอีริโทรเพลเกีย.....	32
13	ลักษณะของมะเร็งสควอแมัส เซลล์ คาร์ซิโนมาระดับดิฟเฟอเรนติเอชันดี.....	33
14	ลักษณะของมะเร็งสควอแมัส เซลล์ คาร์ซิโนมาระดับดิฟเฟอเรนติเอชันปานกลาง	34
15	ลักษณะของมะเร็งสควอแมัส เซลล์ คาร์ซิโนมาระดับดิฟเฟอเรนติเอชันเลว.....	34
16	แผนภูมิรูปภาพแสดงการเปรียบเทียบอายุเฉลี่ยของผู้ป่วยในแต่ละกลุ่มตัวอย่าง	48
17	แผนภูมิรูปภาพแสดงการเปรียบเทียบจำนวนชิ้นเนื้อที่ให้ผลบวก และผลลบต่อ HPV-16 ในแต่ละกลุ่มตัวอย่าง.....	53
18	แผนภูมิรูปภาพแสดงการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยร้อยละของเซลล์ที่ให้ผลบวกต่อ HPV-16.....	54
19	แผนภูมิรูปภาพแสดงการเปรียบเทียบจำนวนตัวอย่างที่มีการติดสีในตำแหน่ง ต่างๆ ของเซลล์ ในแต่ละกลุ่มตัวอย่าง.....	56
20	ชิ้นเนื้อไลเคนแพลนัสในช่องปาก พบ HPV-16L1 ในไซโตพลาสซึมของเซลล์ เยื่อบุผิวที่กำลังขยาย x400.....	57

ภาพที่		หน้า
21	ชิ้นเนื้อไลเคนแพลนัสในช่องปาก แสดงผลลบต่อ HPV-16L1 ที่กำลังขยาย x400	57
22	ชิ้นเนื้ออีพิทีเลียล ดิสเพลเซีย พบ HPV-16L1 ในนิวเคลียสและไซโตพลาสซึม ของเซลล์เยื่อบุผิว ที่กำลังขยาย x400.....	58
23	ชิ้นเนื้ออีพิทีเลียล ดิสเพลเซีย แสดงผลลบต่อ HPV-16L1 ที่กำลังขยาย x400...	58
24	ชิ้นเนื้อมะเร็งสควอมาส เซลล์ คาร์ซิโนมาในช่องปาก พบ HPV-16L1 ใน นิวเคลียสและไซโตพลาสซึมของเซลล์เยื่อบุผิวที่กำลังขยาย x400.....	59
25	ชิ้นเนื้อมะเร็งสควอมาส เซลล์ คาร์ซิโนมาในช่องปาก แสดงผลลบต่อ HPV-16L1 ที่กำลังขยาย x400.....	59
26	ชิ้นเนื้อเยื่อปกติในช่องปาก พบ HPV-16L1 ในนิวเคลียสและไซโตพลาสซึมของ เซลล์เยื่อบุผิวที่กำลังขยาย x400.....	60
27	ชิ้นเนื้อเยื่อปกติในช่องปาก แสดงผลลบต่อ HPV-16L1 ที่กำลังขยาย x400.....	60
28	ชิ้นเนื้อมะเร็งปากมดลูก (กลุ่มควบคุมผลบวก) พบ HPV-16L1 ในนิวเคลียส และไซโตพลาสซึมของเซลล์เยื่อบุผิว ที่กำลังขยาย X400.....	61
29	กลุ่มควบคุมผลลบของชิ้นเนื้อมะเร็งปากมดลูก ที่ใส่ PBS แทนที่แอนติบอดี ปฐมภูมิ.....	61

บทที่ 1

บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ฮิวแมนแพปพิโลมาไวรัส (Human Papillomavirus; HPV) เป็นไวรัสที่ก่อให้เกิดการติดเชื้อในชั้นเบซัลเซลล์ (basal cell layer) ของเยื่อบุผิวชนิดสควอมาตัส (squamous epithelium) เป็นสาเหตุการเกิดโรคของเยื่อเมือกได้หลายอวัยวะทั้งทางเดินปัสสาวะ และทางเดินอาหาร ก่อให้เกิดความรุนแรงได้หลายระดับตั้งแต่หูด (wart) ไปจนถึงมะเร็งปากมดลูก (cervical cancer) ปัจจุบันพบเชื้อ HPV มากกว่า 200 ชนิด [1] ด้วยความหลากหลายในชนิดของเชื้อทำให้เกิดลักษณะของรอยโรคได้แตกต่างกันทั้งที่ผิวหนัง และเยื่อเมือก จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่า HPV เป็นไวรัสชนิดหนึ่งซึ่งมีรายงานว่ามีความสัมพันธ์กับการเกิดรอยโรคในช่องปากหลายชนิด รวมถึงรอยโรคไลเคนแพลนัส (lichen planus) อีพิทีเลียล ดิสเพลเซีย (epithelial dysplasia) และมะเร็งสควอมาตัส เซลล์ คาร์ซิโนมา (squamous cell carcinoma) โดยพบว่ามี HPV อย่างน้อย 16 จีโนไทป์ (genotype) ที่มีความสัมพันธ์กับรอยโรคในช่องปาก [2, 3] ซึ่งส่วนใหญ่เป็น HPV ชนิดความเสี่ยงต่ำ (low-risk HPV) เช่น 6, 11, 12, 32 ที่พบในรอยโรคชนิด benign proliferative epithelial (benign proliferative epithelial lesion) ส่วนในกลุ่มความเสี่ยงสูง (high-risk HPV) เช่น 16, 18, 31, 33, 35 พบรายงานว่ามีความสัมพันธ์กับรอยโรคอีพิทีเลียล ดิสเพลเซีย และมะเร็งสควอมาตัส เซลล์ คาร์ซิโนมาในช่องปาก [4, 5, 6, 7]

โรคไลเคนแพลนัสเป็นโรคที่มีการอักเสบเรื้อรังซึ่งพบได้บ่อยทั้งที่ผิวหนัง และเยื่อเมือกช่องปาก (oral mucosa) [8, 9, 10] ลักษณะทางคลินิกของโรคไลเคนแพลนัสในช่องปากมีหลายรูปแบบ โดยพบลักษณะตุ่มนูนสีขาวหรือเส้นสีขาวหนาขึ้นจากเยื่อเมือกปกติ อาจพบรอยแดงหรือแผลร่วมด้วย เป็นผลให้เกิดอาการแสบร้อนในช่องปาก รับประทานอาหารรสจัดไม่ได้ บางรายที่เป็นรุนแรงอาจพบมีเลือดออกบริเวณรอยโรค และอาจเกิดการติดเชื้อแทรกซ้อน [11] รอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปากที่คงอยู่เป็นระยะเวลานานๆ โดยไม่ได้รับการรักษา มีโอกาสเปลี่ยนเป็นมะเร็งสควอมาตัส เซลล์ คาร์ซิโนมาในช่องปากได้ประมาณร้อยละ 0.4-2.3 [12, 13, 14, 15] องค์การอนามัยโลก (World Health Organization; WHO) ได้จัดรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปากไว้ในกลุ่มที่มีโอกาสเปลี่ยนเป็นมะเร็งในช่องปาก (potentially malignant disorder) [16]

ถึงแม้ปัจจุบันจะยังไม่ทราบสาเหตุที่แน่ชัดของการเกิดรอยโรคไลเคนแพลนัส แต่ระบบภูมิคุ้มกันชนิดเซลล์เป็นสื่อ (cell-mediated immune response) โดยที-ลิมโฟไซต์ (T-lymphocytes) มีบทบาทสำคัญในกลไกการเกิดโรคนี้ [17] การเกิดพยาธิสภาพในรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปากซึ่งเกี่ยวข้องกับกลไกแอนติเจนที่จำเพาะ (antigen-specific mechanism) เชื่อว่าแอนติเจนที่กระตุ้นให้เกิดความผิดปกติของระบบภูมิคุ้มกันในรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปาก ได้แก่ การติดเชื้อไวรัส (viral infection) สารจากเชื้อแบคทีเรีย (bacterial products) เป็นต้น โดยเบซัลเคอราติโนไซต์ (basal keratinocyte) จะส่งผ่านแอนติเจนทางโมเลกุล major histocompatibility complex (MHC) class I ให้กับ $CD8^+$ T cells นอกจากนี้ อินเตอร์ฟีรอนแกมมา (interferon-gamma; $IFN-\gamma$) ที่หลั่งจาก $CD4^+$ T cells จะไปกระตุ้น $CD8^+$ T cells ให้หลั่งไซโตไคน์ (cytokines) ชนิดทูเมอร์เนกโครซิสแฟกเตอร์-แอลฟา (tumor necrosis factor-alpha; $TNF-\alpha$) ซึ่งจะจับกับ $TNF-\alpha$ receptor 1 ($TNF-R1$) บนผิวเบซัลเคอราติโนไซต์ และกระตุ้นให้เกิดการเสื่อมสลายของชั้นเบซัลเซลล์ (basal cell degeneration) [18] อันเป็นลักษณะเฉพาะในรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปาก ซึ่งกระบวนการของระบบภูมิคุ้มกันที่มีการส่งผ่านแอนติเจนทางโมเลกุล MHC class I นี้ พบว่าเป็นลักษณะการตอบสนองของทางภูมิคุ้มกันของร่างกายเมื่อมีการติดเชื้อไวรัสได้เช่นกัน

อย่างไรก็ตามที่ผ่านมากการศึกษาถึงความสัมพันธ์ของการติดเชื้อ HPV กับรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปากยังไม่มีข้อสรุปที่แน่ชัด เนื่องด้วยความหลากหลายในชนิดของเชื้อ HPV ที่พบ ความชุกในแต่ละพื้นที่ ประชากรที่ศึกษา ความแตกต่างของวิธีที่ใช้ในการตรวจหา และรอยโรคชนิดต่างๆ ในช่องปากที่พบการติดเชื้อ จึงเป็นเรื่องน่าสนใจที่จะทำการศึกษาความสัมพันธ์ของเชื้อ HPV ในรอยโรคในช่องปาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งรอยโรคซึ่งพบได้บ่อย และสามารถเปลี่ยนแปลงเป็นมะเร็ง และรอยโรคมะเร็งซึ่งมีความสัมพันธ์กับเชื้อ HPV ในกลุ่มความเสี่ยงสูง ผู้วิจัยจึงสนใจศึกษาเปรียบเทียบความสัมพันธ์ของการติดเชื้อฮิวแมนแพปพิโลมาไวรัส ชนิดที่ 16 (HPV-16) ในรอยโรคไลเคนแพลนัส อีพิทีเลียล ดิสเพลเซีย และมะเร็งสควอเมัส เซลล์ คาร์ซิโนมาในช่องปาก โดยวิธีอิมมูโนฮิสโตเคมี (immunohistochemistry) เพื่อตรวจหาแอนติเจนของเชื้อไวรัสในเนื้อเยื่อ ซึ่งการตรวจพบโปรตีนที่เป็นส่วนประกอบของเชื้อไวรัสแสดงถึงความจำเพาะ (specificity) ในการมีอยู่และการแสดงออกของไวรัสนั้นๆ ในรอยโรคได้มาก ข้อมูลที่ได้จากการวิจัยนี้จึงมีประโยชน์ในการศึกษาถึงสาเหตุการเกิดโรค และปัจจัยที่มีความสัมพันธ์กับโรคไลเคนแพลนัสในความแตกต่างระหว่างเชื้อชาติ ซึ่งอาจนำไปสู่การพัฒนาวิธีการรักษารอยโรคนี้ต่อไปในอนาคต

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. ตรวจสอบหาชีวแมนเปปปีโดมาไวรัส ชนิดที่ 16 ในรอยโรคไลเคนแพลนัส อีพิทีเลียล ดิสเพลเซีย และมะเร็งสควอมาส เซลล์ คาร์ซิโนมาในช่องปากของผู้ป่วยไทย โดยใช้วิธีอิมมูโนฮิสโตเคมี
2. เปรียบเทียบความชุกของชีวแมนเปปปีโดมาไวรัส ชนิดที่ 16 ในรอยโรคไลเคนแพลนัส อีพิทีเลียล ดิสเพลเซีย และมะเร็งสควอมาส เซลล์ คาร์ซิโนมาในช่องปากของผู้ป่วยไทย

สมมติฐานของการวิจัย

สมมติฐานหลัก

มีชีวแมนเปปปีโดมาไวรัส ชนิดที่ 16 ในรอยโรคไลเคนแพลนัส อีพิทีเลียล ดิสเพลเซีย และมะเร็งสควอมาส เซลล์ คาร์ซิโนมาในช่องปากของผู้ป่วยไทย

สมมติฐานรอง

ความชุกของชีวแมนเปปปีโดมาไวรัส ชนิดที่ 16 ในรอยโรคไลเคนแพลนัสมีความแตกต่างจากรอยโรคอีพิทีเลียล ดิสเพลเซีย และมะเร็งสควอมาส เซลล์ คาร์ซิโนมาในช่องปากของผู้ป่วยไทย

ขอบเขตการวิจัย

ตรวจสอบหาชีวแมนเปปปีโดมาไวรัส ชนิดที่ 16 ในรอยโรคไลเคนแพลนัส เปรียบเทียบกับรอยโรคอีพิทีเลียล ดิสเพลเซีย และมะเร็งสควอมาส เซลล์ คาร์ซิโนมาในช่องปาก ด้วยวิธีอิมมูโนฮิสโตเคมี จากชิ้นเนื้อที่ได้ส่งตรวจทางจุลพยาธิวิทยาที่ภาควิชาทันตพยาธิวิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ข้อตกลงเบื้องต้น

ชั้นเนื้อฝังในพาราฟินที่ได้รับการคัดเลือกเข้าการศึกษาี้ ประกอบด้วยไลเคน แพลนัส อีพิทีเลียล ดิสเพลเซีย และมะเร็งสควอมัส เซลล์ คาร์ซิโนมาในช่องปาก ซึ่งได้รับการวินิจฉัยทางจุลพยาธิวิทยาจากภาควิชาทันตพยาธิวิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2543 – 2553

ข้อจำกัดของการวิจัย

การศึกษานี้ได้ทำในกลุ่มตัวอย่างขนาดเล็ก เนื่องจากมีข้อจำกัดในการหาจำนวนตัวอย่าง และระยะเวลาในการทำวิจัย จึงเลือกการตรวจหาฮิวแมนแปปิโลมาไวรัส ชนิดที่ 16 โดยใช้วิธีอิมมูโนฮิสโตเคมี ซึ่งเป็นวิธีที่มีความแม่นยำสูง อย่างไรก็ตามผลจากงานวิจัยนี้สามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการศึกษาความสัมพันธ์ของรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปากกับการติดเชื้อฮิวแมนแปปิโลมาไวรัส ชนิดที่ 16 ในคนไทยต่อไป

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบความสัมพันธ์ระหว่างฮิวแมนแปปิโลมาไวรัส ชนิดที่ 16 กับรอยโรคไลเคนแพลนัส อีพิทีเลียล ดิสเพลเซีย และมะเร็งสควอมัส เซลล์ คาร์ซิโนมาในช่องปากของผู้ป่วยไทย
2. เป็นข้อมูลพื้นฐานที่มีประโยชน์ในการศึกษาถึงสาเหตุ และปัจจัยที่ก่อให้เกิดโรคไลเคนแพลนัส รวมถึงผลต่อการเกิดความเปลี่ยนแปลงไปเป็นรอยโรคที่มีความรุนแรงขึ้น
3. เป็นแนวทางในการรักษาผู้ป่วยให้เหมาะสมต่อไปในอนาคต

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

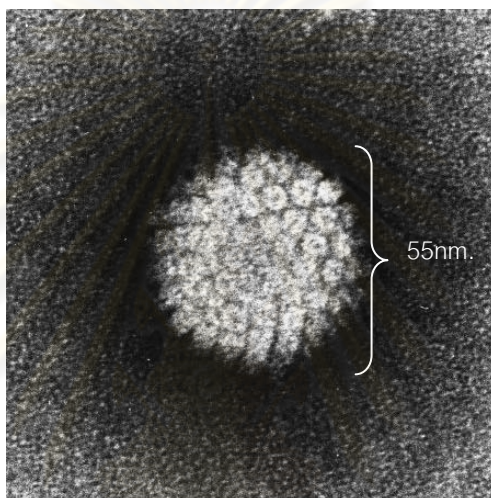
ตอนที่ 1 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับฮิวแมนแพปพิโลมาไวรัส

ฮิวแมนแพปพิโลมาไวรัส (Human Papillomavirus; HPV) เป็นแพปพิโลมาไวรัสที่มีลักษณะเฉพาะ คือ เป็นไวรัสที่ก่อให้เกิดการติดเชื้อของเซลล์เยื่อบุผิว (epitheliotropic virus) ได้ทั้งที่ผิวหนัง และเยื่อเมือกของมนุษย์ สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดมะเร็งได้ในหลายอวัยวะในเพศหญิง เช่น ปากมดลูก (cervix) ช่องคลอด (vagina) และทวารหนัก (anus) ส่วนในเพศชายสามารถก่อให้เกิดมะเร็งที่ทวารหนัก และองคชาติ (penis) มีหลักฐานในปัจจุบันที่พบว่ามี HPV มากกว่า 200 ชนิด และที่ทราบลำดับพันธุกรรมอย่างสมบูรณ์มีประมาณ 100 ชนิด [1] บางชนิดก่อให้เกิดหูดแต่ในกลุ่มนี้มักไม่สามารถก่อให้เกิดมะเร็งได้ ส่วนชนิดที่ก่อให้เกิดมะเร็งมักไม่เป็นสาเหตุของการเกิดหูด และอีกหลายชนิดไม่ทำให้เกิดอาการใดๆ ประชากรส่วนใหญ่ที่มีการติดเชื้อ HPV จึงมักไม่ทราบว่าติดเชื้อไวรัสนี้แฝงอยู่ในร่างกาย มี HPV ประมาณ 30-40 ชนิด ที่พบว่ามีลักษณะเฉพาะที่เกิดจากการติดต่อทางเพศสัมพันธ์ และทำให้เกิดการติดเชื้อบริเวณทางเดินปัสสาวะ และก่อให้เกิดหูดที่อวัยวะเพศ การที่มีการติดเชื้อชนิดความเสี่ยงสูงเป็นเวลานานอาจเกิดการเปลี่ยนแปลงกลายเป็นรอยโรคที่มีโอกาสเปลี่ยนเป็นมะเร็ง และกลายเป็นมะเร็งต่อไปได้ HPV จึงถือเป็นสาเหตุหลักของมะเร็งปากมดลูกในผู้ป่วยส่วนใหญ่ [19]

โครงสร้างของฮิวแมนแพปพิโลมาไวรัส

HPV จัดอยู่ใน Papovaviridae family และ Papillomavirus genera เป็นไวรัสชนิดไม่มีเปลือกหุ้ม (non-enveloped) มีสารพันธุกรรมลักษณะสายคู่ต่อกันเป็นวง (circular double-stranded DNA) มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 52-55 นาโนเมตร และมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 5×10^6 ดาลตัน (Daltons) ประกอบด้วยนิวคลีโอไทด์ (nucleotide) ประมาณ 7,900 คู่เบส (basepairs) [20]

โครงสร้างอนุภาคของไวรัส (viral particle; virion) ประกอบด้วยส่วนแกนกลางซึ่งบรรจุสารพันธุกรรม (deoxyribonucleic acid; DNA) ของไวรัส และถูกล้อมรอบด้วยชั้นโปรตีน ซึ่งเรียกว่า แคปซิด (capsid) โดยส่วนแคปซิดของไวรัสประกอบด้วย 72 หน่วยย่อยที่เรียกว่า แคปโซเมอร์ (capsomer) ส่วนนี้จะเรียงตัวลักษณะสมมาตร รูปแบบ 20 เหลี่ยม (icosahedral) เกิดเป็นลักษณะเฉพาะของไวรัสชนิดนั้นๆ และเมื่อมองผ่านกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (electron microscope) ทำให้เห็นเป็นรูปทรงกลม (spherical shape) [20] ภาพที่ 1



ภาพที่ 1 ลักษณะของ HPV ผ่านทางอิเล็กตรอนไมโครสโคป (electronmicroscopic pattern) [20]

จีโนม (genome) ของ HPV ประกอบด้วย 2 ส่วนหลัก ซึ่งในแต่ละส่วนมีองค์ประกอบที่เรียกว่า open reading frames (ORFs) โดยใช้เป็นตัวกำหนดรหัสโปรตีนของไวรัส (ภาพที่ 2) ได้แก่

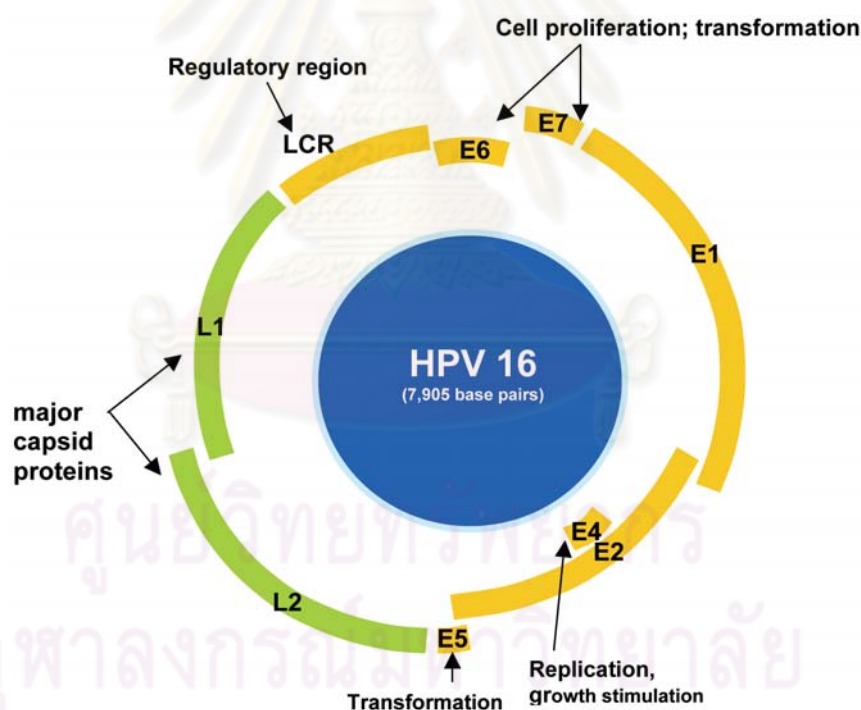
1. Early (E) region

คิดเป็นร้อยละ 45 ของจีโนมของไวรัส ประกอบด้วย 8 ORFs ซึ่งทำหน้าที่เป็นตัวกำหนดรหัสให้กับโปรตีนซึ่งสัมพันธ์กับกระบวนการเรพลีเคชัน (replication) ของไวรัส แบ่งเป็นส่วนต่างๆ คือ E1, E2, E4, E5, E6, E7

2. Late (L) region

คิดเป็นร้อยละ 40 ของจีโนมของไวรัส ประกอบด้วย 2 ORFs ขนาดใหญ่ ซึ่งทำหน้าที่เป็นตัวกำหนดรหัสให้กับโครงสร้างโปรตีนของแคปซิดของไวรัส แบ่งเป็น 2 ส่วน คือ L1 (major capsid protein) และ L2 (minor capsid protein)

นอกจากนี้ ระหว่างปลาย 5' ของ E-region และปลาย 3' ของ L-region มี DNA ช่วงหนึ่งซึ่งมีปริมาณประมาณร้อยละ 15 ของจีโนมของไวรัส เป็นส่วนที่ไม่ได้ทำหน้าที่กำหนดรหัสให้กับการสร้างโปรตีน แต่บรรจุส่วนประกอบที่สำคัญในการควบคุมการทำงานของไวรัส ส่วนนี้มีชื่อเรียกหลายชื่อ ได้แก่ long control region (LCR), non-coding region (NCR) และ upstream regulatory region (URR) [21, 22]

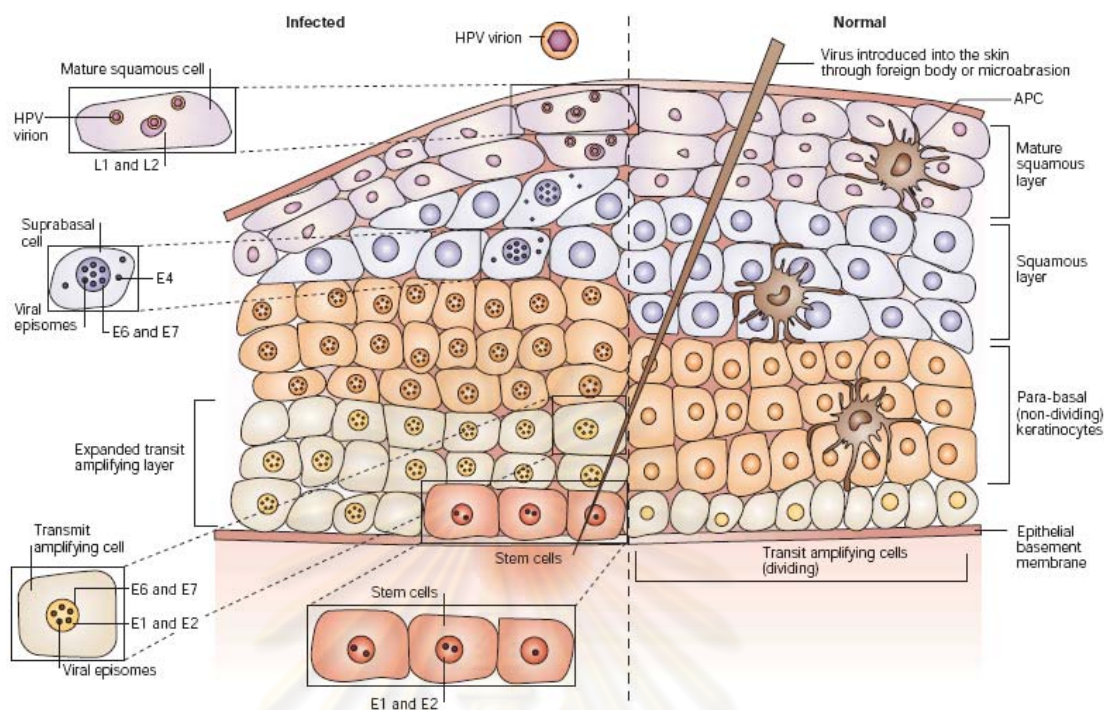


ภาพที่ 2 ลักษณะโครงสร้างจีโนมของ HPV [23]

การก่อให้เกิดการติดเชื้อของฮิวแมนแพปพิโลมาไวรัส

HPV มีการจำลอง DNA ของตัวเองเพื่อเพิ่มปริมาณ ซึ่งเรียกว่า เรพลีเคชัน ในเซลล์เยื่อบุผิว โดยอาศัยการเปลี่ยนแปลงเพื่อไปทำหน้าที่เฉพาะอย่างซึ่งเรียกว่า ดิฟเฟอเรนติเอชัน (differentiation) ของเซลล์เยื่อบุผิว เพื่อควบคุมการเรพลีเคชันของไวรัสเอง (ภาพที่ 3) อนุภาคของไวรัสจะเข้าไปในเซลล์เยื่อบุผิวโดยผ่านทางรอยถลอก หรือรอยแผล และเข้าไปทำให้เกิดการติดเชื้อในเซลล์เยื่อบุผิวต้นกำเนิด (epithelial stem cell) ซึ่งอยู่บริเวณชั้นเบซัลเซลล์ เมื่อไวรัสเข้าไปในเซลล์เยื่อบุผิวจะทำการจำลอง DNA ของตัวเอง โดยใช้ยีนซึ่งกำหนดรหัสในบางส่วนที่ไม่ได้เป็นโครงสร้างของไวรัส (non-structural protein) นั่นคือ ยีน E1 และ E2 และอาศัยกระบวนการเรพลีเคชัน DNA ของเซลล์โฮสต์ การแสดงออกของยีน E6 และ E7 จะเกิดขึ้นในช่วงท้ายของวัฏจักรเซลล์ (cell cycle) และกระบวนการดิฟเฟอเรนติเอชัน ซึ่งโดยปกติจะมีการเคลื่อนตัวของเซลล์เยื่อบุผิวจากชั้นเยื่อฐานขึ้นไปเป็นเคอราติโนไซต์ที่เจริญเต็มที่แล้ว ในช่วงท้ายของวัฏจักรเซลล์นี้ ทำให้พีไซมของไวรัส (viral episome) เกิดการเรพลีเคชันได้ดีกว่าโดยอาศัยกระบวนการ DNA เรพลีเคชันของเซลล์โฮสต์ในชั้นเหนือเบซัลเซลล์ และเกิดการผลิตเยื่อบุผิวหนาตัวขึ้นเป็นลักษณะของหูด ซึ่งเป็นลักษณะหนึ่งของการติดเชื้อ HPV บางชนิด เมื่อการดิฟเฟอเรนติเอชันและเรพลีเคชันของเซลล์เยื่อบุผิวดำเนินไปถึงการสิ้นสุดได้เป็นเคอราติโนไซต์เจริญเต็มที่แล้วนั้น โปรตีน L1/L2 ซึ่งเป็นส่วนของแคปซิดโปรตีน จะรวมเข้าไปอยู่ในนิวเคลียส อนุภาคของไวรัสที่สมบูรณ์แล้วจะถูกปล่อยออกมาจากชั้นเยื่อบุผิวภายในเซลล์เยื่อบุผิวชั้นบน

การติดเชื้อ HPV กลุ่มความเสี่ยงสูง บางครั้งเป็นผลจากการสอดแทรกอีพีไซมของไวรัสเข้าไปใน DNA ของเซลล์โฮสต์ โดยการสอดแทรกนี้ไปรบกวนส่วนยีน E2 ทำให้เกิดการแสดงออกที่มากเกินไปของโปรตีน E6/E7 เป็นผลมาจากการที่ยีน E2 ขาดการควบคุมกระบวนการทรานสคริปชัน (transcription) ของยีน E6/E7 จากผลดังกล่าวทำให้เซลล์ที่มีการติดเชื้อ HPV ซึ่งมีการสอดแทรกโดย DNA ของ HPV มีอายุยาวนานขึ้น และคงความสามารถในการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว และมีแนวโน้มที่จะเจริญเติบโตอย่างถาวรโดยมีการแสดงออกของโปรตีน E6/E7 อยู่ตลอด เช่นที่พบในเซลล์ที่เกิดดิสเพลเซียของเยื่อบุผิวปากมดลูกซึ่งเป็นรอยโรคที่มีโอกาสเปลี่ยนเป็นมะเร็งปากมดลูกได้ [24]



ภาพที่ 3 ขั้นตอนการก่อให้เกิดการติดเชื้อภายในเซลล์เยื่อผิวของ HPV [24]

การจำแนกชนิดของชีวแมนเปปปีโลมาไวรัส

การแยกชนิดของ HPV มักกำหนดเมื่อทราบลำดับพันธุกรรมของไวรัสชนิดนั้นๆ อย่างสมบูรณ์ โดยลำดับพันธุกรรมในส่วนยีน L1 จะต้องมีความแตกต่างกันอย่างน้อยร้อยละ 10 จึงจะถือว่าเป็น HPV คนละชนิด และมีการแบ่งเป็นชนิดย่อย (subtype) โดยลำดับพันธุกรรมในส่วนยีน L1 จะมีความแตกต่างกันประมาณร้อยละ 2-10 สำหรับการเรียกชนิดของ HPV จะใช้ตัวเลขในการบอกชนิด

HPV สามารถแบ่งชนิดตามความสามารถในการก่อให้เกิดมะเร็ง โดยจัดเป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆ คือ ชนิดความเสี่ยงต่ำ ได้แก่ HPV ชนิดที่ 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72, 81 เป็นต้น และชนิดความเสี่ยงสูง ได้แก่ HPV ชนิดที่ 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73, 82 เป็นต้น นอกจากนี้ ยังมีชนิดที่มีโอกาสมีความเสี่ยงสูง (potentially high-risk) ได้แก่ HPV ชนิดที่ 26, 53, 66 [25]

การก่อให้เกิดมะเร็งของฮิวแมนแพปพิโลมาไวรัส

HPV ก่อให้เกิดความผิดปกติของเซลล์ โดยการสอดแทรกสารพันธุกรรมเข้าไปในโครโมโซม (chromosome) ของเซลล์โฮสต์ โดยการแสดงออกของยีน E6 และ E7 ซึ่งเพิ่มขึ้นมากในเซลล์ และผลผลิตที่ได้จากยีน 2 ตัวนี้ ได้แก่ ออนโคโปรตีน (oncoproteins) E6 และ E7 ซึ่งจะไปจับและยับยั้งการทำงานของ p53 และ pRb ซึ่งเป็นยีนต้านมะเร็ง (tumor suppressor genes) HPV ในกลุ่มความเสี่ยงสูง โดยเฉพาะอย่างยิ่ง HPV-16 และ HPV-18 จะมีการแสดงออกของยีน E6 และ E7 ได้มาก และจำเป็นต้องอาศัยการทำงานร่วมกันระหว่างยีน E6 และ E7 จึงจะเกิดการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ได้อย่างสมบูรณ์

ยีน E6 และ E7 กระตุ้นให้เกิดกระบวนการโปรลิเฟอเรชัน (proliferation) ของเซลล์มากขึ้น โดย E7 จะไปจับกับยีน pRb ในช่วง S phase ทำให้เกิดการเจริญเติบโตของเซลล์เพิ่มขึ้นเรื่อยๆ โดยไม่หยุด ส่วน E6 จะเข้าไปจับกับยีน p53 ซึ่งภาวะปกติมีหน้าที่ยับยั้งการเจริญของเซลล์ที่มี DNA บกพร่อง หรือถูกทำลาย เมื่อถูกทำให้เสียหายโดยยีน E6 จึงเกิดการยับยั้งการตายของเซลล์ที่ผิดปกติ [23]

การตอบสนองทางระบบภูมิคุ้มกันต่อฮิวแมนแพปพิโลมาไวรัส

การตอบสนองเมื่อเกิดการติดเชื้อ HPV ส่วนใหญ่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะ (specific immune response) และพบว่าระบบภูมิคุ้มกันโดยกำเนิด (natural immune response) หลังจากเกิดการติดเชื้อ HPV ค่อนข้างจะมีประสิทธิภาพน้อยกว่าการตอบสนองต่อการติดเชื้อไวรัสอื่นๆ [26] เนื่องจาก

- HPV เป็นไวรัสที่ไม่มีสารพันธุกรรมสายคู่ของกรดไรโบนิวคลีอิก (double-stranded RNA) ทำหน้าที่เป็นตัวกลางในการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันโดยกำเนิด ซึ่งส่วนใหญ่พบในไวรัสชนิดอื่นๆ
- โปรตีนส่วนที่ไม่ใช่โครงสร้างของ HPV มีการแสดงออกในระดับต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับโปรตีนที่กระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันจากไวรัสชนิดอื่นๆ
- HPV ก่อให้เกิดการติดเชื้อเฉพาะในเซลล์เยื่อบุผิว ซึ่งเป็นบริเวณที่มีการต่อต้านการอักเสบอยู่มาก คือ เป็นบริเวณที่มีอินเตอร์ลิวคิน-10 (interleukin-10; IL-10) และ

ทรานสฟอร์มมิง โกรท แฟกเตอร์-เบต้า (transforming growth factor- β) อยู่อย่างหนาแน่น

- การติดเชื้อ HPV กระตุ้นให้เกิดการเพิ่มจำนวนเซลล์มากกว่าการทำลายเซลล์ จึงไม่เป็นสัญญาณอันตรายสำหรับร่างกาย หรือไม่มีการปลดปล่อยแอนติเจนเพื่อกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันโดยกำเนิด

HPV มีกระบวนการพิเศษเพื่อหลีกเลี่ยงการเหนี่ยวนำให้เกิดการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกัน และหลบหลีกระบบภูมิคุ้มกันที่มีประสิทธิภาพ [27] โดย

- โปรตีน E6 ยับยั้งปฏิกริยาระหว่างเซลล์เยื่อบุผิวและเซลล์เดนไดรติก (epithelial-cell-dendritic-cell-interaction) [28] ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าทำให้จำนวนของเซลล์เดนไดรติกลดลง โดยสังเกตจากการติดเชื้อ HPV ในเซลล์เยื่อบุผิวบริเวณปากมดลูก [29]
- โปรตีน E6 และ E7 ยับยั้งการผลิต และการตอบสนองของเซลล์ที่มีการติดเชื้อ HPV ต่ออินเตอร์เฟอรอน ชนิดที่ 1 (type 1 interferons; IFNs) [30]
- โปรตีน E5 ยับยั้ง pH-dependent processing of antigenic peptides [31]

แอนติบอดีที่จำเพาะกับ HPV-16L1 ซึ่งเป็นแคปซิดโปรตีนของไวรัสต้องใช้เวลาในการพัฒนานาน 4 เดือน ถึง 5 ปี หลังจากเกิดการติดเชื้อครั้งแรก [32] ส่วนแอนติบอดีที่จำเพาะกับโปรตีน E7 จะเกิดขึ้นเฉพาะในช่วงเริ่มต้นของการลุกลามเป็นมะเร็งแล้วเท่านั้น [33] แม้ว่าจะมีการแสดงออกของโปรตีน E7 ในช่วงที่มีการติดเชื้อแบบเฉียบพลัน และในช่วงระหว่าง 10-20 ปีในการเปลี่ยนแปลงจากการติดเชื้อแบบเรื้อรังมาเป็นมะเร็ง

ระบบภูมิคุ้มกันชนิดเซลล์เป็นสื่อที่ตอบสนองต่อโปรตีนของ HPV หลังจากการติดเชื้อครั้งแรกยังไม่สามารถอธิบายได้ชัดเจน แต่มีการศึกษาพบว่าในรอยโรคที่เกิดจาก HPV ซึ่งมีความรุนแรงของโรคลดลงสัมพันธ์กับการพบที-ลิมโฟไซต์ที่หลั่งออกมาจำนวนมากขึ้น [34, 35] ซึ่งน่าจะเป็นไปได้ว่าระบบภูมิคุ้มกันชนิดเซลล์เป็นสื่อที่มีการตอบสนองต่อโปรตีนที่ไม่ใช่ส่วนโครงสร้างของไวรัสบางส่วน [36, 37] และมีการศึกษาหนึ่งทีระบุว่าพบภาวะภูมิแพ้แบบช้า (delayed-type hypersensitivity) ต่อโปรตีน E7 สัมพันธ์กับลักษณะทางคลินิกของรอยโรคที่ดีขึ้น [38]

ตอนที่ 2 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับโรคไลเคนแพลนัส

ไลเคนแพลนัสเป็นโรคที่มีการอักเสบเรื้อรังของเยื่อเมือกในช่องปากและผิวหนัง (chronic mucocutaneous disease) พยาธิสภาพของโรคมีต้นกำเนิดจากเซลล์สควอมา (squamous cell origin) [8, 9, 10] ปัจจุบันยังไม่ทราบสาเหตุที่แน่ชัดของการเกิดโรค แต่เชื่อว่ามี ความเกี่ยวข้องกับความผิดปกติของระบบภูมิคุ้มกันชนิดเซลล์เป็นสื่อ รอยโรคไลเคนแพลนัสใน ช่องปากส่งผลต่อการดำเนินชีวิตของผู้ป่วย ทำให้รับประทานอาหารรสจัดหรือเผ็ดไม่ได้ บางรายที่เป็นรุนแรงอาจพบมีเลือดออกบริเวณรอยโรค มีอาการเจ็บปวดมากจนบางครั้งไม่สามารถ รับประทานอาหารได้ ส่งผลให้สุขภาพอ่อนแอลง และอาจเกิดการติดเชื้อแทรกซ้อน [11] รอยโรคนี้ มีความสำคัญเนื่องจากมีโอกาสเปลี่ยนเป็นมะเร็งสควอมาเซลล์ คาร์ซิโนมาในช่องปากได้ ประมาณร้อยละ 0.4-2.3 [12, 13, 14, 15] องค์การอนามัยโลกได้จัดรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่อง ปากไว้ในกลุ่มรอยโรคที่มีโอกาสเปลี่ยนเป็นมะเร็งในช่องปาก [16]

ระบาดวิทยา (Epidemiology)

จากรายงานอุบัติการณ์การเกิดรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปาก พบรอยโรค นี้ได้ร้อยละ 40 ที่ผิวหนังร่วมกับในช่องปาก ร้อยละ 35 เป็นที่ผิวหนังอย่างเดียว และร้อยละ 25 พบว่ามีรอยโรคเฉพาะที่เยื่อเมือกช่องปาก [39] อุบัติการณ์การเกิดโรคไลเคนแพลนัสในช่องปากมี ได้ตั้งแต่ร้อยละ 0.1-4 ขึ้นอยู่กับกลุ่มประชากรที่ศึกษา [40, 41] รอยโรคนี้สามารถพบได้ในทุกช่วง อายุ อัตราส่วนการเกิดโรคในเพศหญิงมากกว่าเพศชาย รายงานจากต่างประเทศของผู้ป่วยไลเคน แพลนัสส่วนใหญ่อยู่ในช่วงวัยกลางคนถึงวัยสูงอายุ ประมาณ 50-70 ปี และพบในเพศหญิงต่อ เพศชายเป็น 2:1 [12, 13, 42] ผู้ป่วยที่มารับการรักษาที่คลินิกเวชศาสตร์ช่องปาก จุฬาลงกรณ์ มหาวิทยาลัย ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2529-2540 พบว่าส่วนมากอยู่ในช่วงอายุ 40-60 ปี โดยมีอัตราส่วน การเกิดโรคในเพศหญิงต่อเพศชายเป็น 4 : 1 [11]

ลักษณะทางคลินิก

ลักษณะทางคลินิกของรอยโรคที่ผิวหนัง จะพบลักษณะตุ่มตัน (papule) ขนาด ประมาณ 2-4 มิลลิเมตร ด้านบนมีลักษณะแบน รูปร่างหลายเหลี่ยม มีสีแดงถึงม่วง และอาจพบ ลักษณะลายเส้นสีขาวคล้ายร่างแห ที่เรียกว่า เส้นตาข่ายวิกแฮม (wickham's striae) ซึ่งเกิดจาก

ตุ่มตันเล็กๆ จำนวนมากรวมตัวกัน [39] ผู้ป่วยบางรายจะมีอาการคันร่วมด้วย สามารถพบรอยโรคได้ทุกตำแหน่งของร่างกาย ตำแหน่งที่พบได้บ่อย คือ ที่บริเวณข้อพับแขนและหน้าแข้ง ซึ่งถ้ามีการรบกวนบริเวณรอยโรค เช่น ถูกเกาจะทำให้ผื่นเรียงตัวกันเป็นแนวยาวได้ เรียกว่า ปรากฏการณ์เคอบเนอร์ (koebner phenomenon) [11]

ลักษณะทางคลินิกของโรคไลเคนแพลนัสในช่องปากมีหลายรูปแบบ โดยพบลักษณะตุ่มนูนสีขาหรือเส้นสีขาหนาขึ้นจากเยื่อเมือกปกติ อาจพบรอยแดงหรือแผลร่วมด้วยจากการทบทวนผลการศึกษาที่ผ่านมาโดย Lodi และคณะในปี พ.ศ. 2548 [18] ได้สรุปรูปแบบของรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปากออกเป็น 5 ชนิด ได้แก่

1. ชนิดร่างแห (reticular) ซึ่งเป็นรูปแบบที่พบได้บ่อย มีลักษณะเป็นลายเส้นสีขาเรียงตัวคล้ายตาข่าย ร่างแห หรือลายลูกไม้ บริเวณที่พบบ่อยที่สุด คือ เยื่อบุกระพุ้งแก้ม โดยมักจะพบทั้งสองข้าง นอกจากนี้อาจพบได้ที่ลิ้น เหงือก และริมฝีปาก รูปแบบนี้ผู้ป่วยมักไม่มีอาการ
2. ชนิดตุ่มตัน (papular) มีลักษณะเป็นตุ่มตันเล็กๆ สีขาหลายตุ่มกระจายตัวทั่วกระพุ้งแก้ม
3. ชนิดฝ้าขาว (plaque) มีลักษณะเป็นแผ่นสีขา นูน เรียบ คล้ายผิวโคเพลเกีย (leukoplakia) มักพบบริเวณด้านบนของลิ้นและเยื่อบุกระพุ้งแก้ม รูปแบบนี้มักพบได้บ่อยในผู้ป่วยที่สูบบุหรี่
4. ชนิดผ่อลีบ (atrophic) ซึ่งบางรายงานอาจเรียกไลเคนแพลนัสชนิดนี้ว่า ชนิดผ่อลีบ-รอยถลอก (atrophic-erosive) ลักษณะมีการอักเสบของเยื่อบุผิวเป็นรอยแดงและบาง ซึ่งมักพบลายเส้นสีขารอบๆ รอยโรคร่วมด้วย พบได้บ่อยในบริเวณเหงือกยึด (attached gingiva) รูปแบบนี้ทำให้มีอาการปวดแสบปวดร้อนในช่องปากได้โดยเฉพาะเมื่อสัมผัสกับอาหารแข็ง หรืออาหารรสจัด
5. ชนิดแผลถลอก (ulcerative) มีลักษณะเป็นแผลปกคลุมด้วยแผ่นเยื่อเมือกเทียม (pseudomembrane) บริเวณขอบๆ ของรอยโรคมักพบลายเส้นสีขาพร้อมด้วย รูปแบบนี้อาจเกิดขึ้นจากรูปแบบผ่อลีบแล้วเยื่อบุผิวที่บางหลุดลอกไป ทำให้เกิดรอยถลอกและเกิดแผลขึ้น มีเลือดออกเมื่อเช็ดบริเวณรอยโรค ซึ่งพบได้บ่อยและก่อให้เกิดอาการได้ตั้งแต่ปวดแสบปวดร้อนเพียงเล็กน้อยจนถึงเจ็บปวดมาก

สาเหตุของการเกิดโรค

สาเหตุของการเกิดโรคไลเคนแพลนัสยังไม่ทราบแน่ชัด ในปัจจุบันเชื่อว่าที-ลิมโฟไซต์มีบทบาทสำคัญในการเกิดพยาธิสภาพของโรค โดยที่มีความผิดปกติเกี่ยวกับกลไกของระบบภูมิคุ้มกันชนิดเซลล์เป็นสื่อ และได้มีการรายงานถึงปัจจัยที่อาจมีความสัมพันธ์กับรอยโรคไลเคนแพลนัส ไว้ดังนี้

1. ปัจจัยด้านพันธุกรรม

ไลเคนแพลนัสที่เกิดจากกรรมพันธุ์ (familial lichen planus) พบได้น้อยและยังไม่มีการศึกษาแสดงความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญที่เกี่ยวกับ HLA antigen [43]

2. วัสดุทางทันตกรรม

วัสดุทางทันตกรรม เช่น อะมัลกัม (amalgam) ครอบฟันโลหะ ฟันปลอมชนิดถอดได้ซึ่งสัมผัสกับรอยโรคที่คล้ายไลเคนแพลนัสในช่องปากที่เรียกว่า ไลเคนอยด์ (oral lichenoid contact lesions; OLCL) ปฏิกริยาที่เกิดขึ้นนี้อาจเป็นผลจากการแพ้หรือปฏิกริยาจากสารประกอบของวัสดุทางทันตกรรมที่ปลดปล่อยออกมา หรือเป็นผลจากการสะสมของคราบจุลินทรีย์บนผิวของวัสดุอุด ซึ่งผู้ป่วยจะให้ประวัติการเกิดรอยโรคภายหลังการบูรณะฟัน และในผู้ป่วยบางรายเมื่อรีหรือวัสดุอุดอะมัลกัมออกแล้วอุดใหม่ด้วยวัสดุอุดที่เหมาะสม พบว่ารอยโรคจะหายไปหรือมีลักษณะดีขึ้น [44, 45, 46] อย่างไรก็ตาม มีรายงานว่าวัสดุอุดชนิดคอมโพสิท (composite) ที่ใช้อุดแทนอะมัลกัมสามารถทำให้เกิดรอยโรคไลเคนอยด์ได้เช่นกัน [45]

3. ยา

การใช้ยาในการรักษาโรคทางระบบต่างๆ ของร่างกายอาจกระตุ้นให้เกิดรอยโรคไลเคนอยด์ได้ (oral lichenoid drug reaction-OLDR) โดยยาที่มีรายงานว่าสาเหตุได้บ่อย 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, phenothiazine, carbamazepine, allopurinol, methyl dopa, lorazepam, ketoconazole,

streptomycin, levopromazine, flunarizine, dapsone เป็นต้น ซึ่งเมื่อผู้ป่วยหยุดใช้ยาที่ก่อให้เกิดรอยโรคไลเคนอยด์แล้วรอยโรคจะมีลักษณะดีขึ้นหรือหายไป [10, 11, 40]

4. จุลชีพที่ก่อให้เกิดการติดเชื้อ

มีรายงานเกี่ยวกับความสัมพันธ์ของไลเคนแพลนัสในช่องปากกับเชื้อแบคทีเรีย เช่น gram-negative anaerobic bacillus และ spirochetes แต่ความสัมพันธ์ยังไม่ได้รับการยืนยันจากการศึกษาอื่น [10, 47] นอกจากนี้ มีหลายการศึกษาที่แสดงให้เห็นว่ามีการเพิ่มความชุกของเชื้อราแคนดิดา (candida) ในรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปากตั้งแต่อายุ 2 - 50 [48, 49] อีกทั้งพบว่า เมื่อได้รับการรักษาด้วยยาต้านเชื้อราจะช่วยให้ลักษณะรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปากดีขึ้น [10, 50, 51]

ส่วนความเกี่ยวข้องกับไวรัสที่มีรายงาน ได้แก่ Hepes simplex 1 (HSV-1), Epstein-Barr virus (EBV), Cytomegalovirus (CMV), Hepes virus 6 (HHV-6) และ Human Papillomavirus (HPV) นอกจากนี้ มีรายงานเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างไลเคนแพลนัสและการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบ ซี (hepatitis C virus) [18]

5. โรคภูมิคุ้มกันตนเอง (automimmunity)

มีรายงานเกี่ยวกับความสัมพันธ์ของไลเคนแพลนัสกับโรคภูมิคุ้มกันตนเองหลายโรค ได้แก่ alopecia areata, dermatitis herpetiformis, dermatomyositis, Hashimoto's thyroiditis, hyperthyroidism, lupus erythematosus, morphea, myasthenia gravis, pemphigus foliaceus, pemphigus vulgaris, pernicious anemia, rheumatoid arthritis, Sjogren's syndrome, scleroderma และ vitiligo [10] อย่างไรก็ตาม จากการศึกษาเปรียบเทียบในผู้ป่วยไลเคนแพลนัสมากกว่า 50 ราย ไม่พบความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญระหว่างโรคไลเคนแพลนัสกับโรคภูมิคุ้มกันตนเองเหล่านี้ [52]

6. การแพ้อาหาร

ผู้ป่วยไลเคนแพลนัสในช่องปากหรือรอยโรคไลเคนอยด์บางรายมีปฏิกิริยาแพ้ อาหารหรือส่วนประกอบของอาหารบางชนิด เช่น อบเชย (cinnamon) อัลดีไฮด์ (aldehyde) [10]

7. ความเครียด

ไคเคนแพลลีสมีความเกี่ยวข้องกับความเครียดทางอารมณ์ จากการศึกษารายงานว่า มีการเพิ่มของระดับความเครียด ความวิตกกังวล ภาวะซึมเศร้า และความผิดปกติทางด้านจิตใจในผู้ป่วยไคเคนแพลลีสในช่องปาก [53] นอกจากนี้ความเครียดยังเป็นอีกหนึ่งสาเหตุที่พบได้บ่อยในผู้ป่วยไคเคนแพลลีสในช่องปากที่มีอาการรุนแรงขึ้นแบบเฉียบพลัน [54]

8. อุปนิสัย

จากการศึกษาในผู้ป่วยไคเคนแพลลีสในช่องปากชาวอินเดียนกลุ่มหนึ่งจะมีนิสัยการสูบบุหรี่และการเคี้ยวหมากมากกว่าผู้ที่ไม่เป็นไคเคนแพลลีสในช่องปาก [55]

9. โรคเบาหวานและความดันโลหิตสูง

มีผู้รายงานว่ โรคเบาหวานมีความสัมพันธ์กับไคเคนแพลลีสในช่องปาก [56] แต่จากหลายการศึกษาในผู้ป่วยโรคเบาหวาน พบว่า ความชุกของโรคไคเคนแพลลีสในช่องปากของผู้ป่วยโรคเบาหวานมีค่าต่ำ จึงน่าจะเป็นความบังเอิญหรืออาจเป็นผลจากยาที่ใช้ในการรักษาโรค อย่างไรก็ตามในผู้ป่วยโรคเบาหวานที่มีรอยโรคไคเคนแพลลีสในช่องปาก จะพบความชุกสูงของรอยโรคในบริเวณลิ้นและเป็นชนิดแผลถลอก สำหรับโรคความดันโลหิตสูงในผู้ป่วยไคเคนแพลลีสไม่มีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จึงเชื่อว่า รอยโรคไคเคนแพลลีสในช่องปากที่พบในผู้ป่วยโรคความดันโลหิตสูง และโรคเบาหวาน น่าจะเป็นผลมาจากยาที่ใช้รักษาโรคทั้งสองชนิดมีส่วนกระตุ้นให้เกิดรอยโรคที่เรียกว่า ไคเคนอยด์ [57]

10. เนื้องอกชนิดร้ายแรง

พบรอยโรคไคเคนอยด์ในผู้ป่วยที่เป็นเนื้องอกของผิวหนังและ/หรือเยื่อเมือกหลายโรค ซึ่งลักษณะทางคลินิกของรอยโรคไคเคนแพลลีสที่พบสัมพันธ์กับเนื้องอกส่วนใหญ่เป็นชนิดตุ่มน้ำขนาดใหญ่ นอกจากนี้ไคเคนแพลลีสมีรายงานว่าพบได้ในผู้ป่วยที่เป็นมะเร็งเต้านม, metastatic adenocarcinoma, retroperitoneal sarcoma, stomach cancer, thymoma, Castleman's tumor, craniopharyngioma, pituitary adenoma และ non-Hodgkin's lymphoma [10]

11. โรคลำไส้ (Bowel disease)

จากหลายรายงานพบความสัมพันธ์ระหว่างโรคแผลของลำไส้ใหญ่ (ulcerative colitis) และไลเคนแพลนัส นอกจากนี้ โรคของลำไส้อื่นๆ ที่มีรายงาน ได้แก่ celiac disease และ Crohn's disease [10] อย่างไรก็ตาม บางรายงานก็ไม่พบความสัมพันธ์ดังกล่าว [58]

12. ความสัมพันธ์อื่นๆ

ความสัมพันธ์ของไลเคนแพลนัสกับโรคอื่นๆ ที่มีรายงาน ได้แก่ psoriasis, lichen sclerosis, urolithiasis, สารที่ใช้ในการรักษานิวตุงน้ำดี, mesangioproliferative glomerulonephritis, erythema dyschromicum และ Turner's syndrome with endocrinopathies [10]

มีรายงานว่า พบความสัมพันธ์ของไลเคนแพลนัสในช่องปากกับการขาดโฟเลต (folate) ในผู้ป่วยสูงอายุคนไทยกลุ่มหนึ่ง แม้ว่าจะไม่พบภาวะโลหิตจางก็ตาม [59] แต่มีหลายการศึกษาที่ไม่สามารถแสดงความสัมพันธ์ระหว่างสภาวะการขาดสารอาหารและไลเคนแพลนัสได้ ถึงแม้จะมีรายงานว่า เมื่อมีการให้วิตามินบีหนึ่ง บีสอง และซี สามารถช่วยให้รอยโรคไลเคนแพลนัสดีขึ้น [10, 60]

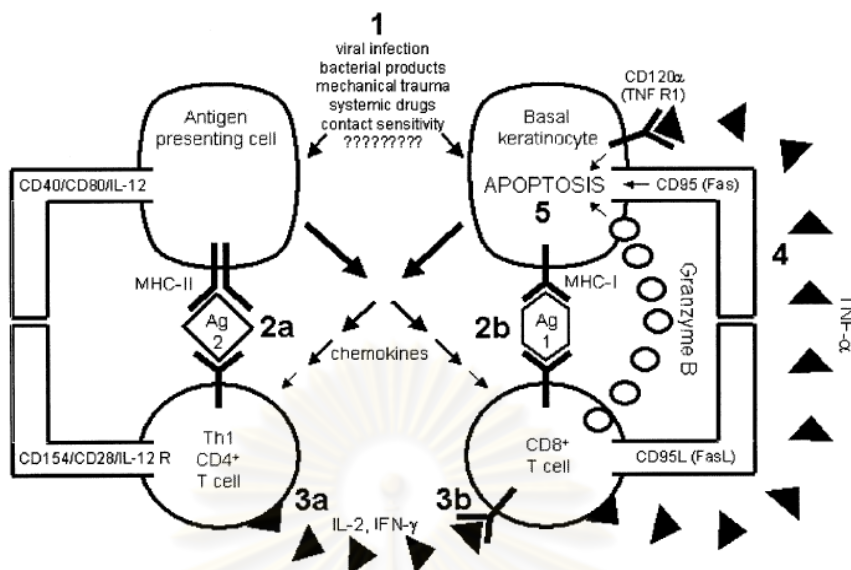
การเกิดพยาธิสภาพของโรค (Pathogenesis)

มีหลักฐานที่สนับสนุนว่าระบบภูมิคุ้มกันชนิดเซลล์เป็นสื่อมีบทบาทสำคัญในการกระตุ้นให้เกิดการดำเนินโรคไลเคนแพลนัส และมีรายงานถึงการเกิดพยาธิสภาพในรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปากที่เกี่ยวข้องกับกลไกแอนติเจนที่จำเพาะ [18] และกลไกแบบไม่จำเพาะ (non-specific mechanism) [61] โดยที-ลิมโฟไซต์มีบทบาทสำคัญในกลไกการเกิดโรคนี้ [17] เนื่องจากพบที-ลิมโฟไซต์ที่ได้รับการกระตุ้น (activated T-lymphocytes) ชนิด CD8⁺ T cells (suppressor-cytotoxic T cells) จำนวนมากแทรกอยู่ภายในชั้นเยื่อเมือก และบริเวณใกล้เคียงกับเบซัลเคอราติโนไซต์ที่ถูกทำลาย ในขณะที่ลิมโฟไซต์ส่วนใหญ่อยู่ในชั้นลามินา โพรเปรีย (lamina propria) เป็นชนิด CD4⁺ T cells (helper-inducer T cells) [10, 62, 63]

การเกิดพยาธิสภาพในรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปากซึ่งเกี่ยวข้องกับกลไกแอนติเจนที่จำเพาะ เชื่อว่าแอนติเจนที่กระตุ้นให้เกิดความผิดปกติของระบบภูมิคุ้มกันในรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปาก ได้แก่ การติดเชื้อไวรัส สสารจากเชื้อแบคทีเรีย ยารักษาโรคทางระบบบางชนิด โดยเชื่อว่าเซลล์นำเสนอแอนติเจน (antigen presenting cell) จะส่งผ่านแอนติเจนทางโมเลกุล major histocompatibility complex (MHC) class II ให้กับ $CD4^+$ T cells และจะเพิ่มระดับการแสดงออกของแอนติเจนโดยมีการเพิ่มการแสดงออกของโมเลกุล CD40, CD80 และหลังไซโตไคน์ (cytokines) ชนิดอินเตอร์ลิวคิน-12 (interleukin-12; IL-12) ซึ่งจะไปกระตุ้นให้ $CD4^+$ T cells หลังไซโตไคน์ชนิดอินเตอร์ลิวคิน-2 (interleukin-2; IL-2) และอินเตอร์เฟอรอน-แกมมา (interferon-gamma; $IFN-\gamma$) ส่วนเบซัลเคอราติโนไซต์จะส่งผ่านแอนติเจนทางโมเลกุล major histocompatibility complex (MHC) class I ให้กับ $CD8^+$ T cells นอกจากนี้ $IFN-\gamma$ ที่หลังจาก $CD4^+$ T cells จะไปกระตุ้น $CD8^+$ T cells ให้หลังไซโตไคน์ชนิดทูเมอร์ เนกโครซิส แฟกเตอร์-แอลฟา (tumor necrosis factor-alpha; $TNF-\alpha$) ซึ่งจะไปจับกับตัวรับ คือ $TNF-\alpha$ receptor 1 ($TNF-R1$) บนผิวเบซัลเคอราติโนไซต์ และกระตุ้นให้เกิดการเสื่อมสลายของชั้นเบซัลเซลล์ [18]

กลไกที่ $CD8^+$ T cells ไปกระตุ้นให้เกิดการตาย (apoptosis) ของเบซัลเคอราติโนไซต์นั้นยังไม่ทราบแน่ชัด โดยมีรายงานอธิบายถึงกลไกที่อาจเป็นไปได้ ดังนี้ [18] (ภาพที่ 4)

1. ที-ลิมโฟไซต์มีการหลั่ง $TNF-\alpha$ ซึ่งจะไปจับกับ $TNF-R1$ บนผิวเบซัลเคอราติโนไซต์
2. บนผิวของที-ลิมโฟไซต์จะมีโมเลกุล CD95L (Fas Ligand) ซึ่งจะคอยจับกับ CD95 (Fas) ที่อยู่บนผิวของเบซัลเคอราติโนไซต์
3. ที-ลิมโฟไซต์จะมีการหลั่ง granzyme B เข้าไปในเบซัลเคอราติโนไซต์โดยผ่านทาง perforin-induced membrane pores



ภาพที่ 4 กลไกการกำจัดแอนติเจนจำเพาะในโรคไลเคนแพลนัสในช่องปาก
ซึ่งมีความเกี่ยวเนื่องระหว่างที-ลิมโฟไซต์ชนิด CD4⁺ และ CD8⁺ [18]

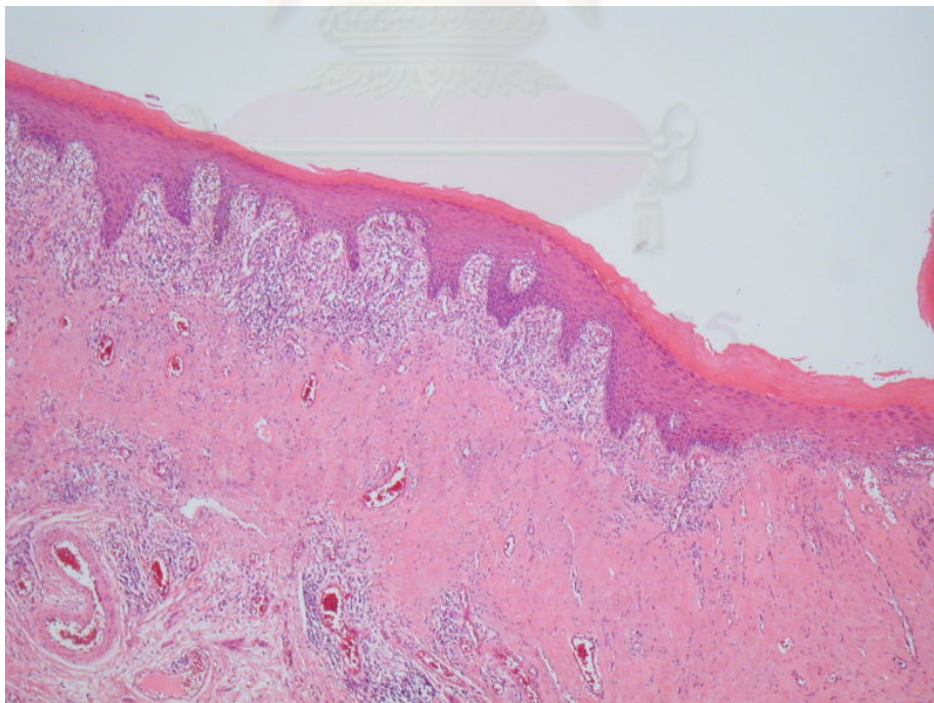
สำหรับการเกิดพยาธิสภาพในรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปากที่เกี่ยวข้องกับกลไกแบบไม่จำเพาะ เชื่อว่า RANTES ที่หลั่งจากที-ลิมโฟไซต์จะไปกระตุ้นเซลล์มาสต์ (mast cell) ให้เกิดการดึงดูดเซลล์เข้ามาในบริเวณรอยโรค (chemotaxis) และกระตุ้นเซลล์มาสต์ให้หลั่งแกรนูโล (degranulation) โดยเซลล์มาสต์ที่หลั่งแกรนูโลนั้นจะหลั่ง TNF- α กระตุ้นให้เกิดการแสดงออกของ endothelial cell adhesion molecule ของเซลล์บุผิวหลอดเลือด (endothelial cell) ให้ลิมโฟไซต์มายึดเกาะ และเคลื่อนออกนอกหลอดเลือด (extravasation) มายังเนื้อเยื่อ นอกจากนี้เซลล์มาสต์ที่หลั่งแกรนูโลจะมีการหลั่ง chymase มาทำลายชั้นเยื่อฐาน (basement membrane) ของเยื่อผิวให้เกิดการฉีกขาด ซึ่งจะกระตุ้นให้เกิดการตายของเซลล์

ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยา (Histopathologic Features)

ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของโรคไลเคนแพลนัสมีดังต่อไปนี้ [18] (ภาพที่ 5)

1. มีการหนาตัวของชั้นเคอราตินที่ไม่มีหรือมีนิวเคลียส (hyperorthokeratosis or hyperparakeratosis)
2. เซลล์ในชั้นแกรนูลาร์ (granular cell layer) หนาตัว

3. เซลล์ชั้นสไปนัส (spinous cell layer) มีการหนาตัว เรียกว่า อะแคนโทซิส (acanthosis)
4. รอยโรคบริเวณผิวหนังมักพบว่าเรตริจ (rete ridge) มีลักษณะเป็นฟันเลื่อย (saw tooth appearance) ส่วนรอยโรคในช่องปากไม่ค่อยพบลักษณะดังกล่าว
5. มีการสลายตัวของชั้นเบซัลเซลล์
6. ลิมโฟไซต์บริเวณลามินา โพรเปรียเรียงตัวเป็นแถบหนาแน่นเป็นจำนวนมาก และพบว่า ลิมโฟไซต์ส่วนใหญ่เป็นที่-ลิมโฟไซต์
7. อาจพบเคอราติโนไซต์ที่ถูกทำลายบริเวณรอยต่อของเยื่อบุผิวกับเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (connective tissue) เรียกว่า คอลลอยด์บอดี้ (colloid bodies)
8. การตรวจด้วยวิธีทางอิมมูโนฟลูออเรสเซนซ์โดยใช้เนื้อเยื่อของผู้ป่วย (direct immunofluorescence) จะพบว่า มีการติดไฟบริน (fibrin) อิมมูโนโกลบูลินเอ็ม (Immunoglobulin M; IgM) และคอมพลีเมนต์ 3 (C3) ที่บริเวณชั้นเยื่อฐาน



ภาพที่ 5 ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปาก [8]

ความสัมพันธ์กับมะเร็งในช่องปาก

มีรายงานว่า รอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปากที่มีลักษณะแดงหรือถลอกมีความเสี่ยงในการกลายเป็นมะเร็งในช่องปากได้ องค์การอนามัยโลกจึงจัดรอยโรคนี้ไว้ในกลุ่มรอยโรคที่มีโอกาสเปลี่ยนเป็นมะเร็งในช่องปาก [16]

จากการศึกษาที่ผ่านมา พบว่าผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคไลเคนแพลนัสในช่องปากหรือโรคไลเคนอยด์ มีการเปลี่ยนแปลงไปเป็นมะเร็งสควอมีส เซลล์ คาร์ซิโนมา ร้อยละ 0.4-5.6 [64, 65] โดยส่วนมากเป็นรอยโรคไลเคนแพลนัสชนิดแผลถลอกในตำแหน่งกระพุ้งแก้ม ระยะเวลาการกลายเป็นมะเร็งมีตั้งแต่ 15 เดือนถึง 9 ปี [65] ในบางการศึกษาเชื่อว่ารอยโรคที่มีโอกาสสูงในการเปลี่ยนไปเป็นมะเร็งนั้นไม่ใช่รอยโรคไลเคนแพลนัสที่แท้จริง แต่เป็นรอยโรคอีกชนิดหนึ่งโดยนิยามของ Krutchkoff และ Eisenberg ในปี ค.ศ.1985 [66] ที่เรียกว่า ไลเคนอยด์ ดิสเพลเซีย (lichenoid dysplasia) เพื่ออธิบายรอยโรคที่มีลักษณะเหมือนไลเคนแพลนัส แต่มีลักษณะของเซลล์เยื่อผิวที่มีการเจริญผิดปกติแบบอัสีพิทีเลียล ดิสเพลเซียร่วมด้วย

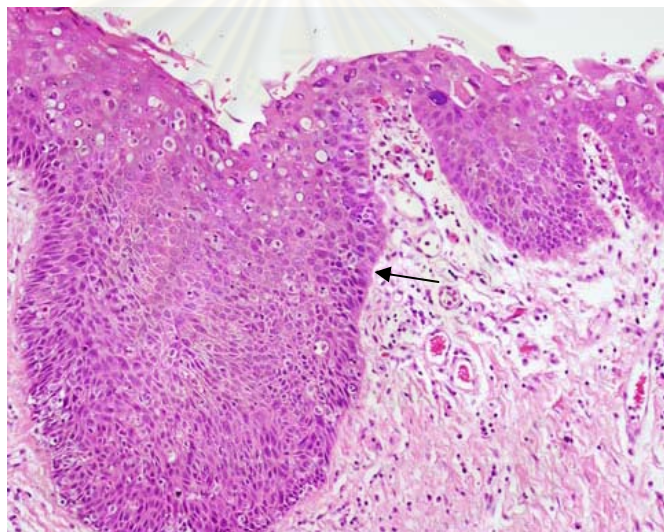
ตอนที่ 3 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับอีพิทีเลียล ดิสแพลเซีย

อีพิทีเลียล ดิสแพลเซีย เป็นคำที่ใช้ทางจุลพยาธิวิทยาเพื่อบ่งบอกถึงระดับความผิดปกติของเซลล์ของรอยโรคซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มรอยโรคที่มีโอกาสเปลี่ยนเป็นมะเร็ง โดยลักษณะทางคลินิกของอีพิทีเลียล ดิสแพลเซียอาจมีได้หลายรูปแบบ แต่ในช่องปากลักษณะที่พบได้บ่อย คือ ลิวโคเพลเกีย และ อีริโทรเพลเกีย (erythroplakia) ซึ่งวิธีมาตรฐานในการประเมินรอยโรคในกลุ่มนี้ ได้แก่ การพิจารณาจากลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาโดยการตัดชิ้นเนื้อแล้วย้อมด้วยสีย้อมฮีมาทอกซาลิน (hematoxylin) และอีโอซิน (eosin) ซึ่งจะปรากฏให้เห็นลักษณะโครงสร้างของเนื้อเยื่อและการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ นำมาสู่การวินิจฉัยโดยใช้คำว่า อีพิทีเลียล ดิสแพลเซีย แต่ในบางครั้งอาจมีการใช้คำว่า สควอมาส์ อินตราอีพิทีเลียล นีโอแพลเซีย (squamous intraepithelial neoplasia; SIN) หรือ รอยโรคสควอมาส์ อินตราอีพิทีเลียล (squamous intraepithelial lesions; SIL) ดังแสดงการเปรียบเทียบในตารางที่ 1 [67] แต่สำหรับรอยโรคในช่องปาก มักใช้คำว่า อีพิทีเลียล ดิสแพลเซียในช่องปากเป็นมาตรฐานเดียวกัน [68, 69]

ตารางที่ 1 การเปรียบเทียบการวินิจฉัยระดับของรอยโรคอีพิทีเลียล ดิสแพลเซีย [67, 68]

oral epithelial dysplasia	squamous intraepithelial neoplasia (SIN)	squamous intraepithelial lesions (SIL) (Ijubljana system)
Epithelial hyperplasia	N/A	Simple hyperplasia
Mild epithelial dysplasia	SIN 1	Basal/parabasal hyperplasia
Moderate epithelial dysplasia	SIN 2	Atypical hyperplasia
Severe epithelial dysplasia	SIN 3	
Carcinoma in situ		Carcinoma in situ

โดยก่อนที่จะเกิดการเปลี่ยนแปลงมาเป็นอีพิทีเลียล ดิสแพลเซีย เชื่อกันว่ารอยโรคเริ่มแรกจะมีลักษณะเป็นไฮเปอร์เคอราโตซิส คือ มีการหนาตัวของชั้นเคอราติน ทำให้ชั้นเยื่อเมือมีความหนาเพิ่มขึ้น ต่อมาเบซิลเซลล์เริ่มมีการเปลี่ยนแปลงในลักษณะที่เจริญผิดปกติ เมื่อทิ้งไว้ระยะเวลาหนึ่ง การเจริญผิดปกติจะทวีความรุนแรงเพิ่มขึ้น โดยมีการขยายขึ้นไปในเซลล์ชั้นบนๆ จนในที่สุดมีการเปลี่ยนแปลงตลอดทั้งความหนาของชั้นเยื่อเมือที่เรียกว่า คาร์ซิโนมา อิน ซิตู (carcinoma in situ) ซึ่งเป็นลักษณะที่รุนแรงที่สุดของอีพิทีเลียล ดิสแพลเซีย ซึ่งแปลว่าจะมีการเปลี่ยนแปลงไปเป็นมะเร็งอย่างแน่นอน เพียงแต่ยังไม่มีกรลุกลามของเซลล์ที่ผิดปกติเข้าไปในชั้นเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (ภาพที่ 6) [70]



ภาพที่ 6 ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของคาร์ซิโนมา อิน ซิตู [71]

การวินิจฉัยและการจัดระดับของอีพิทีเลียล ดิสแพลเซียในช่องปากขึ้นอยู่กับลักษณะร่วมกันของการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของเนื้อเยื่อและการเปลี่ยนแปลงระดับเซลล์ แต่การให้ระดับของรอยโรคนี้อาจมีการผันแปรไปตามผู้ให้การวินิจฉัยแต่ละคนได้ [72]

ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยา

การเปลี่ยนแปลงระดับเซลล์

- นิวเคลียสมีขนาดและรูปร่างผิดปกติ (anisonucleosis and pleomorphism)
- เซลล์เยื่อเมอมีขนาดและรูปร่างผิดปกติ (anisocytosis and pleomorphism)
- อัตราส่วนของนิวเคลียสต่อไซโตพลาสซึมสูงขึ้น (increased nuclear/cytoplasmic ratio)
- นิวเคลียส และเซลล์มีขนาดใหญ่
- นิวเคลียสติดสีเข้มขึ้น (hyperchromatic nuclei)
- ไมโทติก ฟิกเกอร์ (mitotic figure) สูงขึ้น
- ไมโทติก ฟิกเกอร์มีความผิดปกติทั้งขนาดและตำแหน่ง
- มีการเพิ่มจำนวนและขนาดของนิวคลีโอล (nucleoli)

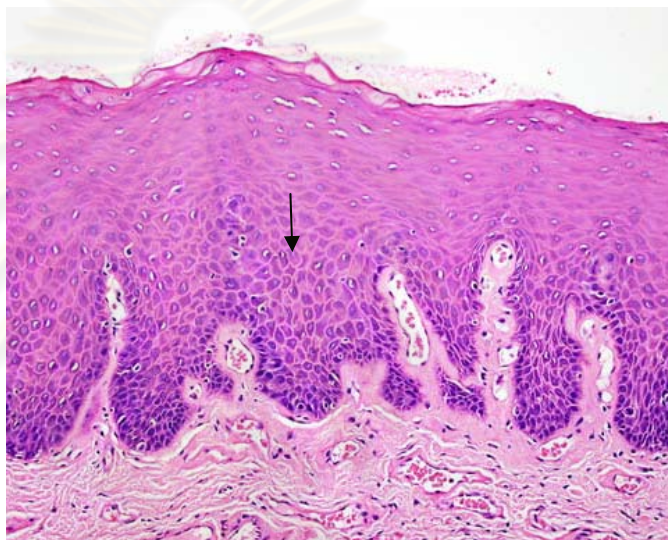
การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของเนื้อเยื่อ

- สูญเสียความเป็นขั้ว (loss of polarity)
- มีความผิดปกติของการเจริญเติบโตไปเป็นเซลล์สควอเมัสที่สมบูรณ์
- มีการเปลี่ยนแปลงเป็นคาร์ซิโนมา อิน ไฮตู ทั้งชั้นของเยื่อเมอ
- ความหนาแน่นของเซลล์เพิ่มขึ้น
- เบซัลเซลล์ไฮเปอร์เพลเซีย (basal cell hyperplasia)
- ดิสเคอราโตซิส (dyskeratosis) คือมีการสร้างเคอราตินแบบยังไม่สมบูรณ์ และพบเคอราตินเพิร์ล (keratin pearl) ในส่วนลึกของเยื่อเมอ
- เรตต์ ริดจ์ มีลักษณะเป็นรูปหยดน้ำ (bulbous drop shape rete ridge)
- พบลักษณะตั้งยื่นบริเวณส่วนปลายของเรตต์ ริดจ์

องค์การอนามัยโลกได้จัดแบ่งระดับของรอยโรคอีพิทีเลียล ดิสเพลเซียในช่องปาก ซึ่งมีเกณฑ์ในการจัดระดับดังนี้

1. ระดับไม่รุนแรง (Mild dysplasia; grade I)

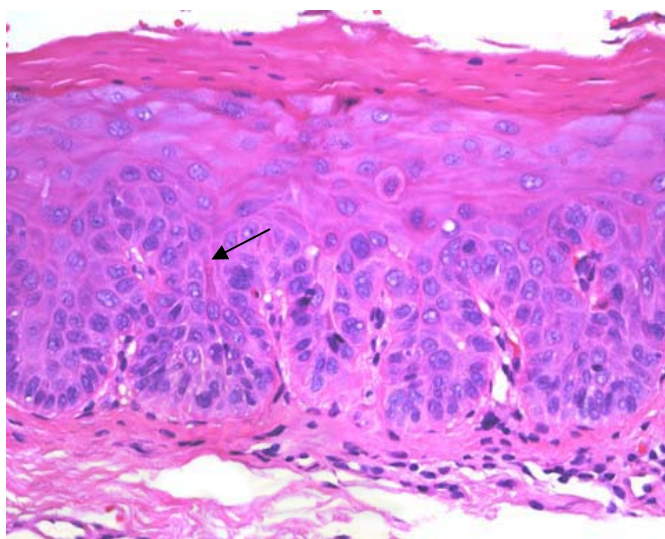
มีการเพิ่มจำนวนของเซลล์เยื่อบุผิวในชั้นเบซัลเซลล์และรอบๆ โดยไม่เกิน 1/3 จากชั้นเยื่อฐาน และมีความผิดปกติระดับเซลล์ คือ นิวเคลียสและเซลล์มีรูปร่างผิดปกติ นิวเคลียสติดสีเข้มบ้างเพียงเล็กน้อย พบไมโทซิส (mitosis) ไม่เด่นชัด (ภาพที่ 7)



ภาพที่ 7 ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของอีพิทีเลียล ดิสเพลเซียระดับไม่รุนแรง [71]

2. ระดับปานกลาง (Moderate dysplasia; grade II)

มีการเปลี่ยนแปลงเพิ่มจำนวนและรูปร่างที่ผิดปกติของเซลล์กว้างขึ้นตั้งแต่ชั้นเยื่อฐานไปจนถึง 2/3 ของชั้นเยื่อบุผิว การเปลี่ยนแปลงระดับเซลล์ที่พบคือ นิวเคลียสติดสีเข้มขึ้น นิวเคลียสและเซลล์มีรูปร่างและขนาดผิดปกติ พบไมโทซิสที่ผิดปกติมากขึ้น แต่มักพบอยู่เฉพาะในชั้นเบซัลเซลล์ การเปลี่ยนแปลงทางโครงสร้างพบที่ครึ่งล่างของชั้นเยื่อบุผิว เช่น สูญเสียความมีขั้วของเบซัลเซลล์ พบเรตัง รีดจ์ เป็นรูปหยดน้ำ และมีการหนาตัวของชั้นคอร์ราติน (ภาพที่ 8)

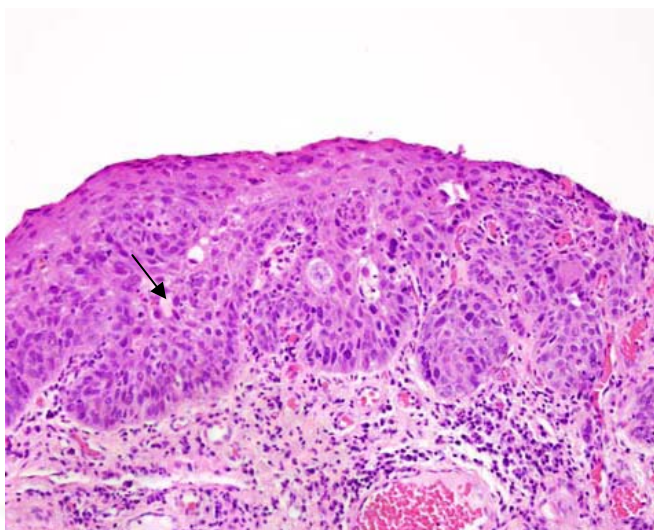


ภาพที่ 8 ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของอีพีทีเลียล ดิสเพลเซียระดับปานกลาง [71]

3. ระดับรุนแรง (Severe dysplasia; grade III)

มีการเปลี่ยนแปลงจาก 2/3 ของเยื่อเมือกจนเกือบตลอดความหนาของเยื่อเมือก การเปลี่ยนแปลงระดับเซลล์และทางโครงสร้างเห็นเด่นชัด พบการเปลี่ยนแปลงทั้งหมดที่พบในระดับไม่รุนแรงและปานกลาง แต่นิวเคลียสมีขนาดใหญ่และรูปร่างผิดปกติอย่างมาก และอาจพบได้จำนวนมาก พบไมโทซิสเด่นชัดเหนือชั้นเบสัลเซลล์ โดยมักมีลักษณะเป็นแบบ 3 ขั้ว (tripolar) หรือรูปร่างคล้ายดาว การเปลี่ยนแปลงทางโครงสร้างรุนแรง เสียการเรียงตัวเป็นชั้นของเซลล์ และมีการสร้างเคอราตินผิดปกติเข้าไปในระดับลึกของชั้นเยื่อเมือกกลายเป็นเคอราตินเฟิร์ด พบเรตต์ ริตจึรูปร่างผิดปกติเป็นหยดน้ำ และอาจพบลักษณะแตกเป็นกิ่งก้านเล็กๆ ออกมา ซึ่งบ่งบอกได้ถึงจุดเริ่มต้นของการลุกลามไปในชั้นเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (ภาพที่ 9)

แม้ว่าชั้นเยื่อเมือกควรจะมีการหนาตัวขึ้นมาก แต่ในอีพีทีเลียล ดิสเพลเซียระดับรุนแรงบางครั้งจะพบลักษณะฝ่อลีบของชั้นเยื่อเมือกร่วมด้วย ซึ่งจะเห็นได้ชัดในรอยโรคที่เกิดที่พื้นช่องปาก ใต้ลิ้น และเพดานอ่อน โดยเฉพาะรอยโรคที่มีลักษณะทางคลินิกเป็นอีริโทรเพลเกีย



ภาพที่ 9 ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของอีพิทีเลียล ดิสเพลเซียระดับรุนแรง [71]

การเปลี่ยนแปลงเป็นมะเร็งสควอเมัส เซลล์ คาร์ซิโนมา

แม้ว่ารอยโรคอีพิทีเลียล ดิสเพลเซียมีรายงานทางสถิติสูงในการกลายเป็นมะเร็งในช่องปาก แต่กระบวนการที่แท้จริงในการเปลี่ยนแปลงนี้ยังไม่เป็นที่เข้าใจแน่ชัด และไม่สามารถหลีกเลี่ยงได้ในการที่รอยโรคเหล่านี้จะกลายเป็นมะเร็ง ในปัจจุบันยังไม่มีตัวบ่งชี้ทางโมเลกุลใดที่จะสามารถแยกได้ว่ารอยโรคใดจะเปลี่ยนหรือไม่เปลี่ยนเป็นมะเร็ง [73] แต่มีตัวบ่งชี้ที่กำลังมีการศึกษากันอยู่ เช่น การวิเคราะห์การกลายพันธุ์ (mutation) ของยีน p53 ความผิดปกติของโครโมโซมคู่ที่ 3 และ 9 เป็นต้น ซึ่งต้องมีการศึกษาเพิ่มเติม และยังไม่มีการประเมินผลของตัวบ่งชี้เหล่านี้ในระยะยาว

ในปัจจุบันระดับของดิสเพลเซียถือว่าเป็นเครื่องชี้วัดได้ดีที่สุดในการดูกลายของรอยโรค โดยอีพิทีเลียล ดิสเพลเซียระดับรุนแรงมีอัตราการเปลี่ยนแปลงเป็นมะเร็งอยู่ที่ประมาณร้อยละ 16 โดยอยู่ในช่วงตั้งแต่ร้อยละ 7-50 [68] อีพิทีเลียล ดิสเพลเซียระดับปานกลางมีอัตราการเปลี่ยนแปลงประมาณร้อยละ 3-15 ในขณะที่อีพิทีเลียล ดิสเพลเซียระดับไม่รุนแรงมีความเสี่ยงต่ำกว่าร้อยละ 5 และจากการตัดชิ้นเนื้อตรวจทางจุลพยาธิวิทยาของรอยโรคลิวดิโคเพลเกียพบว่าประมาณร้อยละ 50 มีลักษณะดิสเพลเซีย และอัตราการเปลี่ยนแปลงเป็นมะเร็งของลิวดิโคเพลเกียอยู่ที่ประมาณร้อยละ 0.1-2 ต่อปี แต่อัตรานี้จะสูงขึ้นในรอยโรคลิวดิโคเพลเกียที่มีลักษณะผิวไม่เรียบ (non-homogenous)

ตอนที่ 4 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับมะเร็งสคออมัส เซลล์ คาร์ซิโนมา

สคออมัส เซลล์ คาร์ซิโนมา เป็นมะเร็งชนิดที่มีต้นกำเนิดจากเยื่อเมือก ซึ่งพบได้บ่อยที่สุดในช่องปาก ประมาณร้อยละ 96 โดยบริเวณที่พบว่าเป็นมะเร็งในช่องปากได้บ่อย คือ พื้นของช่องปาก (floor of mouth) และขอบด้านข้างของลิ้น (lateral border of the tongue) [74] ประมาณร้อยละ 95 ของผู้ป่วยมะเร็งช่องปาก เกิดขึ้นในผู้ที่มีอายุมากกว่า 40 ปีขึ้นไป [75, 76]

ระบาดวิทยา (Epidemiology)

จากรายงานการเกิดมะเร็งทั่วโลก มะเร็งช่องปากพบมากที่สุดอันดับ 1 ใน 10 ของมะเร็งที่พบมากที่สุด [76, 77] โดยอุบัติการณ์ที่เกิดขึ้นจะมากขึ้นแตกต่างกันไปตามพื้นที่ เชื้อชาติ เพศ และอายุ สำหรับมะเร็งสคออมัส เซลล์ คาร์ซิโนมา มีรายงานว่าพบผู้ป่วยรายใหม่ประมาณ 540,000 รายทั่วโลก และมีอัตราการเสียชีวิตร้อยละ 50 ต่อปี [78] สำหรับประเทศไทย จากรายงานของสถาบันมะเร็งแห่งชาติในปี พ.ศ. 2544-2546 พบว่า มะเร็งช่องปากเป็นมะเร็งที่ติดอันดับ 1 ใน 10 ของมะเร็งที่พบมากที่สุดในประเทศไทย โดยในเพศชาย พบมากเป็นอันดับ 8 มีอุบัติการณ์การเกิดโรคเท่ากับ 4.5 ต่อประชากร 100,000 คนต่อปี และในเพศหญิง พบมากเป็นอันดับ 8 มีอุบัติการณ์การเกิดโรคเท่ากับ 3.7 ต่อประชากร 100,000 คนต่อปี [79] นอกจากนี้มีการศึกษาย้อนหลังตั้งแต่ปี พ.ศ. 2540-2544 ในผู้ป่วยมะเร็งสคออมัส เซลล์ คาร์ซิโนมา จำนวน 44 ราย ณ สถาบันมะเร็งแห่งชาติ กรุงเทพฯ พบว่าร้อยละ 68.2 เป็นมะเร็งที่ลิ้น รองลงมาคือที่เหงือก ร้อยละ 15.9 โดยมีอายุตั้งแต่ 33-78 ปี และมีอายุเฉลี่ย 60.7 ปี อัตราส่วนระหว่างเพศชายและเพศหญิงเท่ากันคือ 1:1 [80]

สาเหตุของการเกิดมะเร็งในช่องปาก

มะเร็งในช่องปากเกิดขึ้นจากหลายปัจจัย (multifactorial) ได้แก่

1. การสูบบุหรี่

มีการศึกษามากมายในการยืนยันความสัมพันธ์ระหว่างการสูบบุหรี่และแนวโน้มการเกิดมะเร็งในช่องปาก โดยพบว่าการสูบบุหรี่เป็นปัจจัยเสี่ยงอิสระ (independent risk factor) คิดเป็นร้อยละ 80-90 ของผู้ป่วยมะเร็งในช่องปาก [81, 82] ผู้ที่สูบบุหรี่จะมีความ

เสี่ยงในการเปลี่ยนแปลงเป็นมะเร็งในช่องปากสูงกว่าคนที่ไม่สูบบุหรี่ 5-9 เท่า และความเสี่ยงนี้จะสูงขึ้นเป็น 17 เท่าสำหรับผู้ที่สูบบุหรี่ 80 มวนหรือมากกว่าต่อวัน [83, 84] การสัมผัสกับบุหรี่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงเยื่อเมือกในช่องปากจนกลายเป็นรอยโรคร้ายแรงได้ ซึ่งการเปลี่ยนแปลงนี้สามารถคืนกลับสู่สภาพปกติได้ถ้าเลิกสูบบุหรี่ โดยจากการศึกษาพบว่า การเลิกสูบบุหรี่ลดความเสี่ยงของการเกิดมะเร็งในช่องปากได้อย่างรวดเร็วและชัดเจน [81, 82, 85]

2. แอลกอฮอล์

มีการศึกษาที่บ่งชี้ว่าแอลกอฮอล์สามารถทำให้เกิดมะเร็งในช่องปากได้ โดยออกฤทธิ์ทั้งแบบอิสระหรือเสริมฤทธิ์กับการสูบบุหรี่ ทั้งนี้แอลกอฮอล์อาจมีบทบาทเป็นตัวทำลายและเพิ่มความสามารถในการแทรกซึมของสารก่อมะเร็งเข้าไปในเนื้อเยื่อ อีกทั้งอเซตาลดีไฮด์ (acetaldehyde) ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์จากการสับดาปแอลกอฮอล์ ยังถูกบ่งชี้ว่าเป็นสารที่ส่งเสริมการเกิดเนื้องอก (tumor promoter) [86]

3. การเคี้ยวหมาก

มีการศึกษาพบว่า การเคี้ยวใบยาสูบร่วมกับใบพลูและหมาก สามารถเพิ่มความเสี่ยงที่สัมพันธ์กับการเกิดมะเร็งในช่องปากสูงถึง 8 - 15 เท่า ซึ่งมากกว่าการเคี้ยวหมากโดยไม่มีใบยาสูบ สำหรับในกรณีหลังนี้ พบว่า มีความเสี่ยงที่สัมพันธ์กับการเกิดมะเร็งช่องปาก 1-4 เท่า จากการศึกษาในสัตว์ทดลองพบว่า ไนโตรซามีน (nitrosamine) จากผลหมากทำให้เกิดการกลายพันธุ์ มีพิษต่อยีน และสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดมะเร็งได้ [86]

4. เชื้อจุลินทรีย์

พบว่า HPV มีความสัมพันธ์อย่างใกล้ชิดกับการเกิดเนื้องอกทั้งชนิดไม่ร้ายแรงและมะเร็งในช่องปาก โดยสามารถตรวจพบไวรัสชนิดนี้ได้เนื้องอกดังกล่าว ซึ่งส่วนมากเป็นชนิดที่ 16 และ 18 [78, 86, 87] นอกจากนี้ยังพบชนิดที่ 31 และ 33 [87] แต่ยังไม่เท่ากับสองชนิดแรก นอกจากเชื้อไวรัสแล้ว เชื้อราแคนดิดา แอลบิแคนส์ (*Candida albicans*) ก็เป็นเชื้อจุลินทรีย์หนึ่งที่สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการเพิ่มจำนวนเซลล์เยื่อเมือกและสร้างสารก่อมะเร็งในหลอดทดลอง โดยรอยโรคที่เกิดจากเชื้อราแคนดิดา แอลบิแคนส์และเป็นรอยโรคที่มีโอกาสเปลี่ยนไปเป็นมะเร็งสูง คือ รอยโรคราแคนดิดาชนิดเจริญเกิน

แบบเรื้อรัง (chronic hyperplastic candidiasis) ซึ่งพบลักษณะเป็นปุ่มเล็ก (nodule) หรือแผ่นขาวเป็นจุด (speckled-white plaques) ที่บริเวณเยื่อช่องปาก [86, 88]

5. อาหารและสารอาหาร

การขาดสารอาหารบางอย่าง เช่น เหล็ก วิตามินเอ วิตามินซี และวิตามินอี มีความสัมพันธ์กับมะเร็งในช่องปาก โดยมีการรายงานที่พบว่าโรคโลหิตจางจากการขาดธาตุเหล็กเรื้อรัง (chronic iron deficiency anemia) ซึ่งพบในกลุ่มอาการพลัมเมอร์ วินสัน (Plummer-Vinson syndrome) หรือกลุ่มอาการแพทเทอสัน บราวน์ เคลลี (Paterson-Brown Kelly syndrome) ซึ่งมีอาการกลืนอาหารลำบาก (dysphagia) ลิ้นอักเสบแดง (glossitis) และการฟกช้ำของเยื่อเมือกในช่องปาก มีแนวโน้มในการเกิดมะเร็งในช่องปากสูงในกลุ่มผู้ป่วยเหล่านี้ อาจเนื่องมาจากการเปลี่ยนแปลงของเยื่อเมือกที่เกี่ยวข้องกับการขาดธาตุเหล็ก [89] ทั้งนี้ยังมีการศึกษาที่พบว่า การรับประทานผักผลไม้ในแต่ละวันจะช่วยลดความเสี่ยงของมะเร็งในช่องปากได้ร้อยละ 50 [90]

6. รังสีอัลตราไวโอเล็ต (ultraviolet)

ผู้ที่ทำงานกลางแจ้งมีความเสี่ยงสูงขึ้นในการเกิดมะเร็งที่ริมฝีปากล่างจากการสัมผัสรังสีอัลตราไวโอเล็ต

7. การกลายพันธุ์ของยีน (gene mutation)

มียีนที่สำคัญ 3 กลุ่ม ที่เป็นยีนเป้าหมายของการกลายพันธุ์ นั่นคือ โปรโตออนโคยีน (proto-oncogenes) ยีนต้านมะเร็ง และยีนที่ควบคุมการตายของเซลล์แบบโปรแกรมทางพันธุกรรมกำหนดการตายของเซลล์ (genetically programmed cell death หรือ apoptosis) [75] โดยปกติแล้วโปรโตออนโคยีนในมนุษย์ทำหน้าที่ส่งเสริมการเจริญและการดิฟเฟอเรนติเอชันของเซลล์ หากโดนรบกวนจากสิ่งกระตุ้นภายนอกร่างกาย เช่น ไวรัส รังสี สารก่อมะเร็ง อาจส่งผลทำให้โปรโตออนโคยีนเปลี่ยนไปเป็นยีนมะเร็ง (oncogenes) ในขณะที่ยีนต้านมะเร็งเมื่อถูกรบกวนให้เกิดการผิดปกติ ก็จะไม่สามารถควบคุมการเปลี่ยนแปลงไปเป็นมะเร็งได้ ยีนต้านมะเร็งที่มักตรวจพบความผิดปกติในโรคมะเร็งชนิดต่างๆ ได้แก่ p53 pRb และ E-cadherin

ลักษณะทางคลินิก

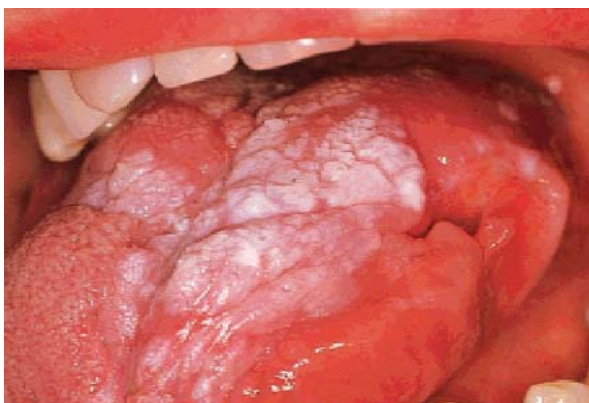
มะเร็งสควอมีด เซลล์ คาร์ซิโนมาปรากฏอาการและอาการแสดงได้หลายลักษณะ บางกรณีจะคล้ายกับรอยโรคชนิดไม่ร้ายแรง (benign lesions) โดยเฉพาะมะเร็งช่องปากระยะเริ่มแรกหรือปรากฏเป็นรอยโรคที่มีโอกาสเปลี่ยนเป็นมะเร็ง ซึ่งไม่เจ็บปวดหรือมีอาการไม่รุนแรง ทำให้ผู้ป่วยไม่สนใจที่จะพบแพทย์ ตราบจนความเจ็บปวดนั้นรุนแรงขึ้น และคงอยู่เป็นระยะเวลาาน การพบแพทย์ในช่วงเวลานี้จึงอาจล่าช้าเกินไปและส่งผลให้มีการลุกลามของโรคไปยังอวัยวะส่วนอื่นแล้ว นอกจากอาการเจ็บปวดแล้ว อาการที่บ่งบอกถึงความรุนแรง ได้แก่ อาการชาบริเวณช่องปากและใบหน้า (orofacial region) มีปัญหาในการพูด การเคี้ยว และกลืนอาหาร

อาการแสดงของมะเร็งในช่องปาก มีได้หลายลักษณะ ดังนี้ [76, 77, 88]

- ลักษณะเป็นแผล รอยถลอก หรือก้อนโต ดังแสดงในภาพที่ 10
- ลักษณะเป็นรอยโรคลิวโคเพลเกีย ดังแสดงในภาพที่ 11
- ลักษณะเป็นรอยโรคอีริโทรเพลเกีย ดังแสดงในภาพที่ 12
- ลักษณะเป็นรอยโรคอีริโทรลิวโคเพลเกีย (erythroleukoplakia)
- รอยโรคมีลักษณะแข็ง (induration)
- กรณีที่ลุกลามไปที่กระดูกและกล้ามเนื้อ รอยโรคจะยึดติดกับอวัยวะข้างใต้เป็นรอยโรคเรื้อรังที่ไม่หายใน 4 สัปดาห์ ต่อมน้ำเหลืองโต ซึ่งมักไม่มีอาการเจ็บปวด ติดแน่นอยู่กับที่ และแสดงถึงระยะมะเร็งขั้นรุนแรง



ภาพที่ 10 รอยโรคมะเร็งในช่องปากที่มีลักษณะเป็นก้อนโต [75]



ภาพที่ 11 รอยโรคมะเร็งที่ลิ้นซึ่งมีลักษณะเป็นลิวโคเพลเกีย [91]



ภาพที่ 12 รอยโรคมะเร็งที่ลิ้นซึ่งมีลักษณะเป็นอีริโทรเพลเกีย [92]

ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยา

มะเร็งสควอมาต เซลล์ คาร์ซิโนมาเป็นมะเร็งที่พัฒนามาจากเซลล์เยื่อเมือกที่มีการเจริญผิดปกติ โดยพบว่าเซลล์มะเร็งมีการเรียงตัวเป็นกลุ่ม (island) หรือเป็นสาย (cord) แทรกซึมผ่านชั้นเยื่อฐานเข้าไปในชั้นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันข้างใต้ ถ้ามีการแทรกซึมเพียงชั้นบนๆ ของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันจะเรียกว่า มะเร็งสควอมาต เซลล์ คาร์ซิโนมาชนิดซูเปอร์ฟิเชียลอินเวซีฟ (superficially invasive) หรือชนิดไมโครอินเวซีฟ (microinvasive) เซลล์มะเร็งสามารถแทรกซึมเข้าไปในเนื้อเยื่อเกี่ยวพันได้อย่างอิสระ โดยไม่จำเป็นต้องยึดติดกับพื้นผิวของเยื่อเมือก การลุกลามอาจลึกลงไปถึงชั้นของไขมัน กล้ามเนื้อ และกระดูกโดยทำลายเนื้อเยื่อที่มีอยู่เดิม มักพบการตอบสนองของเซลล์อักเสบต่อการแทรกซึมของเซลล์มะเร็ง และอาจพบการตายของเซลล์ในบางตำแหน่ง เซลล์มะเร็งสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการสร้างเส้นเลือดใหม่ (angiogenesis) และพังผืดหนา (dense

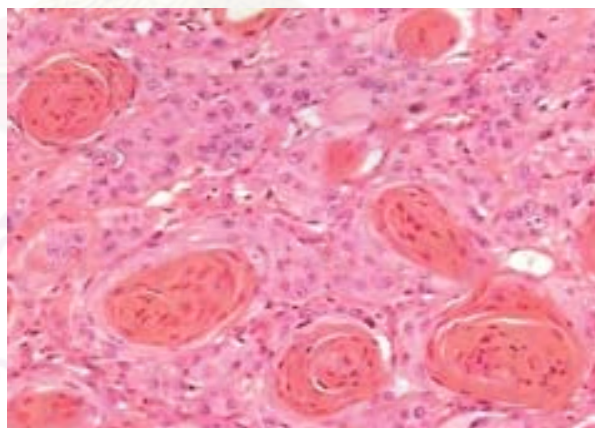
fibrosis) เป็นที่ทราบกันว่าผลผลิตของเซลล์สควอมัส คือ เคอราติน ดังนั้นในมะเร็งชนิดนี้ จึงมักพบการสร้างเคอราตินที่บริเวณกลางกลุ่มเซลล์มะเร็ง ซึ่งเรียกลักษณะนี้ว่า เคอราตินเฟิร์ด และบางครั้งเซลล์เดี่ยวๆ อาจมีการสร้างเคอราตินเฉพาะของตัวเอง (individual cell keratinization) [88]

การประเมินความรุนแรงของมะเร็งสควอมัส เซลล์ คาร์ซิโนมาจากลักษณะทางจุลพยาธิวิทยา มีหลักการประเมินดังนี้

1. ดูจากลักษณะของมะเร็งว่ามีความใกล้เคียงกับเยื่อผิวที่เป็นปกติมากน้อยเพียงใด
2. ดูจากการสร้างเคอราตินของมะเร็งว่ามีมากน้อยเพียงใด

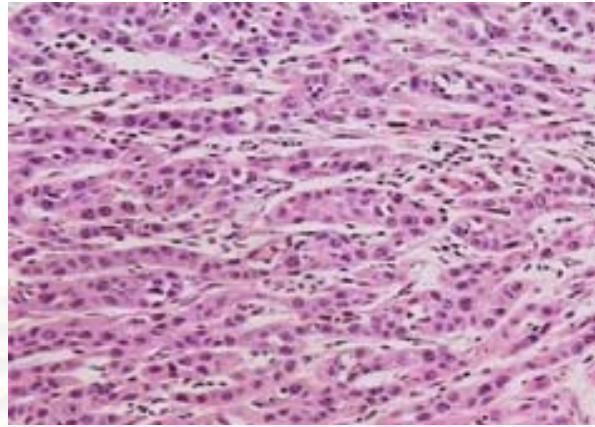
จากเกณฑ์ข้างต้น ทำให้สามารถแบ่งระดับของมะเร็งสควอมัส เซลล์ คาร์ซิโนมาออกเป็น

1. ดีฟเฟอเรนติเอชันดี (well differentiated) หรือ ระดับต่ำ (low grade) มีการสร้างเคอราตินเฟิร์ดมาก และเซลล์มะเร็งจะดูคล้ายกับเซลล์เยื่อผิวสควอมัสปกติ (ภาพที่ 13)



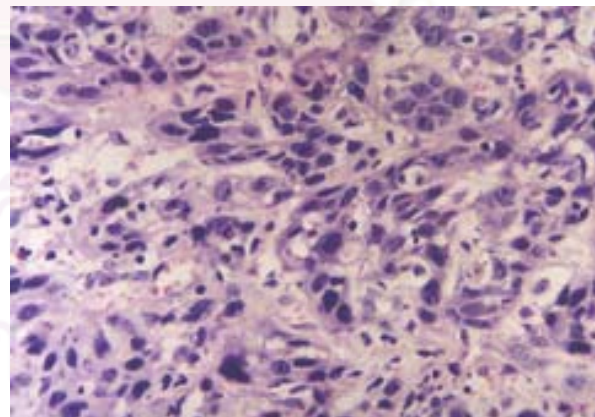
ภาพที่ 13 ลักษณะของมะเร็งสควอมัส เซลล์ คาร์ซิโนมา ระดับดีฟเฟอเรนติเอชันดี [93]

2. ดิฟเฟอเรนติเอชันปานกลาง (moderately differentiated) มีลักษณะอยู่ระหว่าง ดิฟเฟอเรนติเอชันดีกับดิฟเฟอเรนติเอชันเลว (poorly differentiated) (ภาพที่ 14)



ภาพที่ 14 ลักษณะของมะเร็งสควออมัส เซลล์ คาร์ซิโนมา ระดับดิฟเฟอเรนติเอชันปานกลาง [93]

3. ดิฟเฟอเรนติเอชันเลว หรือชนิดอนาพลาสติก (anaplastic) หรือระดับสูง (high grade) มีการสร้างเคอราตินเพียงเล็กน้อยหรือไม่พบการสร้างเคอราตินเลย และ เซลล์มะเร็งมีนิวเคลียสรูปร่างผิดปกติสูง (ภาพที่ 15)



ภาพที่ 15 ลักษณะของมะเร็งสควออมัส เซลล์ คาร์ซิโนมา ระดับดิฟเฟอเรนติเอชันเลว [93]

ตอนที่ 5 ความสัมพันธ์ระหว่างฮิวแมนแพปพิโลมาไวรัสและรอยโรคในช่องปาก

ในช่วงที่ผ่านมามีการศึกษาวิจัยถึงความสัมพันธ์ระหว่าง HPV กับรอยโรคในช่องปากด้วยวิธีการต่างๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งรอยโรคที่มีโอกาสเปลี่ยนเป็นมะเร็ง เช่น ไลเคนแพลนัส ลิวดิเพลเกีย และรอยโรคมะเร็ง เช่น มะเร็งสควอมาส เซลล์ คาร์ซิโนมาในช่องปาก ในปี พ.ศ. 2526 Syrjänen และคณะ [94] ใช้ตัวอย่างชิ้นเนื้อฝิ่งในพาราฟิน ที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นมะเร็งสควอมาส เซลล์ คาร์ซิโนมาในช่องปากที่มีลักษณะทางคลินิกแบบต่างๆ โดยใช้วิธีอิมมูโนฮิสโตเคมี พบผลบวกต่อ HPV ร้อยละ 10 ในรอยโรคชนิดแผ่นเรียบ (flat type) ร้อยละ 7.5 ในชนิดแผลถลอก (ulcerated type) และร้อยละ 22.7 ในชนิด papillomatous และในปี พ.ศ. 2533 Chang และคณะ [95] ใช้ชิ้นเนื้อฝิ่งในพาราฟินที่ได้จากผู้ป่วยชาวฟินแลนด์ ซึ่งได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นมะเร็งสควอมาส เซลล์ คาร์ซิโนมาในช่องปาก โดยใช้ปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส (polymerase chain reaction; PCR) พบ HPV DNA คิดเป็นร้อยละ 27.5 และเมื่อแยกชนิดของ HPV ด้วยวิธี อินไซตูลไฮบริไดเซชัน (in situ hybridization) โดย probe ที่จำเพาะต่อ HPV-6, HPV-11, HPV-16 และ HPV-18 พบ HPV-16 ในผู้ป่วย 10 คน และ HPV-6 และ HPV-18 อย่างละ 1 คน

ในปี พ.ศ. 2551 Soares และคณะ [96] ทำการทดลองเพื่อหา HPV DNA โดยวิธี PCR ในผู้ป่วยชาวบราซิล 33 คน ที่เป็นมะเร็งสควอมาส เซลล์ คาร์ซิโนมาในช่องปาก และเปรียบเทียบการแสดงออกของ cell-cycle markers p21 และ pRb ระหว่างกลุ่มผู้ป่วยที่มีผลบวกต่อ HPV กับกลุ่มที่ไม่พบ HPV และดูชนิดของ HPV โดยใช้วิธีดอท บลอต ไฮบริไดเซชัน (dot blot hybridization) พบว่ามีผู้ป่วยที่มีผลบวกของ HPV DNA คิดเป็นร้อยละ 33.33 และเป็น HPV-18 มากที่สุด คือร้อยละ 81.81 รองลงมาคือ HPV-16 และผลการแสดงออกของ pRb ซึ่งเป็นทูเมอร์ซัพเพรสเซอร์ โปรตีน (tumor suppressor protein) ที่มีบทบาทในการยับยั้งการแบ่งตัวมากเกินไปผิดปกติในวัฏจักรเซลล์ พบว่ามีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญกับกลุ่มที่มีผลบวกต่อ HPV แต่ไม่พบความสัมพันธ์กับ p21

จากการศึกษารอยโรคในช่องปากหลายชนิด ได้แก่ สควอมาส เซลล์ แพปพิโลมา (squamous cell papilloma) คอนไดโลมา แอควมินาทัม (condyloma accuminatum) แพปพิลารี ไฮเปอร์เพลเซีย (papillary hyperplasia) ลิวดิเพลเกีย ไลเคนแพลนัส และมะเร็งสควอมาส เซลล์ คาร์ซิโนมาในช่องปาก จากชิ้นเนื้อฝิ่งในพาราฟินจำนวน 32 ตัวอย่างจากผู้ป่วยชาวฟินแลนด์ เพื่อหา HPV-6, HPV-11 และ HPV-16 ด้วยวิธีอินไซตูลไฮบริไดเซชัน พบ HPV-6 ในทุกรอยโรค ยกเว้น ไลเคนแพลนัส และมะเร็งสควอมาส เซลล์ คาร์ซิโนมา และพบ HPV-11 ใน

สควอมัส เซลล์ แปบปีโลมา 1 คน จาก 7 คน คอนไดโลมา แอคคูมินาทัม และไลเคนแพลนัส รอยโรคละ 1 คน จาก 2 คน ส่วน HPV-16 ซึ่งเป็นชนิดที่อยู่ในกลุ่มความเสี่ยงสูง พบเฉพาะในไลเคนแพลนัสและมะเร็งสควอมัส เซลล์ คาร์ซิโนมา รอยโรคละ 1 คน จาก 2 คน [97] ต่อมาในปี พ.ศ. 2533 Greer และคณะ [98] ก็ได้ใช้วิธีเดียวกันในการศึกษา HPV DNA ในรอยโรคต่างๆ ในช่องปาก จากชิ้นเนื้อฝิ่งในพาราฟินจำนวน 206 ตัวอย่าง พบ HPV ในรอยโรคลิโวเพลเกีย ร้อยละ 7 รอยโรคดิสพลาสติก (dysplastic lesion) ร้อยละ 3 เวอร์รูคัส ไฮเปอร์เพลเซีย (verrucous hyperplasia) ร้อยละ 17 เวอร์รูคัส คาร์ซิโนมา (verrucous carcinoma) ร้อยละ 20 และมะเร็งสควอมัส เซลล์ คาร์ซิโนมาในช่องปาก ร้อยละ 6 ถัดมาในปี พ.ศ. 2534 Young และคณะ [99] ได้ศึกษาจากชิ้นเนื้อของผู้ป่วยในสหรัฐอเมริกา เพื่อหา HPV type 6/11, 16/18 และ 31/33/35 ในรอยโรคสควอมัสเซลล์ แปบปีโลมา, benign keratoses, smokeless tobacco keratoses, เวอร์รูคัส ไฮเปอร์เพลเซีย, เวอร์รูคัส คาร์ซิโนมา, มะเร็งสควอมัส เซลล์ คาร์ซิโนมา, อีพิทีเลียล ดิสเพลเซีย และไลเคนแพลนัส รวมทั้งหมด 113 ตัวอย่าง แต่พบ HPV เฉพาะในรอยโรคสควอมัส เซลล์ แปบปีโลมาเท่านั้น คิดเป็นร้อยละ 62 โดยพบ HPV-6 และ HPV-11 มากที่สุด

จากการศึกษาในประเทศอิตาลี โดย Giovannelli และคณะ [100] ในปี พ.ศ. 2545 ได้ตรวจหา HPV DNA ในเซลล์เยื่อผิวช่องปากจากผู้ป่วยซึ่งมีรอยโรคต่างๆ กัน คือ มะเร็งสควอมัส เซลล์ คาร์ซิโนมา และรอยโรคที่มีโอกาสเปลี่ยนเป็นมะเร็งในช่องปากที่ใช้ในการศึกษา ได้แก่ ลิโวเพลเกีย ไลเคนแพลนัส และรอยแผลถลอกชนิดไม่ร้ายแรง (benign erosive ulceration lesion) เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม โดยใช้วิธี PCR และตรวจหาจีโนไทป์โดยใช้วิธี DNA sequencing พบว่ามี HPV DNA ในทุกรอยโรค แต่มีเฉพาะมะเร็งสควอมัส เซลล์ คาร์ซิโนมา ในช่องปาก และรอยโรคที่มีโอกาสเปลี่ยนเป็นมะเร็งในช่องปากเท่านั้นที่มีความสัมพันธ์กับ HPV อย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งพบ HPV-18 มากที่สุด คิดเป็นร้อยละ 86.5 ของจำนวนผู้ป่วยที่พบ HPV ทั้งหมด นอกจากนั้นกลุ่มที่พบเขี่ยสัมพันธ์กับอายุ การสูบบุหรี่ และการดื่มเครื่องดื่มแอลกอฮอล์อีกด้วย ต่อมาในปี พ.ศ. 2547 Campisi และคณะ [101] ได้สรุปผลจากการศึกษาในผู้ป่วยชาวอิตาลีเช่นเดียวกัน โดยตรวจหา HPV DNA ในรอยโรคลิโวเพลเกีย โดยแบ่งเป็น 2 กลุ่มตามลักษณะทางคลินิก คือชนิด Homogeneous และ Non-homogeneous และรอยโรคไลเคนแพลนัส 2 ลักษณะ คือชนิด Non-atrophic/erosive และชนิด atrophic/erosive เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม พบว่าเฉพาะกลุ่มที่มีรอยโรคเท่านั้นที่มีความสัมพันธ์กับ HPV และยังพบความสัมพันธ์ของการพบ HPV ในกลุ่มผู้ป่วยที่สูบบุหรี่อีกด้วย แต่ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่าง

ลักษณะทางคลินิกแต่ละประเภทของรอยโรคกับเชื้อที่ตรวจพบ โดย HPV-18 เป็นชนิดที่พบบากที่สุด ส่วนชนิดอื่นๆ ที่พบรองลงมาตามลำดับ คือ HPV-16, HPV-33, HPV-31 และ HPV-6

การศึกษาของ Jontell และคณะ [102] เมื่อปี พ.ศ. 2533 ได้ตรวจหา HPV-6, HPV-11, HPV-16 และ HPV-18 ในรอยโรคไลเคนแพลนัสชนิดแผลถลอกจากผู้ป่วยจำนวน 20 คน ในประเทศสวีเดน โดยใช้วิธีซาท์เทิร์น บลอต ไฮบริไดเซชัน (southern blot hybridization) ปรากฏว่าพบเฉพาะ HPV-11 และเมื่อตรวจด้วยวิธี PCR พบ HPV-11 มากที่สุด รองลงมาคือ HPV-6 และ HPV-16 ตามลำดับ แต่ไม่พบ HPV-18

เมื่อปี พ.ศ. 2547 Lazzari และคณะ [103] ได้ตรวจหา HPV จากผู้ป่วยในประเทศบราซิลที่มีรอยโรคซึ่งมีลักษณะเป็นลิวดิเพลเกีย และไลเคนแพลนัสชนิดแผลถลอก ชนิดตั้งยื่น (exophytic) และชนิดไฮเปอร์เพลเซีย (hyperplasia) โดยใช้วิธี PCR พบว่าให้ผลบวกเพียง 9 คนจากผู้ป่วยทั้งหมด 80 คน คิดเป็น ร้อยละ 11.3

เมื่อพิจารณาจากการศึกษาในแถบทวีปเอเชีย พบว่า มีการศึกษาในประเทศญี่ปุ่น เมื่อปี พ.ศ. 2546 Sugiyama และคณะ [104] ได้ศึกษาความสัมพันธ์ของ HPV-16 และ HPV-18 ในรอยโรคอีพิทีเลียล ดิสเพลเซีย และมะเร็งสคออม่ัส เซลล์ คาร์ซิโนมาในช่องปาก เปรียบเทียบกับกลุ่มเนื้อเยื่อปกติ โดยใช้วิธี PCR พบ HPV-16 ในรอยโรคอีพิทีเลียล ดิสเพลเซีย สูงกว่าในมะเร็งสคออม่ัส เซลล์ คาร์ซิโนมาในช่องปาก และกลุ่มปกติอย่างมีนัยสำคัญ และยังพบด้วยว่าในรายที่เป็นอีพิทีเลียล ดิสเพลเซีย แล้วมีการเปลี่ยนแปลงไปเป็นมะเร็งมี HPV-16 สูงกว่าในรายที่ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้ยังพบ HPV-16 และ HPV-18 เฉพาะในระยะเริ่มแรกของมะเร็งสคออม่ัส เซลล์ คาร์ซิโนมาในช่องปากเท่านั้น ผู้ทำการศึกษายังได้สรุปว่า HPV-16 อาจมีความสัมพันธ์กับการเกิดมะเร็งในระยะเริ่มต้น และในปี พ.ศ. 2551 Ali และคณะ [105] ได้ศึกษาเพื่อประเมินความชุก และชนิดของ HPV ที่เกิดในกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งสคออม่ัส เซลล์ คาร์ซิโนมาในช่องปากของประชากรปากีสถาน โดยใช้วิธี PCR พบ HPV ร้อยละ 68 และในจำนวนนี้พบว่าเป็น HPV-16 ร้อยละ 90 เพศชายมีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญกับการพบ HPV และเมื่อติดตามอัตราการมีชีวิตรอดของผู้ป่วยที่พบผลบวกและผลลบต่อ HPV ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างสองกลุ่ม

จากการที่มีการศึกษาเกี่ยวกับ HPV มาหลากหลาย Termine และคณะ [106] ในปี พ.ศ. 2551 ได้รวบรวมข้อมูลผลการศึกษาเกี่ยวกับ HPV ในมะเร็งสคออม่ัส เซลล์ คาร์ซิโนมาในช่องปากเปรียบเทียบกับที่พบในมะเร็งสคออม่ัส เซลล์ คาร์ซิโนมาบริเวณศีรษะและลำคอ ตั้งแต่ปี

พ.ศ. 2531-2550 พบว่า อัตราการพบ HPV DNA ในรอยโรคทั้ง 2 ชนิด คือ ร้อยละ 34.5 โดยพบในมะเร็งสคออม่ส เซลล์ คาร์ซิโนมาในช่องปาก ร้อยละ 38.1 และที่ศีรษะและลำคอ พบร้อยละ 24.1 เมื่อดูที่วิธีในการตรวจหา HPV DNA วิธี PCR มีอัตราการใช้สูงกว่าวิธีอื่น ไซโต ไฮบริโดเซชัน ในทั้งสองกลุ่มรอยโรค

ในปี พ.ศ. 2539 Miller และคณะ [107] ได้รวบรวมข้อมูลย้อนหลังถึงการแสดงออกของ HPV ในเนื้อเยื่อช่องปากปกติ และรอยโรคต่างๆ ในช่องปาก พบ HPV ในเนื้อเยื่อช่องปากปกติร้อยละ 13.5 ลิโคเพลเกีย ร้อยละ 14.8 อีพิทีเลียล ดิสเพลเซีย ร้อยละ 18.5 มะเร็งสคออม่ส เซลล์ คาร์ซิโนมา ร้อยละ 26.2 และ เวอร์รุคัส คาร์ซิโนมา ร้อยละ 27 ตามลำดับ โดยวิธีที่ใช้ทำการตรวจหาเชื้อในมะเร็งสคออม่ส เซลล์ คาร์ซิโนมาในช่องปาก พบว่าเป็น assay ที่มีความไวสูง (high sensitivity) ได้แก่ วิธี PCR มากกว่า assay ที่มีความไวปานกลาง (moderate sensitivity) เช่น เซาท์เทิร์น บลอต ไฮบริโดเซชัน และ assay ที่มีความไวต่ำ (low sensitivity) เช่น อิมมูโนฮิสโตเคมี อื่น ไซโต ไฮบริโดเซชัน และยังสำรวจพบว่ามีการใช้ชิ้นเนื้อแช่แข็งของมะเร็งสคออม่ส เซลล์ คาร์ซิโนมาในช่องปากมากกว่าชิ้นเนื้อฝังในพาราฟินอย่างมีนัยสำคัญ และในมะเร็งสคออม่ส เซลล์ คาร์ซิโนมาในช่องปาก พบ HPV กลุ่มความเสี่ยงสูง คิดเป็นร้อยละ 81.4 มากกว่ากลุ่มความเสี่ยงต่ำ ซึ่งพบเพียงร้อยละ 17.9 อย่างมีนัยสำคัญ และถัดมาในปี พ.ศ. 2544 [108] ได้ศึกษาข้อมูลเกี่ยวกับ HPV ในรอยโรคต่างๆ ในช่องปาก ซึ่งมีความเสี่ยงที่จะเปลี่ยนเป็นมะเร็งได้ โดยรวบรวมข้อมูลตั้งแต่ปี พ.ศ. 2525-2540 ซึ่งพบข้อสรุปในแนวทางเดียวกันคือ พบ HPV ในเนื้อเยื่อช่องปากปกติน้อยกว่าในรอยโรคลิโคเพลเกีย อีพิทีเลียล ดิสเพลเซีย เวอร์รุคัส คาร์ซิโนมา และมะเร็งสคออม่ส เซลล์ คาร์ซิโนมาในช่องปาก ตามลำดับอย่างมีนัยสำคัญ โดยพบในรอยโรคที่มีโอกาสเปลี่ยนเป็นมะเร็งในช่องปากมากกว่าเนื้อเยื่อปกติ 2-3 เท่า และพบในมะเร็งสคออม่ส เซลล์ คาร์ซิโนมาในช่องปากมากกว่าเนื้อเยื่อปกติ 4.7 เท่า โดยเป็น HPV กลุ่มความเสี่ยงสูงมากกว่ากลุ่มความเสี่ยงต่ำ 2.8 เท่า

แม้ว่าที่ผ่านมามีการศึกษาถึงความสัมพันธ์ของการติดเชื้อ HPV กับรอยโรคในช่องปากยังไม่ชัดเจน เนื่องจากความหลากหลายในชนิดของ HPV ที่พบ ความชุกในแต่ละพื้นที่ ประชากรที่ศึกษา ความแตกต่างของวิธีที่ใช้ในการตรวจหา วิธีการเก็บตัวอย่างจากในช่องปาก และรอยโรคชนิดต่างๆ ในช่องปากที่พบการติดเชื้อ จึงเป็นเรื่องน่าสนใจที่จะทำการศึกษาความสัมพันธ์ของ HPV ในรอยโรคในช่องปากของผู้ป่วยไทย ซึ่งยังมีข้อมูลที่จำกัด ความรู้ที่ได้จากการศึกษานี้สามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานนำไปพัฒนาทั้งด้านงานวิจัย และการตรวจวินิจฉัยผู้ป่วยต่อไปในอนาคต

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

ประชากรที่ศึกษา

การศึกษานี้ใช้ชิ้นเนื้อตัวอย่างแบ่งเป็น 3 กลุ่ม คือ

1. กลุ่มที่ทำการศึกษา ประกอบด้วยชิ้นเนื้อฝังในพาราฟินของรอยโรคต่างๆ ได้แก่
 - ไลเคนแพลนัส จำนวน 60 ตัวอย่าง
 - อีพิทีเลียล ดิสเพลเซีย จำนวน 30 ตัวอย่าง
 - มะเร็งสควอมีส เซลล์ คาร์ซิโนมา จำนวน 30 ตัวอย่าง

ชิ้นเนื้อทั้งหมดได้รับการวินิจฉัยทางจุลพยาธิวิทยาจากภาควิชาทันตพยาธิวิทยา

คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2543 – 2553

2. กลุ่มควบคุม เป็นชิ้นเนื้อปกติซึ่งได้จากผู้ป่วยที่มารับการถอนฟัน และผ่าฟันคุด ที่ภาควิชา ศัลยศาสตร์ช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย จำนวน 20 ตัวอย่าง
3. กลุ่มควบคุมผลบวก เป็นชิ้นเนื้อฝังในพาราฟินของมะเร็งปากมดลูก ซึ่งได้รับการวินิจฉัยทางจุลพยาธิวิทยาจากคณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ศูนย์วิทยุทันตวิทยา
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปัญหาทางจริยธรรม

งานวิจัยนี้มีการใช้ชิ้นเนื้อฝังในพาราฟินของผู้ป่วย ซึ่งได้มีการขออนุมัติใช้ชิ้นเนื้อฝังในพาราฟินของผู้ป่วยซึ่งเคยมารับการตรวจรักษารอยโรคในช่องปาก และได้รับการตัดชิ้นเนื้อส่งตรวจซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของการให้การวินิจฉัยจากภาควิชาทันตพยาธิวิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และขออนุมัติใช้ชิ้นเนื้อฝังในพาราฟินของรอยโรคมะเร็งปากมดลูก ซึ่งได้รับการวินิจฉัยทางจุลพยาธิวิทยาจากคณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ชิ้นเนื้อปกติได้จากอาสาสมัครซึ่งเป็นผู้ป่วยที่ได้มาการรักษาที่ต้องมีการตัดแต่งเนื้อเยื่อเพื่อการรักษาอยู่แล้ว เช่น การถอนฟัน การผ่าฟันคุด จึงไม่เป็นอันตรายแก่ผู้ป่วยเพิ่มเติมแต่อย่างใด ทั้งนี้ผู้ป่วยที่เข้าร่วมการศึกษาวินิจฉัยครั้งนี้ จะได้รับคำชี้แจงและลงนามในใบยินยอมเข้าร่วมการศึกษาคั้งนี้ด้วยความสมัครใจ ซึ่งการวิจัยนี้ได้รับการอนุมัติโดยไม่มีเงื่อนไขจากที่ประชุมคณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในการประชุมครั้งที่ 5/2553 วันที่ 13 กรกฎาคม พ.ศ. 2553

วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

1. วัสดุอุปกรณ์

- 1) เครื่องตรวจย้อมทางอิมมูโนฮิสโตเคมีชนิดอัตโนมัติ (Benchmark XT, Ventana, USA)
- 2) เครื่อง microtome (RM 2255; Leica, Germany)
- 3) ตู้เย็นรักษาอุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส
- 4) ตู้เย็นรักษาอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส
- 5) เครื่องอบสไลด์ (Memmert, Germany)
- 6) กล้องจุลทรรศน์ชนิดใช้แสงขาวและบันทึกภาพได้ (Leica DM1000 LED, Leica microsystem Inc., Germany)
- 7) สไลด์แก้ว (glass slide) รุ่น Superfrost® plus (Menzel-Glaser, Germany)

- 8) แผ่นแก้วปิดสไลด์ (cover slip) (Menzel-Glaser, Germany)
- 9) กล้องเก็บสไลด์
- 10) เครื่องดูดจ่ายสารละลายชนิดปรับปริมาตรได้ (automatic micropipette) ในช่วง ปริมาตร 1-1,000 ไมโครลิตร
- 11) นาฬิกาจับเวลา
- 12) อุปกรณ์เบ็ดเตล็ด เช่น ปิเปต เทปติดฉลาก ฝ้ายก๊อช กระดาษซับ และอื่นๆ

2. น้ำยาและสารเคมี

- 1) 10% formalin
- 2) EZ Prep
- 3) oil coverslip
- 4) Reaction buffer
- 5) SSC buffer
- 6) EDTA buffer pH 8
- 7) Mouse monoclonal antibody (CamVir-1) to HPV16 L1 (ab69; Abcam, UK)
- 8) Antibody Dilution Buffer (Ventana, USA)
- 9) UltraView™ DAB ประกอบด้วย
 - UltraView Inhibitor
 - UltraView Multimer Ig
 - UltraView DAB Chromogen
 - UltraView H₂O₂

- UltraView Copper

- 10) สีย้อมฮีมาทอกไซลีน (Modified Mayer's Hematoxylin, Ventana, USA)
- 11) Bluing reagent
- 12) Absolute alcohol
- 13) xylene
- 14) mounting media (CONSUL-MOUNT[®] Cytology Formulation, Shandon, Thermo Scientific, UK)

วิธีการศึกษา

การตรวจด้วยวิธีทางอิมมูโนฮิสโตเคมี

1. ตัดชิ้นเนื้อที่ความหนา 2 ไมครอน ติดบนสไลด์แก้วที่สะอาดชนิดเคลือบด้วยประจุบวกแล้ว (Superfrost[®] plus; Menzel-Glaser, Germany)
2. นำตัวอย่างชิ้นเนื้อที่ได้ตัดและวางบนแผ่นสไลด์แก้ว อบอุ่นด้วยเครื่องอบสไลด์อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ทิ้งไว้ข้ามคืน
3. จัดสไลด์แก้วออกเป็น 5 กลุ่ม คือ กลุ่มทดลองซึ่งเป็นชิ้นเนื้อไลเคนแพลนัส อีพิทีเลียล ดิสเพลเซีย และมะเร็งสควอมาส เซลล์ คาร์ซิโนมาในช่องปาก กลุ่มควบคุมใช้เนื้อเยื่อปกติในช่องปาก และกลุ่มควบคุมผลบวกใช้ชิ้นเนื้อมะเร็งปากมดลูก
4. นำสไลด์ผ่านกระบวนการทางอิมมูโนฮิสโตเคมีด้วยเครื่องตรวจย้อมทางอิมมูโนฮิสโตเคมีชนิดอัตโนมัติ (Benchmark XT, Ventana, USA) ซึ่งมีขั้นตอน ดังนี้
 - 1) กำจัดพาราฟินและแทนที่น้ำในชิ้นเนื้อบนแผ่นสไลด์ด้วย EZ Prep (สารประกอบไฮโดรคาร์บอน) ร่วมกับการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส
 - 2) ล้างด้วย Reaction buffer ร่วมกับ SSC buffer และปิดด้วย oil coverslip

- 3) ทำการแช่ตำแหน่งการจดจำของแอนติเจนบนสายโปรตีน (antigen retrieval) โดยใช้โปรแกรม mild CC1 (EDTA buffer pH 8) ร่วมกับการให้ความร้อน อุณหภูมิ 95-100 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที
- 4) ล้างด้วย Reaction buffer ร่วมกับ SSC buffer และปิดด้วย oil coverslip
- 5) หยด UltraView Inhibitor ซึ่งเป็น 1% ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Hydrogen peroxide) เป็นเวลา 4 นาที เพื่อยับยั้งการติดสีของ endogenous peroxidase
- 6) หยดแอนติบอดีปฐมภูมิ (primary antibody) ซึ่งในการศึกษานี้ใช้แอนติบอดีต่อโปรตีน L1 ของ Human Papillomavirus type 16 (CamVir-1) Mouse monoclonal antibody (Abcam, UK) ความเข้มข้น 1.1 mg/ml นำมาเจือจางใน Antibody Dilution buffer (Ventana, USA) อัตราส่วน 1:3,500 ลงบนชิ้นเนื้อตัวอย่าง อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 60 นาที
- 7) หยดแอนติบอดีทุติยภูมิ (secondary antibody) ซึ่งเป็นชุด UltraView Multimer Ig เป็นเวลา 8 นาที เพื่อทำปฏิกิริยากับแอนติบอดีปฐมภูมิ และป้องกันการจับกันอย่างไม่จำเพาะระหว่างแอนติบอดีกับส่วนประกอบอื่นๆ ของเนื้อเยื่อ โดยในชุดประกอบด้วย
 - Goat anti-Mouse IgG
 - Goat anti- Mouse IgM
 - Goat anti-Rabbit IgG
 - Protein block (goat serum และ casein)
- 8) หยด UltraView DAB Chromogen เป็นเวลา 8 นาที
- 9) หยด UltraView H₂O₂ เป็นเวลา 8 นาที ซึ่งเป็น substrate ที่กระตุ้นให้เกิดปฏิกิริยาระหว่าง chromogen และ horse radish peroxidase (HRPO) ซึ่งติดอยู่กับแอนติบอดีทุติยภูมิ ให้เกิดเป็นสีน้ำตาล
- 10) หยด UltraView Copper เป็นเวลา 4 นาที เพื่อเพิ่มความเข้มของสีน้ำตาลของปฏิกิริยา DAB ให้ชัดเจนยิ่งขึ้น

- 11) นำมาย้อมทับ (counterstain) ด้วยสีอีมาทอกไซลีน (Modified Mayer's Hematoxylin) เป็นเวลา 4 นาที
- 12) ย้อมทับอีกครั้ง (post counterstain) ด้วย Bluing reagent (Li_2CO_3 0.1 M, Na_2CO_3 0.5 M)
- 13) นำสไลด์ไปทำการดึ่งน้ำออกจากเนื้อเยื่อ โดยจุ่มลงใน absolute alcohol และ xylene อย่างละ 2 ครั้ง
- 14) ปิดด้วย cover slip

การประเมินการติดสี

นำสไลด์ที่ได้มาทำการประเมินปริมาณของการติดสี โดยอ่านผลและบันทึกข้อมูลด้วยการถ่ายภาพจากกล้องจุลทรรศน์ชนิดแสงขาว โดยมีเกณฑ์ ดังนี้

1. การเลือกตำแหน่งขึ้นเนื้อที่นับเซลล์

ตำแหน่งขึ้นเนื้อที่จะนับเซลล์ คือ บริเวณชั้นเยื่อบุผิวของขึ้นเนื้อ สไลด์ละ 3 ตำแหน่ง ได้แก่ ด้านซ้ายสุด กึ่งกลาง และขวาสุดของสไลด์ และทำการถ่ายภาพที่ กำลังขยาย 400 เท่า

2. การนับจำนวนเซลล์ที่ให้ผลบวกต่อ HPV-16L1 ในเนื้อเยื่อ

การแสดงผลของเซลล์ที่ให้ผลบวกทางอิมมูโนฮิสโตเคมีต่อ HPV-16L1 คือเซลล์ที่ติดสีน้ำตาลบริเวณนิวเคลียส (nucleus) และ/หรือ ไซโตพลาสซึม (cytoplasm) โดยทำการนับซ้ำ 2 ครั้ง โดยผู้ทดสอบ 2 คน แล้วหารเฉลี่ย

การวิเคราะห์ข้อมูลและสถิติที่ใช้ในการวิจัย

การทดสอบทางสถิติใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูปเอสพีเอสเอส (SPSS) รุ่น 17 ในการวิเคราะห์ โดยใช้สถิติเชิงพรรณนา (descriptive statistic) อธิบายข้อมูลพื้นฐานทั่วไปของผู้ป่วย จำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของ HPV-16 ร้อยละจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของ HPV-16 ต่อจำนวนเซลล์เยื่อบุผิวทั้งหมด เฉลี่ยในแต่ละกลุ่มตัวอย่าง

เปรียบเทียบความแตกต่างของอายุเฉลี่ยในแต่ละกลุ่มตัวอย่าง โดยใช้สถิติ One-Way ANOVA

ทดสอบความสัมพันธ์ระหว่างเพศกับกลุ่มตัวอย่าง เพศกับการตรวจพบ HPV-16 ชนิดของรอยโรคไลเคนแพลนัสกับการตรวจพบ HPV-16 ลักษณะทางคลินิกและระดับความรุนแรงของรอยโรคอีพิทีเลียล ดิสเพลเซียกับการตรวจพบ HPV-16 กลุ่มตัวอย่างกับผลการตรวจพบ HPV-16 และกลุ่มตัวอย่างกับตำแหน่งของการติดสีในเซลล์เยื่อบุผิว โดยใช้สถิติ Chi-Square

เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยร้อยละของเซลล์ที่ให้ผลบวกต่อ HPV-16 ในแต่ละกลุ่มตัวอย่างโดยใช้สถิติ Kruskal-Wallis ที่ระดับความเชื่อมั่น $p < 0.05$ และ ใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป StatsDirect เพื่อทดสอบ Multiple comparison โดยวิธีของ Conover/Inman

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 4

ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

ลักษณะทั่วไปของกลุ่มตัวอย่าง

จำนวน เพศ และอายุ ของกลุ่มตัวอย่างที่นำมาทำการศึกษา

ชั้นเนื้อฝิ่งในพาราฟินของรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปาก จำนวน 60 ตัวอย่าง ได้มาจากผู้ป่วยซึ่งเป็นเพศหญิง 43 ราย (ร้อยละ 71.7) และเพศชาย 17 ราย (ร้อยละ 28.3) คิดเป็นอัตราส่วนหญิง : ชาย ประมาณ 2.5 : 1 โดยมีอายุเฉลี่ย 45.80 ± 12.00 ปี (ค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน) มีช่วงอายุอยู่ระหว่าง 19-71 ปี

ชั้นเนื้อฝิ่งในพาราฟินของรอยโรคอีพิทีเลียล ดิสเพลเซียในช่องปาก จำนวน 30 ตัวอย่าง ได้มาจากผู้ป่วยซึ่งเป็นเพศหญิง 15 ราย (ร้อยละ 50.0) และเพศชาย 15 ราย (ร้อยละ 50.0) คิดเป็นอัตราส่วนหญิง : ชาย เท่ากับ 1 : 1 โดยมีอายุเฉลี่ย 55.77 ± 12.58 ปี (ค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน) มีช่วงอายุอยู่ระหว่าง 28-77 ปี

ชั้นเนื้อฝิ่งในพาราฟินของมะเร็งสควอมีส เซลล์ คาร์ซิโนมาในช่องปาก จำนวน 34 ตัวอย่าง ได้มาจากผู้ป่วยซึ่งเป็นเพศหญิง 14 ราย (ร้อยละ 46.7) และเพศชาย 16 ราย (ร้อยละ 53.3) คิดเป็นอัตราส่วนหญิง : ชาย ประมาณ 1 : 1.1 โดยมีอายุเฉลี่ย 59.77 ± 12.58 ปี (ค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน) มีช่วงอายุอยู่ระหว่าง 33-80 ปี

กลุ่มควบคุม ซึ่งมีเนื้อเยื่อปกติ จำนวน 20 ราย เป็นเพศหญิง 13 ราย (ร้อยละ 65.0) และเพศชาย 7 ราย (ร้อยละ 35.0) คิดเป็นอัตราส่วนหญิง : ชาย ประมาณ 2 : 1 โดยมีอายุเฉลี่ย 24.65 ± 7.56 ปี (ค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน) มีช่วงอายุอยู่ระหว่าง 16-43 ปี

ข้อมูลทั้งหมดแสดงดังตารางที่ 2

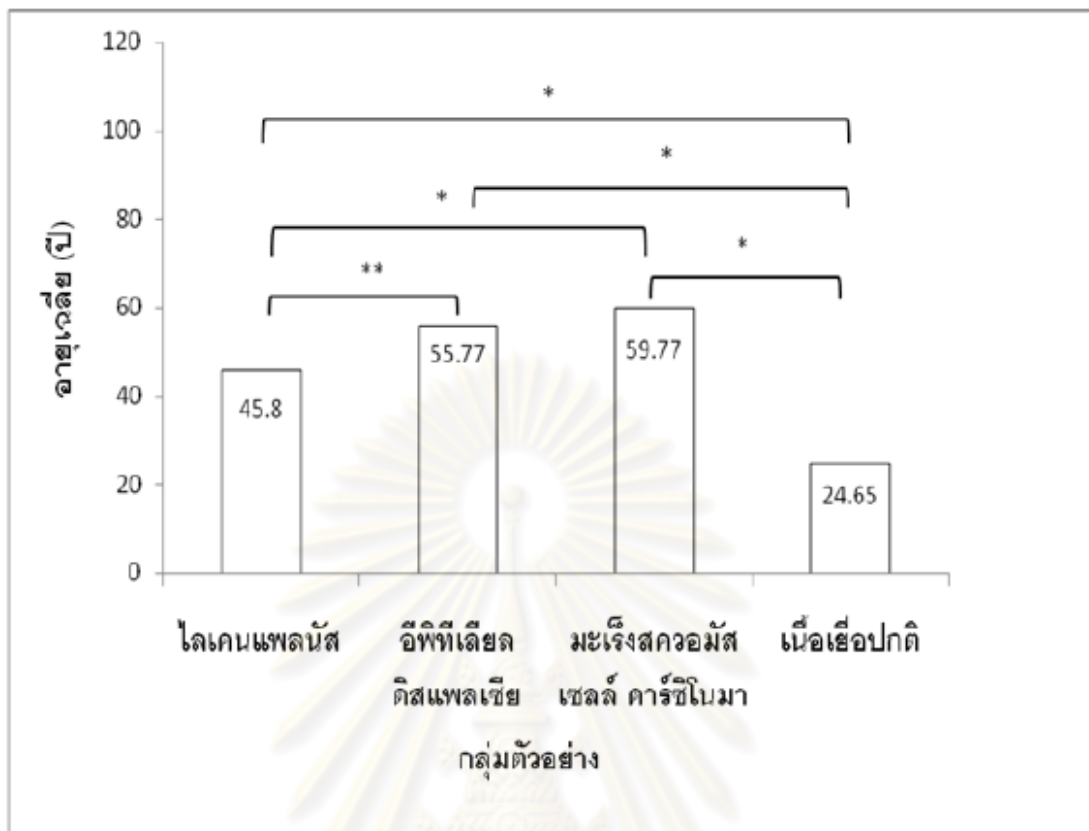
ตารางที่ 2 การเปรียบเทียบจำนวน เพศ และอายุ ของกลุ่มตัวอย่าง

กลุ่มตัวอย่าง	ไลเคนแพลนัส	อีพิทีเลียล ดิสเพลเซีย	มะเร็งสควอมีด เซลล์ คาร์ซิโนมา	กลุ่มควบคุม (เนื้อเยื่อปกติ)
จำนวนตัวอย่าง	60	30	30	20
เพศ				
- หญิง	43 (ร้อยละ 71.7)	15 (ร้อยละ 50.0)	14 (ร้อยละ 46.7)	13 (ร้อยละ 65.0)
- ชาย	17 (ร้อยละ 28.3)	15 (ร้อยละ 50.0)	16 (ร้อยละ 53.3)	7 (ร้อยละ 35.0)
อัตราส่วน หญิง : ชาย	2.5 : 1	1 : 1	1 : 1.1	2 : 1
อายุเฉลี่ย	45.80 ± 12.00	55.77 ± 12.58	59.77 ± 12.58	24.65 ± 7.56
ช่วงอายุ	19 - 71	28 - 77	33 - 80	16 - 43

เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยอายุระหว่างกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุม โดยสถิติที่ใช้ทดสอบคือ One-Way ANOVA พบว่า มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.001$) ระหว่างกลุ่มควบคุม (เนื้อเยื่อปกติ) กับกลุ่มทดลองทั้ง 3 กลุ่ม ได้แก่ ไลเคนแพลนัส อีพิทีเลียล ดิสเพลเซีย และมะเร็งสควอมีด เซลล์ คาร์ซิโนมา

อายุเฉลี่ยในกลุ่มมะเร็งสควอมีด เซลล์ คาร์ซิโนมาแตกต่างจากกลุ่มไลเคนแพลนัสอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.001$) และอายุเฉลี่ยในกลุ่มอีพิทีเลียล ดิสเพลเซียแตกต่างจากกลุ่มไลเคนแพลนัสอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.001$) ดังแสดงในภาพที่ 16

โดยกลุ่มมะเร็งสควอมีด เซลล์ คาร์ซิโนมามีอายุเฉลี่ยมากที่สุด รองลงมาคือ กลุ่มอีพิทีเลียล ดิสเพลเซีย กลุ่มไลเคนแพลนัส และกลุ่มเนื้อเยื่อปกติ ตามลำดับ



ภาพที่ 16 แผนภูมิรูปภาพแสดงการเปรียบเทียบอายุเฉลี่ยของผู้ป่วยในแต่ละกลุ่มตัวอย่าง

หมายเหตุ * $p < 0.001$, ** $p = 0.001$

เมื่อเปรียบเทียบในเรื่องเพศในแต่ละกลุ่มตัวอย่าง พบว่า กลุ่มไลเคนแพลนัส มีเพศหญิงมากกว่าเพศชาย กลุ่มอีพิทีเลียล ดิสเพลเซียมีจำนวนเพศหญิงเท่ากับเพศชาย กลุ่มมะเร็งสควอมีต เซลล์ คาร์ซิโนมามีเพศชายมากกว่าเพศหญิง และกลุ่มควบคุมเป็นเพศหญิงมากกว่าเพศชาย

เมื่อใช้สถิติ Chi-square เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างเพศกับกลุ่มตัวอย่างที่นำมาศึกษา พบว่า เพศไม่มีความสัมพันธ์กับกลุ่มตัวอย่าง และเมื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างเพศกับผลการตรวจพบ HPV-16 พบว่า เพศไม่มีความสัมพันธ์กับผลการตรวจพบ HPV-16

ลักษณะทางคลินิกและชนิดของรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปาก

ขึ้นเนื้อตัวอย่างที่นำมาทำการศึกษาในครั้งนี้เป็นไลเคนแพลนัส 3 ชนิด คือ ชนิด ร้างแห ชนิดผ่อลิบ และชนิดแผลถลอก โดยการวินิจฉัยด้วยลักษณะทางคลินิก ดังตารางที่ 3 อย่างไรก็ตาม ลักษณะทางคลินิกที่พบในทุกุรอยโรคมีลายเส้นสีขาวร่วมด้วยเสมอ

ตารางที่ 3 การเปรียบเทียบชนิดของรอยโรคไลเคนแพลนัสกับผลการพบ HPV-16

การตรวจพบ HPV-16	ชนิดของรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปาก			จำนวนทั้งหมด
	ร้างแห	ผ่อลิบ	แผลถลอก	
ไม่พบ HPV-16	0	35	9	44
พบ HPV-16	1	12	3	16
จำนวนทั้งหมด	1	47	12	60

เมื่อใช้สถิติ Chi-square เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างชนิดของรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปากกับผลการพบ HPV-16 พบว่า ชนิดของรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปากไม่มีความสัมพันธ์กับการพบ HPV-16

ลักษณะทางคลินิกและระดับความรุนแรงของรอยโรคอีพิทีเลียล ดิสเพลเซีย

ขึ้นเนื้ออีพิทีเลียล ดิสเพลเซียที่นำมาศึกษา มีลักษณะทางคลินิก 3 รูปแบบ คือ รอยโรคสีขาว รอยโรคสีแดง และรอยโรคสีขาวร่วมกับสีแดง โดยพบว่ามีลักษณะเป็นรอยโรคสีขาวร่วมกับสีแดงมากที่สุด 15 ตัวอย่าง รองลงมา คือ รอยโรคสีขาว 9 ตัวอย่าง และรอยโรคสีแดง 6 ตัวอย่าง

เมื่อพิจารณาระดับความรุนแรงของรอยโรคอีพิทีเลียล ดิสเพลเซียพบว่า จากขึ้นเนื้อตัวอย่าง 30 ชิ้น เป็นอีพิทีเลียล ดิสเพลเซียระดับไม่รุนแรงมากที่สุด คือ 15 ตัวอย่าง รองลงมา คือ ระดับปานกลาง 9 ตัวอย่าง และระดับรุนแรง 6 ตัวอย่าง ตามลำดับ ดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 เปรียบเทียบลักษณะทางคลินิกกับระดับความรุนแรงของรอยโรคอีพีทีที่เลียล ดิสแพลเซีย

ลักษณะทาง คลินิก	ระดับความรุนแรงของรอยโรคอีพีทีที่เลียล ดิสแพลเซีย			จำนวนทั้งหมด
	ไม่รุนแรง	ปานกลาง	รุนแรง	
รอยขาว	5	2	2	9
รอยแดง	4	2	0	6
รอยขาวร่วมกับ รอยแดง	6	5	4	15
จำนวนทั้งหมด	15	9	6	30

เมื่อใช้สถิติ Chi-square เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างระดับความรุนแรงและลักษณะทางคลินิกของรอยโรคอีพีทีที่เลียล ดิสแพลเซีย พบว่า ระดับความรุนแรงไม่มีความสัมพันธ์กับลักษณะทางคลินิกของรอยโรคอีพีทีที่เลียล ดิสแพลเซีย

เมื่อใช้สถิติ Chi-square เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างระดับความรุนแรงของรอยโรคอีพีทีที่เลียล ดิสแพลเซียกับผลการตรวจพบ HPV-16 ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่าง HPV-16 กับระดับความรุนแรงของรอยโรคอีพีทีที่เลียล ดิสแพลเซีย ดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 การเปรียบเทียบระดับความรุนแรงของรอยโรคอีพีทีที่เลียล ดิสแพลเซียกับผลการตรวจพบ HPV-16

การตรวจพบ HPV-16	ระดับความรุนแรงของรอยโรคอีพีทีที่เลียล ดิสแพลเซีย			จำนวนทั้งหมด
	ไม่รุนแรง	ปานกลาง	รุนแรง	
ไม่พบ HPV-16	3	2	3	8
พบ HPV-16	12	7	3	22
จำนวนทั้งหมด	15	9	6	30

เมื่อใช้สถิติ Chi-square เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะทางคลินิกของรอยโรคอีพิทีเลียล ดิสเพลเซียกับผลการตรวจพบ HPV-16 พบว่า ลักษณะทางคลินิกของรอยโรคอีพิทีเลียล ดิสเพลเซียไม่มีความสัมพันธ์กับผลการตรวจพบ HPV-16 ดังตารางที่ 6

ตารางที่ 6 การเปรียบเทียบลักษณะทางคลินิกของรอยโรคอีพิทีเลียล ดิสเพลเซียกับผลการตรวจพบ HPV-16

การตรวจพบ HPV-16	ลักษณะทางคลินิกของรอยโรคอีพิทีเลียล ดิสเพลเซีย			จำนวนทั้งหมด
	รอยขาว	รอยแดง	รอยขาวร่วมกับรอยแดง	
ไม่พบ HPV-16	1	1	6	8
พบ HPV-16	8	5	9	22
จำนวนทั้งหมด	9	6	15	30

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ผลการตรวจทางอิมมูโนฮิสโตเคมี

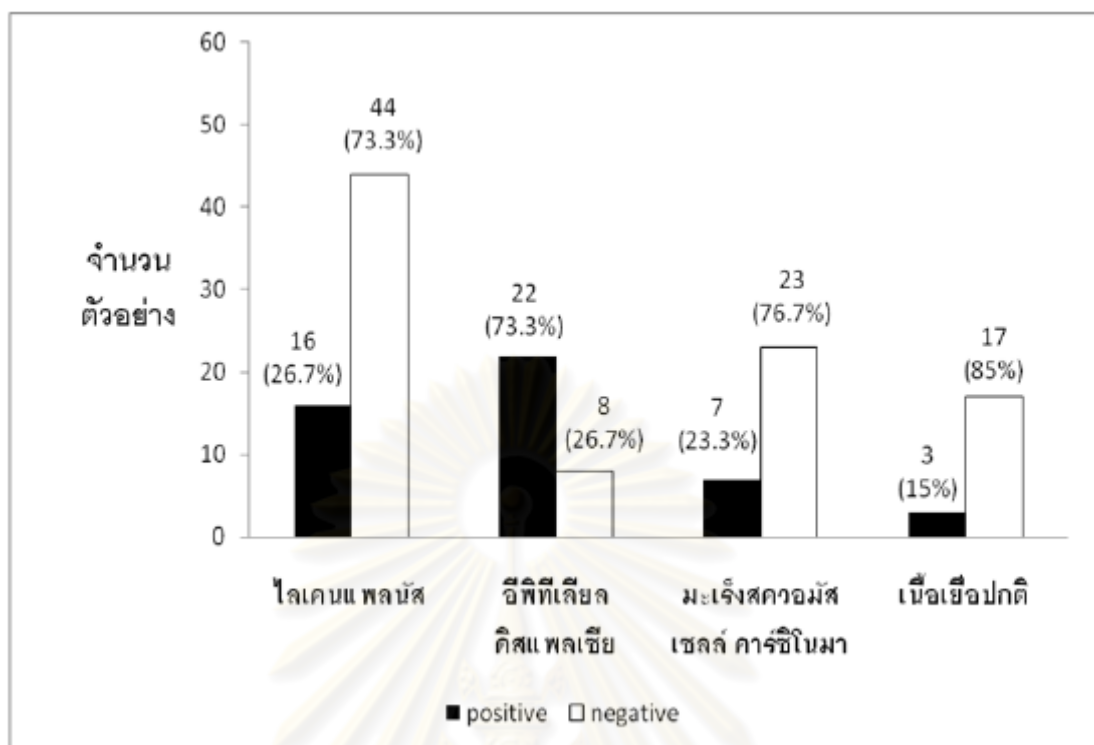
การตรวจพบ HPV-16 ในแต่ละกลุ่มตัวอย่าง

พบว่ามีเซลล์ที่ให้ผลบวกต่อ HPV-16 ในทุกกลุ่มตัวอย่าง โดยพบในกลุ่มไลเคนแพลนัสในช่องปาก 16 ใน 60 ตัวอย่าง (ร้อยละ 26.7) อีพิทีเลียล ดิสเพลเซีย 22 ใน 30 ตัวอย่าง (ร้อยละ 73.3) มะเร็งสควอมนัส เซลล์ คาร์ซิโนมา 7 ใน 30 ตัวอย่าง (ร้อยละ 23.3) และเนื้อเยื่อปกติ 3 ใน 20 ตัวอย่าง (ร้อยละ 15) ดังแสดงในตารางที่ 7

ตารางที่ 7 การเปรียบเทียบการตรวจพบ HPV-16 ในแต่ละกลุ่มตัวอย่าง

กลุ่มตัวอย่าง	การตรวจพบ HPV-16 ในชิ้นเนื้อ ด้วยวิธีอิมมูโนฮิสโตเคมี		จำนวน ทั้งหมด
	มี	ไม่มี	
ไลเคนแพลนัส	16 (ร้อยละ 26.7)	44 (ร้อยละ 73.3)	60
อีพิทีเลียล ดิสเพลเซีย	22 (ร้อยละ 73.3)	8 (ร้อยละ 26.7)	30
มะเร็งสควอมนัส เซลล์ คาร์ซิโนมา	7 (ร้อยละ 23.3)	23 (ร้อยละ 76.7)	30
เนื้อเยื่อปกติ	3 (ร้อยละ 15)	17 (ร้อยละ 85)	20
จำนวนทั้งหมด	48 (ร้อยละ 34.3)	92 (ร้อยละ 65.7)	140

ศูนย์วิทยุทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาพที่ 17 แผนภูมิรูปภาพแสดงการเปรียบเทียบจำนวนชิ้นเนื้อที่ให้ผลบวก และผลลบต่อ HPV-16 ในแต่ละกลุ่มตัวอย่าง

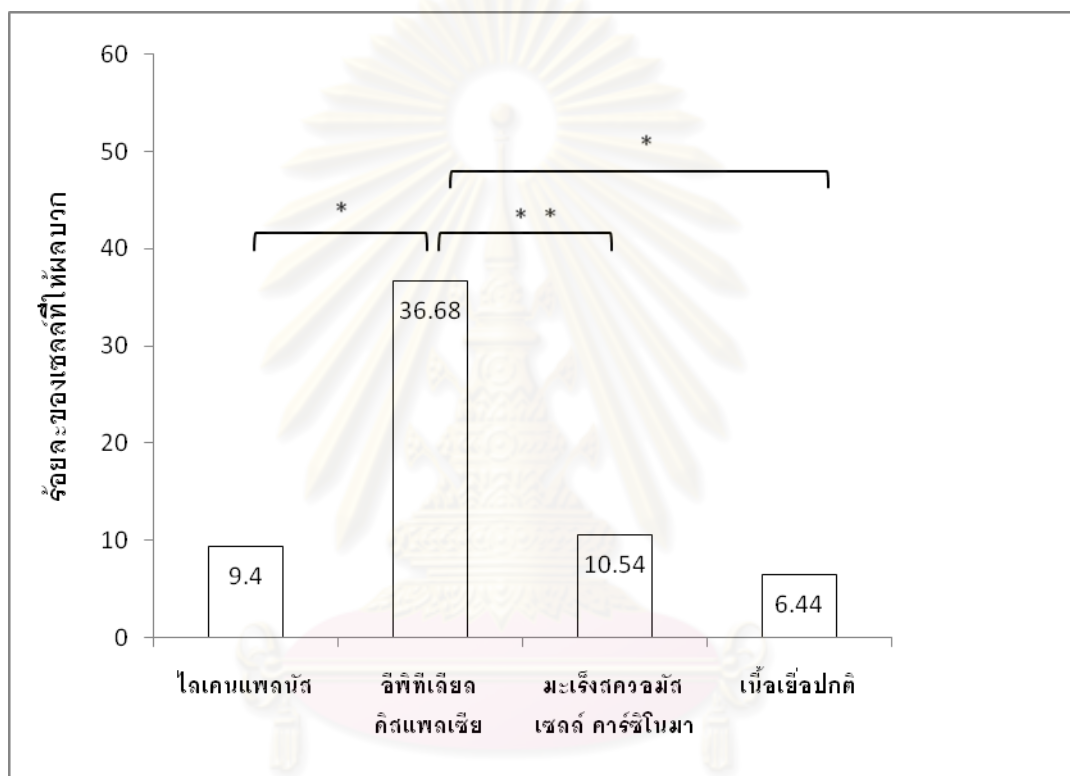
เมื่อใช้วิธี Chi-square test เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างกลุ่มตัวอย่างกับผลการตรวจพบ HPV-16 พบว่า ผลการตรวจพบ HPV-16 มีความสัมพันธ์กับกลุ่มตัวอย่าง ที่ระดับความสัมพันธ์ 0.401

จำนวนเซลล์เยื่อบุผิวที่มีการตรวจพบ HPV-16

เมื่อนับเซลล์ในชั้นเยื่อบุผิวที่ให้ผลบวกต่อ HPV-16 คิดเป็นอัตราส่วนต่อเซลล์เยื่อบุผิวทั้งหมดเปรียบเทียบในแต่ละกลุ่มตัวอย่างพบว่า

กลุ่มอีพีทีเลียล คิสแพลเซีย มีค่าเฉลี่ยเซลล์ที่ให้ผลบวกสูงสุด คือ ร้อยละ 36.68 ± 28.23 โดยมากกว่ากลุ่มมะเร็งสควอมาส เซลล์ คาร์ซิโนมา ซึ่งมีค่าเฉลี่ยเซลล์ที่ให้ผลบวก ร้อยละ 10.54 ± 22.30 กลุ่มไลเคนแพลนัส มีค่าเฉลี่ยเซลล์ที่ให้ผลบวก ร้อยละ 9.40 ± 20.33 และกลุ่มเนื้อเยื่อปกติมีค่าเฉลี่ยเซลล์ที่ให้ผลบวก ร้อยละ 6.44 ± 20.08 ตามลำดับ

เมื่อใช้สถิติ Kruskal-Wallis ทดสอบเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยร้อยละของเซลล์ที่ให้ผลบวกต่อ HPV-16 ในแต่ละกลุ่มตัวอย่าง พบว่า กลุ่มอีพีทีไฉยล ดิสแพลเซีย มีค่าเฉลี่ยร้อยละของเซลล์ที่ให้ผลบวกต่อ HPV-16 สูงกว่ากลุ่มมะเร็งสควอมัส เซลล์ คาร์ซิโนมา อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p=0.0001$) และสูงกว่ากลุ่มไลเคนแพลนัส และเนื้อเยื่อปกติ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.001$) ดังภาพที่ 18



ภาพที่ 18 แผนภูมิรูปภาพแสดงการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยร้อยละของเซลล์ที่ให้ผลบวกต่อ HPV-16

หมายเหตุ * $p < 0.001$, ** $p = 0.0001$

ตำแหน่งในการตรวจพบ HPV-16 ในเซลล์เยื่อบุผิว

การตรวจพบ HPV-16 ในเซลล์เยื่อบุผิวพบว่า มีการติดสีน้ำตาลซึ่งแสดงถึงการให้ผลบวกต่อ HPV-16 ในตำแหน่งต่างๆ ของเซลล์คือ ติดสีที่นิวเคลียสเพียงอย่างเดียว ติดสีที่ไซโตพลาสซึมเพียงอย่างเดียว และติดสีทั้งที่นิวเคลียสและไซโตพลาสซึม

โดยเมื่อพิจารณาจากเซลล์ที่ให้ผลบวกทั้งหมด พบว่า มีการติดสีทั้งที่นิวเคลียสและไซโตพลาสซึมมากที่สุด เท่ากับ 22 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 45.8 รองลงมา คือมีการติดสีที่ไซโตพลาสซึมเพียงอย่างเดียว 19 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 39.6 และพบการติดสีที่นิวเคลียสเพียงอย่างเดียว 7 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 14.6 ตามลำดับ

โดยในแต่ละกลุ่มตัวอย่างพบการติดสีในตำแหน่งต่างๆ ดังนี้ (ตารางที่ 8)

กลุ่มไคเคนแพลนัส พบการติดสีทั้งที่นิวเคลียสและไซโตพลาสซึม 7 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 43.8 พบการติดสีที่นิวเคลียสเพียงอย่างเดียว 5 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 31.3 และติดสีที่ไซโตพลาสซึมเพียงอย่างเดียว 4 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 25

กลุ่มอีพีทีเลียล ดิสเพลเซีย พบการติดสีทั้งที่นิวเคลียสและไซโตพลาสซึม 9 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 40.9 พบการติดสีที่นิวเคลียสเพียงอย่างเดียว 1 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 4.5 และติดสีที่ไซโตพลาสซึมเพียงอย่างเดียว 12 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 54.5

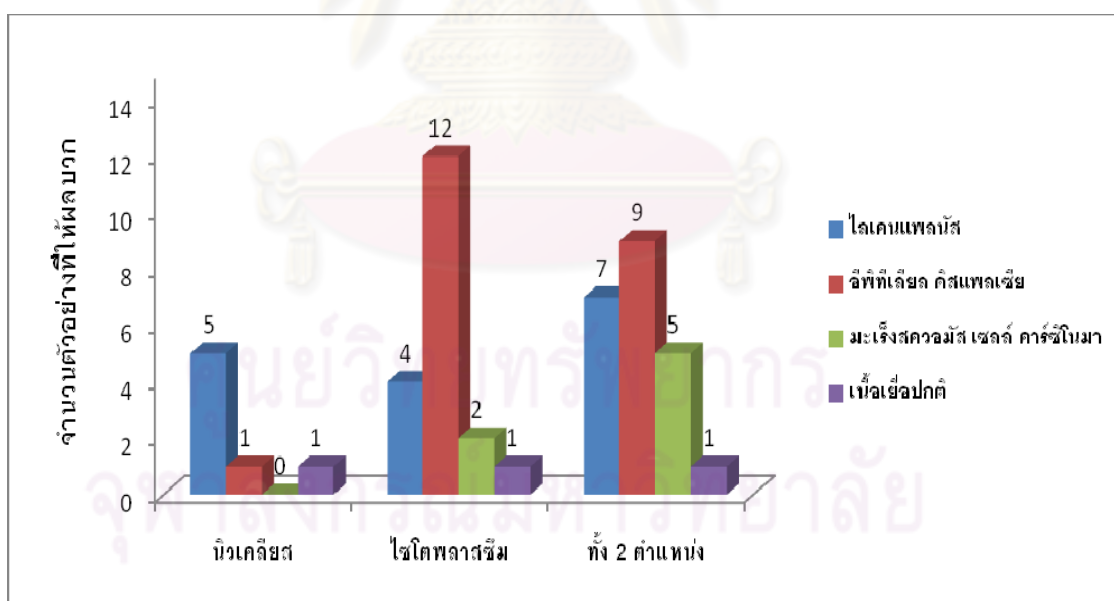
กลุ่มมะเร็งสควอมาส เซลล์ คาร์ซิโนมา พบการติดสีทั้งที่นิวเคลียสและไซโตพลาสซึม 5 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 71.4 และติดสีที่ไซโตพลาสซึมเพียงอย่างเดียว 2 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 28.6

กลุ่มเนื้อเยื่อปกติ พบการติดสีทั้งที่นิวเคลียสและไซโตพลาสซึม 1 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 33.3 พบการติดสีที่นิวเคลียสเพียงอย่างเดียว 1 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 33.3 และติดสีที่ไซโตพลาสซึมเพียงอย่างเดียว 1 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 33.3

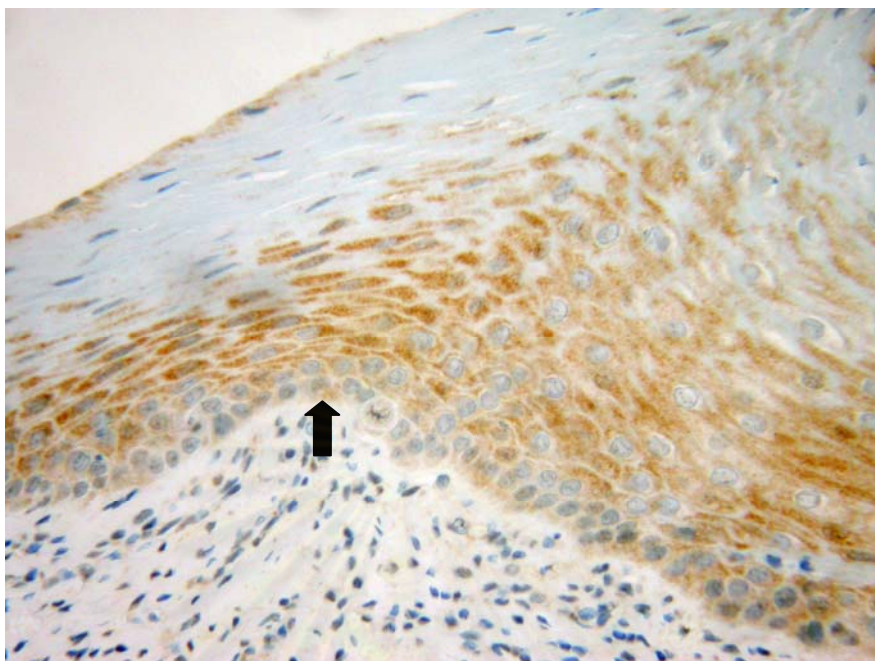
ตารางที่ 8 การเปรียบเทียบการตัดสินใจในตำแหน่งต่างๆ ของเซลล์แยกตามกลุ่มตัวอย่าง

ตำแหน่ง การตัดสินใจ	ไลเคน แพลนัส	อีพิทีเลียล ดิสเพลเซีย	มะเร็งสควอมีด เซลล์ คาร์ซิโนมา	เนื้อเยื่อ ปกติ	จำนวน ทั้งหมด
นิวเคลียส	5	1	0	1	7
ไซโตพลาสซึม	4	12	2	1	19
นิวเคลียสและ ไซโตพลาสซึม	7	9	5	1	22
จำนวนทั้งหมด	16	22	7	3	48

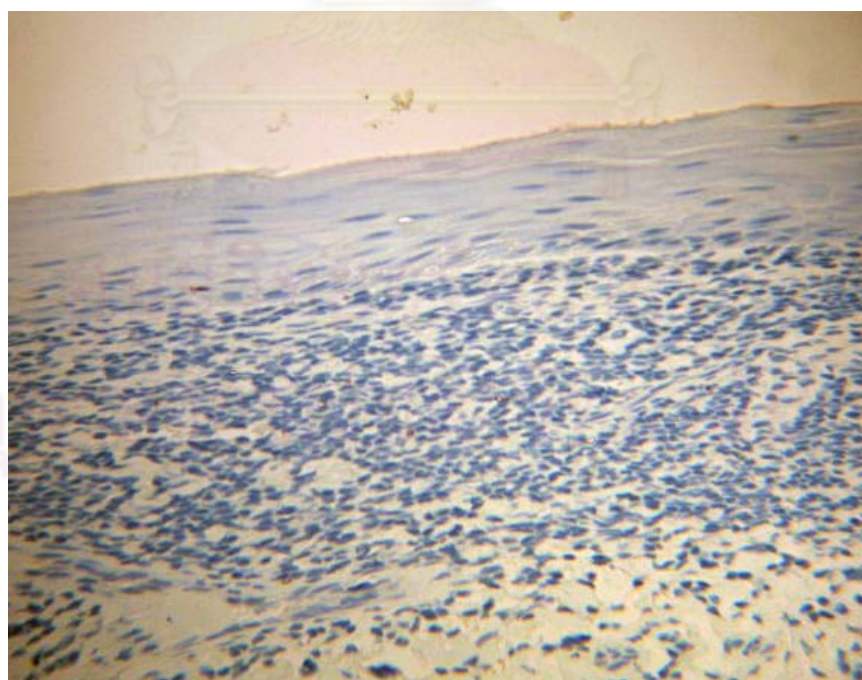
เมื่อใช้สถิติ Chi-square เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างตำแหน่งของการตัดสินใจในเซลล์เยื่อบุผิวกับกลุ่มตัวอย่าง พบว่าไม่มีความสัมพันธ์ระหว่างตำแหน่งของการตัดสินใจในเซลล์เยื่อบุผิวกับกลุ่มตัวอย่าง ภาพที่ 19



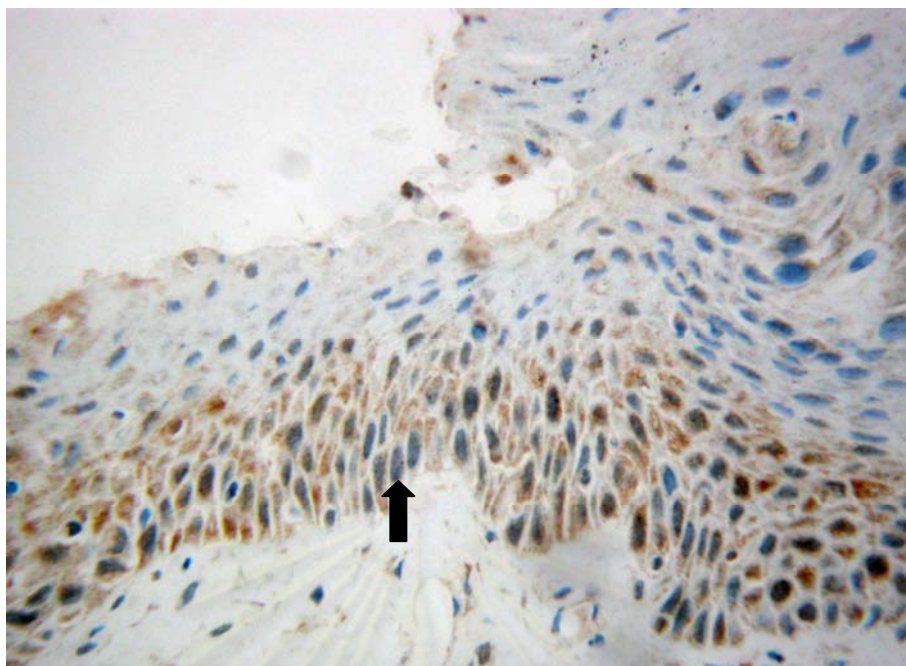
ภาพที่ 19 แผนภูมิรูปภาพแสดงการเปรียบเทียบจำนวนตัวอย่างที่มีการตัดสินใจในตำแหน่งต่างๆ ของเซลล์ ในแต่ละกลุ่มตัวอย่าง



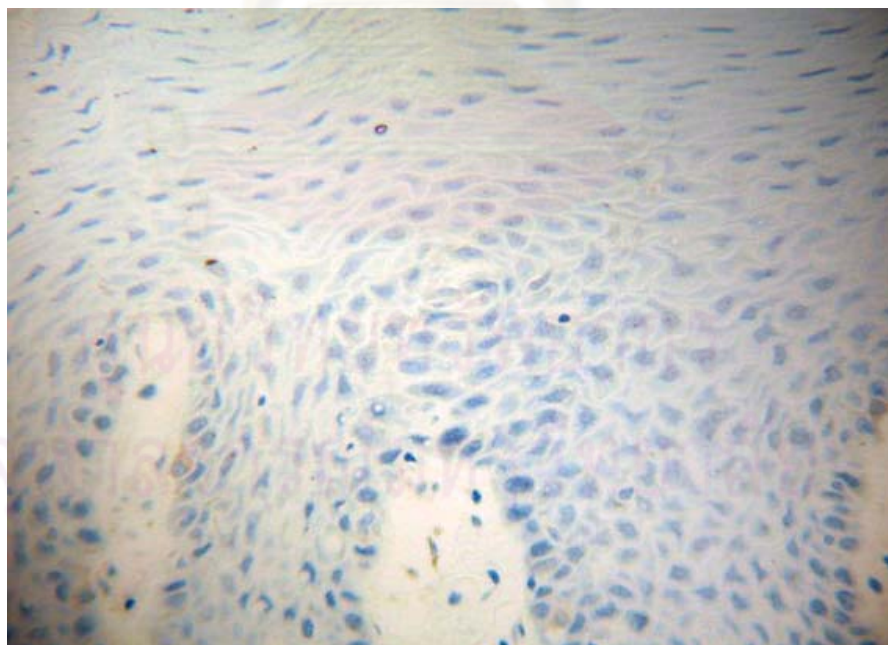
ภาพที่ 20 ชั้นเนื้อไลเคนแพลนัสในช่องปาก พบ HPV-16L1 ในไซโตพลาสซึมของเซลล์เยื่อบุผิวที่กำลังขยาย X400



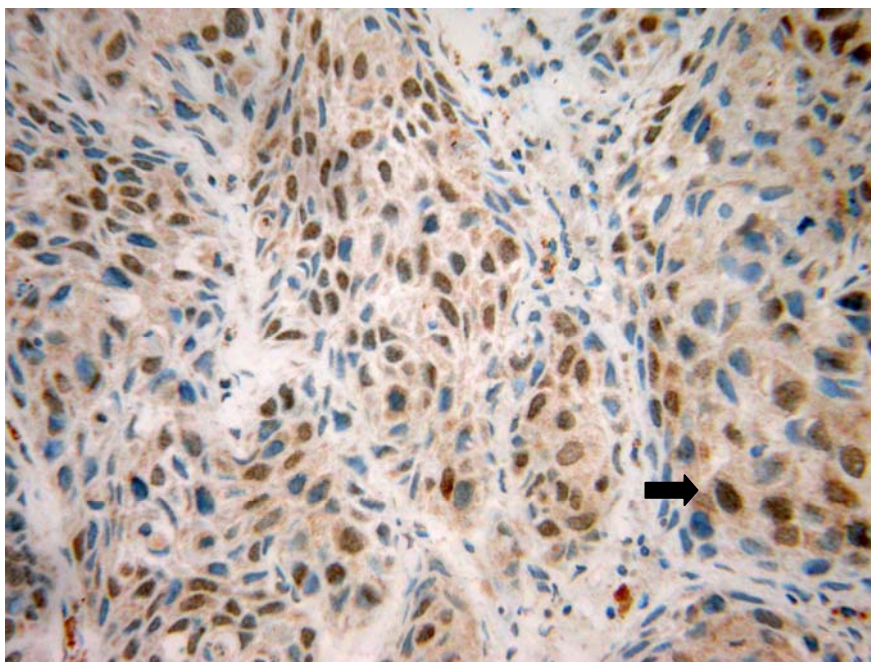
ภาพที่ 21 ชั้นเนื้อไลเคนแพลนัสในช่องปาก แสดงผลลบต่อ HPV-16L1 ที่กำลังขยาย X400



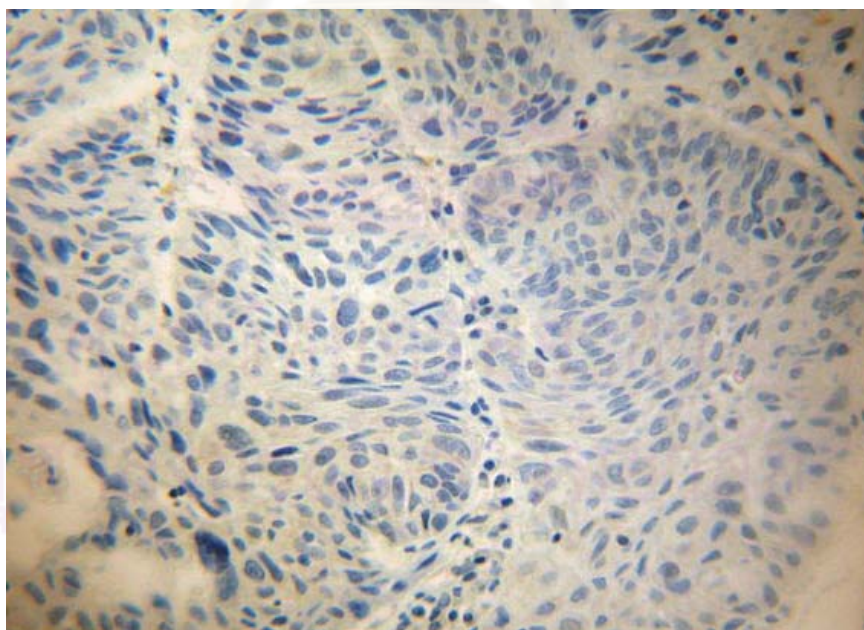
ภาพที่ 22 ชั้นเนื้ออีพิทีเลียล ดิสแพลเซีย พบ HPV-16L1 ในนิวเคลียสและไซโตพลาสซึมของเซลล์เยอบุผิวที่กำลังขยาย X400



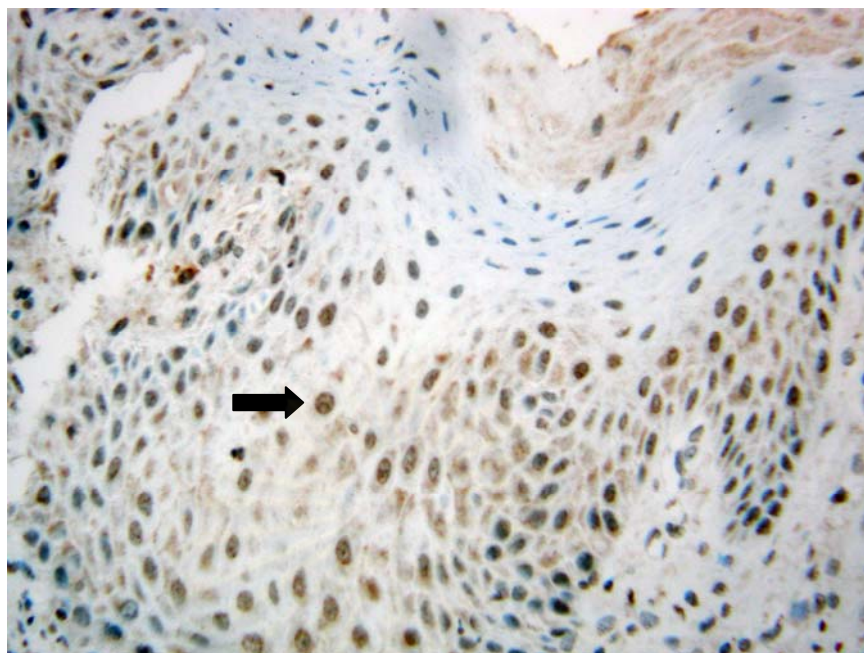
ภาพที่ 23 ชั้นเนื้ออีพิทีเลียล ดิสแพลเซีย แสดงผลลบต่อ HPV-16L1 ที่กำลังขยาย X400



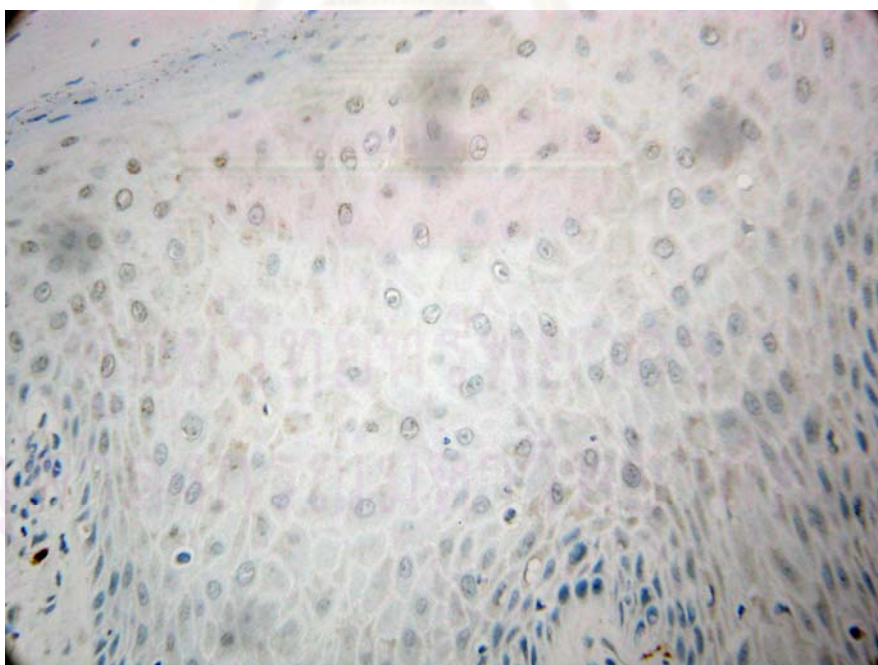
ภาพที่ 24 ชิ้นเนื้อมะเร็งสควอมัส เซลล์ คาร์ซิโนมาในช่องปาก พบ HPV-16L1
ในนิวเคลียสและไซโตพลาสซึมของเซลล์เยื่อบุผิวที่กำลังขยาย X400



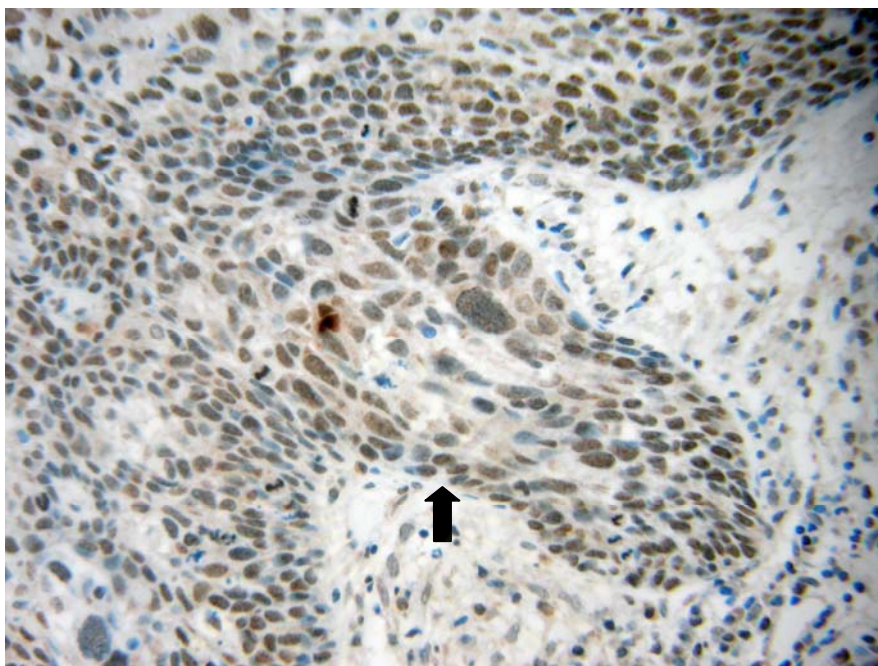
ภาพที่ 25 ชิ้นเนื้อมะเร็งสควอมัส เซลล์ คาร์ซิโนมาในช่องปาก แสดงผลลบต่อ
HPV-16L1 ที่กำลังขยาย X400



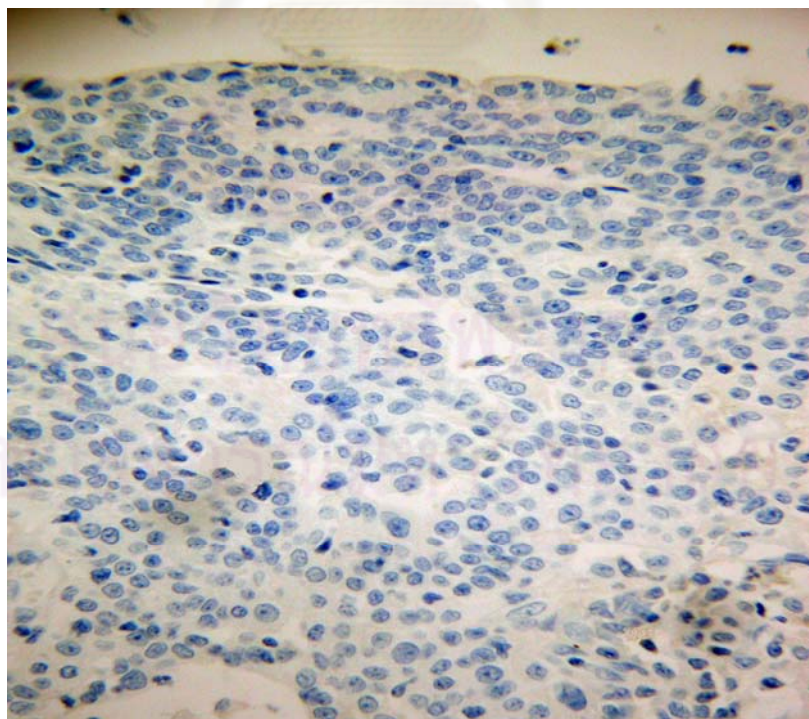
ภาพที่ 26 กลุ่มเนื้อเยื่อปกติในช่องปาก พบ HPV-16L1 ในนิวเคลียสและไซโตพลาสซึม
ของเซลล์เยื่อบุผิว ที่กำลังขยาย X400



ภาพที่ 27 กลุ่มเนื้อเยื่อปกติในช่องปาก แสดงผลลบต่อ HPV-16L1
ที่กำลังขยาย X400



ภาพที่ 28 ชั้นเนื้อเยื่อเยื่อปากมดลูก (กลุ่มควบคุมผลบวก) พบ HPV-16L1
 ในนิวเคลียสและไซโตพลาสซึมของเซลล์เยื่อผิวที่กำลังขยาย X400



ภาพที่ 29 กลุ่มควบคุมผลลบของชั้นเนื้อเยื่อเยื่อปากมดลูก ที่ได้ PBS แทนที่
 แอนติบอดีปฐมภูมิ

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

อภิปรายผลการวิจัย

ผลการวิจัยนี้ตรวจพบ HPV-16 โดยวิธีอิมมูโนฮิสโตเคมีในทุกกลุ่มตัวอย่าง โดยพบในกลุ่มอีพีทีเลียล ดิสเพลเซียมากที่สุด รองลงมาคือ กลุ่มไลเคนแพลนัส มะเร็งสควอมาส เซลล์ คาร์ซิโนมา และเนื้อเยื่อปกติตามลำดับ โดยกลุ่มอีพีทีเลียล ดิสเพลเซีย มีค่าเฉลี่ยร้อยละของเซลล์ที่ให้ผลบวกต่อ HPV-16 สูงกว่ากลุ่มมะเร็งสควอมาส เซลล์ คาร์ซิโนมา ไลเคนแพลนัส และเนื้อเยื่อปกติ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างกลุ่มมะเร็งสควอมาส เซลล์ คาร์ซิโนมา ไลเคนแพลนัส และเนื้อเยื่อปกติ ซึ่งผลการศึกษานี้สนับสนุนผลการศึกษามากมายที่ผ่านมา ที่มีการตรวจพบ HPV-16 ในรอยโรคช่องปากหลายชนิด ทั้งรอยโรคมะเร็ง และรอยโรคที่มีโอกาสเปลี่ยนเป็นมะเร็ง [95, 96, 97, 101, 102, 104, 105] หรือแม้แต่ในเนื้อเยื่อปกติก็ตาม แต่อัตราการพบเชื้อในรอยโรคช่องปากมีความแตกต่างกันไป ตามแต่พื้นที่ที่ศึกษา เชื้อชาติ วิธีการในการตรวจหาเชื้อ วิธีการเก็บตัวอย่างเพื่อนำมาตรวจ จึงยังไม่สามารถสรุปได้แน่ชัดเกี่ยวกับความสัมพันธ์ของ HPV กับการก่อให้เกิดรอยโรคในช่องปากชนิดต่างๆ

จากผลการศึกษานี้ พบว่า มีการตรวจพบ HPV-16 ในกลุ่มอีพีทีเลียล ดิสเพลเซียมากที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Sugiyama และคณะ [104] เมื่อปี พ.ศ. 2546 ซึ่งได้ตรวจหา HPV-16 และ HPV-18 ในรอยโรคอีพีทีเลียล ดิสเพลเซีย และมะเร็งสควอมาส เซลล์ คาร์ซิโนมาในช่องปาก เปรียบเทียบกับกลุ่มเนื้อเยื่อปกติ โดยใช้วิธี PCR พบ HPV-16 DNA ในรอยโรคอีพีทีเลียล ดิสเพลเซีย สูงกว่าในมะเร็งสควอมาส เซลล์ คาร์ซิโนมาในช่องปาก และกลุ่มเนื้อเยื่อปกติอย่างมีนัยสำคัญ และยังพบด้วยว่าในรายที่เป็นอีพีทีเลียล ดิสเพลเซีย แล้วมีการเปลี่ยนแปลงไปเป็นมะเร็งมี HPV-16 สูงกว่าในรายที่ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญ และพบ HPV-16 เฉพาะในระยะเริ่มแรกของมะเร็งสควอมาส เซลล์ คาร์ซิโนมาในช่องปากเท่านั้น ผู้ทำการศึกษาคงได้สรุปว่า HPV-16 อาจจะมีความสัมพันธ์กับการเกิดรอยโรคมะเร็งในระยะเริ่มต้น โดยมีบทบาทเป็นตัวกระตุ้นให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของเซลล์เยื่อบุผิวไปในทางที่ผิดปกติไป

จากผลการศึกษาที่พบ HPV-16 ในรอยโรคอีพิทีเลียล ดิสเพลเซีย มากกว่าใน มะเร็งสควอมาส เซลล์ คาร์ซิโนมา นี้ พบว่าแตกต่างจากการศึกษาโดยทั่วไป ซึ่ง Miller และคณะ [107] ได้เคยรวบรวมข้อมูลย้อนหลังในการศึกษาเกี่ยวกับ HPV ในเนื้อเยื่อช่องปากปกติ และรอยโรคต่างๆ ในช่องปาก กลับพบว่าเมื่อคำนวณทางสถิติแล้ว มีการตรวจพบ HPV ในมะเร็งสควอมาส เซลล์ คาร์ซิโนมาคิดเป็นร้อยละ 26.2 สูงกว่าในอีพิทีเลียล ดิสเพลเซีย ซึ่งพบร้อยละ 18.5 และในเนื้อเยื่อช่องปากปกติ พบร้อยละ 13.5 แม้ว่าข้อมูลที่ได้จากการศึกษานี้จะขัดแย้งกับข้อมูลส่วนใหญ่ แต่มีความเป็นไปได้ที่จะสามารถพบ HPV-16 ในอีพิทีเลียล ดิสเพลเซียสูงกว่าในมะเร็งสควอมาส เซลล์ คาร์ซิโนมา เนื่องจากในการวิจัยนี้เลือกการตรวจหา HPV โดยใช้การระบุการมีอยู่ของโปรตีน L1 ซึ่งเป็นโปรตีนในส่วนแคปซิดของไวรัส โดยรอยโรคอีพิทีเลียล ดิสเพลเซียจัดเป็นรอยโรคที่มีโอกาสเปลี่ยนเป็นมะเร็ง จึงเป็นไปได้ว่า ไวรัวยังคงมีวงจรการเพลิเคชันที่สมบูรณ์จึงพบโปรตีน L1 ในรอยโรคนี้ได้ แต่ในมะเร็งสควอมาส เซลล์ คาร์ซิโนมานั้น ยีน E6 และ E7 ถือเป็นยีนที่มีบทบาทเป็นยีนก่อมะเร็งซึ่งทำให้เกิดความผิดปกติกับยีนของโฮสต์ จึงเป็นไปได้ว่าจะพบโปรตีน L1 ในปริมาณที่ไม่มากเท่าที่พบในรอยโรคอีพิทีเลียล ดิสเพลเซีย และนอกจากนี้การเกิดมะเร็งสควอมาส เซลล์ คาร์ซิโนมาสามารถเกิดได้จากหลายสาเหตุ ปัจจัยอื่นๆ ที่มาเกี่ยวข้อง เช่น การสูบบุหรี่ การดื่มเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ และการระคายเคืองเรื้อรังต่อเนื้อเยื่อจากฟันที่คม หรือวัสดุบูรณะที่ไม่ดี ก็อาจเป็นสาเหตุร่วมให้เกิดการเปลี่ยนแปลงได้

การตรวจพบ HPV ในเนื้อเยื่อปกติสามารถพบได้ในการศึกษาก่อนหน้านี้ที่มีการเปรียบเทียบการตรวจพบเชื้อในรอยโรคช่องปากกับในเนื้อเยื่อปกติ ซึ่งส่วนใหญ่จะพบเชื้อในเนื้อเยื่อปกติในปริมาณที่ต่ำกว่าในรอยโรค ซึ่งคล้ายกับการศึกษาในครั้งนี้ที่พบ HPV-16 ในเนื้อเยื่อปกติ แม้จะไม่มี ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากกลุ่มมะเร็งสควอมาส เซลล์ คาร์ซิโนมา และไลเคนแพลนัส แต่ทั้งนี้ อาจเป็นผลมาจากจำนวนตัวอย่างที่นำมาศึกษาในกลุ่มควบคุมค่อนข้างน้อย เนื่องจากข้อจำกัดในการหาเนื้อเยื่อปกติในช่องปากจากอาสาสมัครซึ่งได้จากผู้ที่มารับการรักษาด้วยการทำศัลยกรรมผ่าฟันคุด และอายุเฉลี่ยของกลุ่มควบคุมที่น้อยกว่ากลุ่มทดลองอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จึงเป็นไปได้ว่าในประชากรปกติที่อายุน้อยอาจมีโอกาสได้สัมผัสกับ HPV มากกว่าคนในรุ่นก่อนๆ ซึ่งอาจเป็นผลจากการเปลี่ยนแปลงวิถีชีวิต หรือสิ่งแวดล้อม และนอกจากนี้ยังพบว่าในการศึกษาส่วนใหญ่ที่ผ่านมา การเก็บตัวอย่างส่วนใหญ่ของเนื้อเยื่อปกติในช่องปากใช้วิธีการขูด (scrape) เนื้อเยื่อกระพุ้งแก้ม หรือได้จากการบ้วนปาก [107] ตัวอย่างที่ได้จึงเป็นเพียงเซลล์ในชั้นผิวบนของชั้นเยื่อเมือก ซึ่งต่างจากการวิจัยนี้ที่ใช้การตัดชิ้นเนื้อซึ่งสามารถได้

ตัวอย่างทั้งหมดของชั้นเยื่อผิวรวมถึงชั้นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันบางส่วน จึงเป็นไปได้ว่าจะสามารถตรวจพบ HPV ได้ชัดเจนจากการที่ไวรัสชนิดนี้มักเกิดการติดเชื้อในชั้นเบซัลเซลล์ของเยื่อผิว

การศึกษาในครั้งนี้ใช้วิธีอิมมูโนฮิสโตเคมีในการตรวจหาตำแหน่งของแอนติเจน HPV-16 ในเนื้อเยื่อ ซึ่งการตรวจพบโปรตีนที่เป็นส่วนประกอบของไวรัสแสดงถึงความจำเพาะ (specificity) ในการมีอยู่และการแสดงออกของไวรัสนั้นๆ ในรอยโรคได้มาก แม้จะไม่มี ความไว (sensitivity) เท่ากับวิธีที่สามารถตรวจหาเชื้อในระดับ DNA เช่น PCR แม้ว่าในหลายการศึกษาที่ผ่านมามีส่วนใหญ่มักจะเลือกใช้วิธีที่มีความไวสูง เช่น PCR ในการตรวจมากกว่าวิธีอื่นๆ อย่าง อินไซตูลไฮบริไดเซชัน หรือ วิธีอิมมูโนฮิสโตเคมี โดยพบ HPV ในกลุ่มมะเร็งสคอวมัส เซลล์ คาร์ซิโนมา มากกว่ารอยโรคที่มีโอกาสเปลี่ยนเป็นมะเร็ง และเนื้อเยื่อปกติเป็นส่วนใหญ่ [107] ซึ่งอาจแสดงว่า HPV มีเพียงสารพันธุกรรมในเซลล์แต่ไม่ได้มีการแสดงออกของโปรตีน L1 จึงเป็นเรื่องที่น่าสนใจศึกษาต่อไปในเรื่องวิธีการตรวจหาเชื้อ เพื่อเปรียบเทียบผลที่ได้ในแต่ละวิธีต่อไป

การตรวจพบ HPV-16 ในรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปาก อาจมีความสัมพันธ์กับลักษณะทางคลินิกซึ่งพบรอยเส้นสีขาว อันสนับสนุนคุณสมบัติจำเพาะของ HPV ที่ต้องอาศัยการสร้างชั้นคอร์นาตินของเซลล์เยื่อผิวในการรพลิเคชันได้ นอกจากนี้การที่เยื่อผิวในรอยโรคไลเคนแพลนัสอ่อนแอลงทำให้มีโอกาสเกิดอันตรรกกับเยื่อผิวได้ง่ายจากสิ่งสัมผัสภายนอก และเป็นการเพิ่มโอกาสให้ HPV เข้าไปก่อให้เกิดการติดเชื้อในเบซัลเซลล์ได้ง่ายขึ้น ในทางเดียวกันรอยโรคอีพิทีเลียล ดิสเพลเซีย ที่พบ HPV-16 ส่วนใหญ่จากการศึกษานี้ มีลักษณะทางคลินิกที่เป็นรอยโรคสีขาวร่วมด้วย (ตารางที่ 6)

เมื่อพิจารณาจากการติดสีแสดงผลบวกรในการย้อมอิมมูโนฮิสโตเคมีในการศึกษา นี้พบว่า มีการติดสีทั้งที่นิวเคลียสเพียงอย่างเดียว ติดสีที่ไซโตพลาสซึมเพียงอย่างเดียว และติดทั้งในนิวเคลียสและไซโตพลาสซึม โดยพบการติดสีทั้งในนิวเคลียสและไซโตพลาสซึมมากที่สุด รองลงมาคือติดสีในไซโตพลาสซึมเพียงอย่างเดียว และติดสีในนิวเคลียสเพียงอย่างเดียว ซึ่งตำแหน่งการติดสีไม่ได้มีความสัมพันธ์กับกลุ่มตัวอย่างอย่างมีนัยสำคัญ แต่เมื่อพิจารณาการเข้าไปในเซลล์ของ HPV เพื่อจุดประสงค์ในการสอดแทรกสารพันธุกรรมของไวรัสเข้าไปในสารพันธุกรรมของโฮสต์เซลล์ การที่โปรตีน L1 ซึ่งเป็นโปรตีนแคปซิดของไวรัสสามารถเข้าไปในนิวเคลียสได้นั้น แม้ว่าควรพบโปรตีน L1 ในไซโตพลาสซึม แต่การที่พบโปรตีน L1 ในนิวเคลียสได้นั้นอาจเป็นเพราะโปรตีน L1 มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 54-56 กิโลดาลตัน ซึ่งมีขนาดเล็กพอที่จะสามารถผ่านเข้านิวเคลียพออร์ (nuclear pore) ที่ผนังนิวเคลียส ซึ่งมีความกว้างประมาณ 7 นาโน

เมตร และเล็กประมาณ 50 นาโนเมตร ซึ่งโมเลกุลขนาดใหญ่ตั้งแต่ 1-100 กิโลดาลตันสามารถผ่านเข้าออกทาง central channel เข้าไปในนิวเคลียสได้ [109]

จากผลที่ผ่านมาการตรวจพบ HPV-16 ในรอยโรคในช่องปากแม้มีเพียงรอยโรคอีพิทีเลียล ดิสเพลเซียเท่านั้นที่มีความแตกต่างจากกลุ่มตัวอย่างอื่นๆ แต่สามารถกล่าวได้ว่าในช่องปากของคนไทยพบความชุกของ HPV-16 ได้เช่นกัน และเป็นที่น่าสนใจในการที่จะศึกษาต่อไปในกลุ่มตัวอย่างที่มากขึ้น และวิธีการตรวจที่หลากหลายมากขึ้นต่อไป

สรุปผลการวิจัย

การตรวจด้วยวิธีอิมมูโนฮิสโตเคมีพบว่า HPV-16 ในทุกกลุ่มที่ทำการศึกษา ได้แก่ รอยโรคไลเคนแพลนัส 16 ใน 60 ตัวอย่าง รอยโรคอีพิทีเลียล ดิสเพลเซีย 22 ใน 30 ตัวอย่าง รอยโรคมะเร็งสควอมาส เซลล์ คาร์ซิโนมา 7 ใน 30 ตัวอย่าง และกลุ่มควบคุม (เนื้อเยื่อปกติ) 3 ใน 20 ตัวอย่าง โดยพบความสัมพันธ์ระหว่างผลการตรวจพบ HPV-16 กับรอยโรคที่นำมาศึกษา และค่าเฉลี่ยร้อยละของเซลล์เยื่อเมือกที่ให้ผลบวกต่อ HPV-16 ในกลุ่มอีพิทีเลียล ดิสเพลเซีย มากกว่ากลุ่มสควอมาส เซลล์ คาร์ซิโนมา กลุ่มไลเคนแพลนัส และกลุ่มควบคุม ตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

จากผลการศึกษานี้มีการตรวจพบ HPV-16 ในรอยโรคอีพิทีเลียล ดิสเพลเซีย ซึ่งเป็นรอยโรคที่มีโอกาสเปลี่ยนเป็นมะเร็งสูงกว่ารอยโรคกลุ่มอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จึงเป็นไปได้ว่า HPV-16 อาจเป็นปัจจัยหนึ่งซึ่งมีผลต่อการการเกิดพยาธิสภาพของรอยโรคอีพิทีเลียล ดิสเพลเซีย

ศูนย์วิจัยทันตวิทยา
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ข้อเสนอแนะ

งานวิจัยนี้มีข้อจำกัดเกี่ยวกับการหาจำนวนตัวอย่าง ทำให้ข้อมูลที่ได้อาจไม่เป็นตัวแทนของกลุ่มประชากรได้ทั้งหมดตามหลักการคำนวณทางสถิติ ดังนั้นงานวิจัยต่อไปในอนาคตจึงควรมีการศึกษาในขนาดตัวอย่างที่เพิ่มขึ้น รวมทั้งควรมีการขยายวิธีการในการตรวจหา HPV ซึ่งมีอีกหลายวิธีที่น่าสนใจ เช่น PCR อิน ไฮตู ไฮบริโดเซชัน เป็นต้น เพื่อนำมาเปรียบเทียบกับการตรวจด้วยวิธีอิมมูโนฮิสโตเคมี และเพิ่มวิธีการเก็บตัวอย่าง เพื่อจะได้ทราบถึงแนวทางในการตรวจหาที่เหมาะสม และเกิดความเข้าใจในการเกิดรอยโรคในช่องปากที่สัมพันธ์กับ HPV ได้มากขึ้น อย่างไรก็ตามผลที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้อาจสามารถนำมาใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการศึกษาถึงบทบาทของ HPV ต่อการเกิดรอยโรคในช่องปาก และความชุกของการพบ HPV ในเนื้อเยื่อช่องปากของผู้ป่วยไทย เพื่อนำไปประยุกต์เป็นแนวทางในการรักษาโรคต่อไป



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายการอ้างอิง

- [1] Ha, P. K., and Califano, J. A. The role of human papillomavirus in oral carcinogenesis. Crit. Rev. Oral. Biol. Med. 15 (2004): 188-96.
- [2] Miller, C. S. Herpes simplex virus and human papillomavirus infections of the oral cavity. Semin. Dermatol. 13 (1994): 108-17.
- [3] Chang, F., Syrjänen, S. M., Kellokoski, J., and Syrjänen, K. J. Human papillomavirus (HPV) infections and their association with oral disease. J. Oral. Pathol. Med. 20 (1991): 305-17.
- [4] Al-Bakkal, G., et al. Human papillomavirus type 16 E6 gene expression in oral exophytic epithelial lesions as detected by in situ rtPCR. Oral. Surg. Oral. Med. Oral. Pathol. Oral. Radiol. Endod. 87 (1999): 197-208.
- [5] Yeudall, W. A. Human papillomavirus and oral neoplasia. Oral. Oncol. Eur. J. Cancer. 28 (1992): 61-6.
- [6] Chang, F., Syrjänen, S. M., Shen, Q., Ji, H., and Syrjänen, K. J. Human papillomavirus (HPV) DNA in esophageal precancerous lesions and squamous cell carcinoma from China. Int. J. Cancer. 45 (1990): 21-5.
- [7] Furrer, V. E., Benitez, M. B., Furnes, M., Lanfranchi, H. E., and Modesti, N. M. Biopsy vs. superficial scraping: detection of human papillomavirus 6, 11, 16, and 18 in potentially malignant and malignant oral lesions. J. Oral. Pathol. Med. 35 (2006): 338-44.
- [8] Scully, C., and El-Kom, M. Lichen planus: review and update on pathogenesis. J. Oral. Pathol. 14 (1985): 431-58.

- [9] 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.
- [10] Scully, C., et al. Update on oral lichen planus: etiopathogenesis and management. Crit. Rev. Oral. Biol. Med. 9 (1998): 86-122.
- [11] กอบกาญจน์ ทองประสม, บรรณานิกิต. ไลเคนพลาเน็ต. รอยโรคในช่องปากที่เกี่ยวข้องกับความผิดปกติของระบบภูมิคุ้มกัน. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2543.
- [12] Carrozzo, M., and Gandolfo, S. The management of oral lichen planus. Oral. Dis. 5 (1999): 196-205.
- [13] Eisen, D. The clinical features, malignant potential, and systemic associations of oral lichen planus: a study of 723 patients. J. Am. Acad. Dermatol. 46 (2002): 207-14.
- [14] Boyd, A. S., and Neldner, K. H. Lichen planus. J. Am. Acad. Dermatol. 25 (1991): 593-619.
- [15] Silverman, S. Jr., Gorsky, M., and Lozada-Nur, F. A prospective follow-up study of 570 patients with oral lichen planus: persistence, remission, and malignant association. Oral. Surg. Oral. Med. Oral. Pathol. 60 (1985): 30-4.
- [16] 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.
- [17] 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.

- [18] Lodi, G., Scully, C., Carrozzo, M., Sugerman, P. B., and Thongprasom, K. Current controversies in oral lichen planus: report of an international consensus meeting. Part 1. Viral infections and etiopathogenesis. Oral. Surg. Oral. Med. Oral. Pathol. Oral. Radiol. Endod. 100 (2005): 40-51.
- [19] Schiffman, M., and Castle, P. E. Human papillomavirus: epidemiology and public health. Arch. Pathol. Lab. Med. 127 (2003): 930-4.
- [20] Pfister, H. Biology and biochemistry of papillomavirus types. Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol. 99 (1984): 112-81.
- [21] Danos, O., Engel, L. W., Chen, E. Y., Yaniv, M., and Howley, P. M. A comparative analysis of the human type 1a and bovine type 1 papillomavirus genomes. J. Virol. 46 (1983): 557-66.
- [22] Lazo, P. A. Human papillomavirus in oncogenesis. Bio. Essay. 9 (1988): 158-62.
- [23] Villa, L. L. Chapter 1: Biology of genital human papillomaviruses. Int. J. Gynaecol. Obstet. 94 (2006): s3-s7.
- [24] Frazer, I. H. Prevention of cervical cancer through papillomavirus vaccination. Nat. Rev. Immunol. 4 (2004): 46-54.
- [25] Munoz, N., et al. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. N. Engl. J. Med. 348 (2003): 518-27.
- [26] Frazer, I. H. Immunology of papilloamavirus infection. Curr. Opin. Immunol. 8 (1996): 484-491.
- [27] Tindle, R. W. Immune evasion in human papillomavirus-associated cervical cancer. Nature. Rev. Cancer. 2 (2002): 59-65.
- [28] Matthews, K., et al. Depletion of Langerhans cells in human papillomavirus type 16-infected skin is associated with E6-mediated downregulation of E-cadherin. J. Virol. 77 (2003): 8378-8385.

- [29] Tay, S. K., Jenkins, D., Maddox, P., Campion, M., and Singer, A. Subpopulations of Langerhans cells in cervical neoplasia. Br. J. Obstet. Gynaecol. 94 (1987): 10-15.
- [30] Ronco, L. V., Karpova, A. Y., Vidal, M., and Howley, P. M. Human papillomavirus 16 E6 oncoprotein binds to interferon regulatory factor-3 and inhibits its transcriptional activity. Genes. Dev. 12 (1998): 2061-2072.
- [31] Campo, M. S. Animal models of papillomavirus pathogenesis. Virus. Res. 89 (2002): 249-261.
- [32] Carter, J. J., et al. Comparison of human papillomavirus types 16, 18, and 6 capsid antibody responses following incident infection. J. Infect. Dis. 181 (2000): 1911-1919.
- [33] Jochmus-Kudielka, I., et al. Antibodies against the human papillomavirus type 16 early proteins in human sera: Correlation of anti-E7 reactivity with cervical cancer. J. Natl. Cancer. Inst. 81 (1989): 1698-1704.
- [34] Nicholls, P. K., et al. Regression of canine oral papillomas is associated with infiltration of CD4⁺ and CD8⁺ lymphocytes. Virology. 283 (2001): 31-39.
- [35] Arany, I., et al. Enhancement of the innate and cellular immune response in patients with genital warts treated with topical imiquimod cream 5%. Antiviral. Res. 43 (1999): 55-63.
- [36] Kadish, A. S., et al. Regression of cervical intraepithelial neoplasia and loss of human papillomavirus (HPV) infections is associated with cell-mediated immune responses to an HPV type 16 E7 peptide. Cancer. Epidermal. Biomarkers. Prev. 11 (2002): 483-488.
- [37] Welters, M. J. P., et al. Frequent display of human papillomavirus type 16 E6-specific memory T-helper cells in the healthy population as witness of previous viral encounter. Cancer. Res. 63 (2003): 636-641.

- [38] Hopfl, R., et al. Spontaneous regression of CIN and delayed-type hypersensitivity to HPV-16 oncoprotein E7. Lancet. 356 (2000): 1985-1986.
- [39] DeRossi, S. S., and Ciarrocca, K. N. Lichen planus, lichenoid drug reactions, and lichenoid mucositis. Dent. Clin. N. Am. 49 (2005): 77-89.
- [40] Greenberg, M. S., and Glick, M. Burket's oral medicine diagnosis & treatment. 10th ed. Ontario: BC Decker, 2003.
- [41] Bagan, J. V., Eisen, D., and Scully, C. The diagnosis and management of oral lichen planus: a consensus approach. Oral. Biosci. Med. 1 (2004): 21-7.
- [42] Bagan, J. V., Milian-Masanet, M. A., Penarrocha-Diago, M., and Jimenez, Y. A clinical study of 205 patients with oral lichen planus. J. Oral. Maxillofac. Surg. 50 (1992): 116-8.
- [43] Grunnet, N., and Schmidt, H. Occurrence of lichen planus in a family. Genetic susceptibility or coincidence? Clin. Exp. Dermatol. 8 (1983): 379-400.
- [44] Finne, K., Goransson, K., and Winkler, L. Oral lichen planus and contact allergy to mercury. Int. J. Oral. Surg. 11 (1982): 236-9.
- [45] Lind, P. O., Hurlen, B., Lyberg, T., and Aas, E. Amalgam related oral lichenoid reaction. Scand. J. Dent. Res. 94 (1986): 448-51.
- [46] Laine, J., Kalino, K., Forssell, H., and Happonen, R-P. Resolution of oral lichenoid lesions after replacement of amalgam restorations in patients allergic to mercury compounds. Br. J. Dermatol. 126 (1992): 10-5.
- [47] Postma, C. Experiments in the culture of the organism of lichen planus by Jacob and Helmbolds method. Arch. Derm. Syphilol. 36 (1937): 836.
- [48] Holmstrup, P., and Dabelsteen, E. The frequency of Candida in oral lichen planus. Scand. J. Dent. Res. 82 (1974): 584-7.

- [49] Simon, M. Jr., and Hornstein, O. P. Prevalence rate of Candida in the oral cavity of patients with oral lichen planus. Arch. Dermatol. Res. 267 (1980): 317-8.
- [50] Silverman, S. Jr., Gorsky, M., Lozada-Nur, F., and Giannotti, K. A prospective study of finding and management in 214 patients with oral lichen planus. Oral. Surg. Oral. Med. Oral. Pathol. 72 (1991): 665-70.
- [51] Eisen, D. The therapy of oral lichen planus. Crit. Rev. Oral. Biol. Med. 4 (1993): 141-58.
- [52] Shuttleworth, D., Graham-Brown, R. A. C., and Campbell, A. C. The autoimmune background in lichen planus. Br. J. Dermatol. 115 (1986): 199-203.
- [53] Rojo-Moreno, J. L., et al. Psychological factors and oral lichen planus. A psychometric evaluation of 100 cases. Oral. Surg. Oral. Med. Oral. Pathol. Oral. Radiol. Endod. 86 (1998): 687-91.
- [54] McCartan, B. E. Psychological factors associated with oral lichen planus. J. Oral Pathol. Med. 24 (1995): 273-5.
- [55] Daftary, D. K., Bhonsie, R. B., Musti, R. B., Pindborg, J. J., and Mehta, F. S. An oral lichen planus-like lesion in Indian betel tobacco chewers. Scand. J. Dent. 88 (1980): 244-5.
- [56] Lundström, I. Incidence of diabetes mellitus in patients with oral lichen planus. Int. J. Oral. Surg. 12 (1983): 147-52.
- [57] Lamey, P-J., Gibson, J., Barclay, S. C., and Miller, S. Grinspan's syndrome: a drug-induced phenomenon? Oral. Surg. Oral. Med. Oral. Pathol. 70 (1990): 184-5.
- [58] Scully, C., Porter, S. R., and Eveson, J. W. Oral lichen planus and celiac disease. Lancet. 341 (1993): 1660.

- [59] Thongprasom, K., Younngak, P., and Aneksuk, V. Folate and vitamin B12 levels in patients with oral lichen planus, stomatitis or glossitis. Southeast. Asian. J. Trop. Med. Public. Health. 32 (2001): 643-7.
- [60] Jolly, M., and Nobile, S. Vitamin status of patients with oral lichen planus. Aust. Dent. 22 (1977): 446-50.
- [61] Sugerman, P. B., et al. The pathogenesis of oral lichen planus. Crit. Rev. Oral. Biol. Med. 13 (2002): 350-65.
- [62] Khan, A., et al. Th 1 cytokines in oral lichen planus. J. Oral. Pathol. Med. 32 (2003): 77-83.
- [63] Zhou, X. J., Sugerman, P. B., Savage, N. W., Walsh, L. J., and Seymour, G. J. Intraepithelial CD8⁺ T cells and basement membrane disruption in oral lichen planus. J. Oral. Pathol. Med. 31 (2002): 23-7.
- [64] Mollaoglu, N. Oral lichen planus: a review. Br. J. Oral Maxillofac. Surg. 38 (2000): 370-7.
- [65] 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.
- [66] Krutchkoff, D. J., and Eisenberg, E. Lichenoid dysplasia: a distinct histopathological entity. Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. 60 (1985): 308-15.
- [67] Barnes, L., Eveson, J. W., Reichart, P., and Sidransky, D. World Health Organization classification of tumours: pathology and genetics of head and neck tumours. Lyon: IARC Press. (2005).

- [68] Bouquot, J., Speight, P. M., and Farthing, P. M. Epithelial dysplasia of the oral mucosa-diagnostic problems and prognostic features. Curr. Diagn. Pathol. 12 (2006): 11-22.
- [69] MacDonald, D. G., and Speight, P. M. Tumours of the oral cavity. In: Fletcher, C. editor. Diagnostic histopathology of tumors. 3rd ed. Churchill Livingstone, 2007: 215-37.
- [70] อະนันท์ เอี่ยมอรุณ. มะเร็งช่องปาก. เชียงใหม่: คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, 2548.
- [71] Speight, P. M. Update on oral epithelial dysplasia and progression to cancer. Head. Neck. Pathol. 1 (2007): 61-6.
- [72] Abbey, L. M., et al. Intraexaminer and interexaminer reliability in the diagnosis of oral epithelial dysplasia. Oral. Surg. Oral. Med. Oral. Pathol. Oral. Radiol. Endod. 80 (1995): 188-91.
- [73] Scully, C., Sudbo, J., and Speight, P. M. Progress in determining the malignant potential of oral lesions. J. Oral. Pathol. Med. 32 (2003): 251-56.
- [74] Kumar, V., Cotran, R. S., and Robbins, S. L. Robbins Basic pathology. 7th ed. Saunders: An Imprint of Elsevier Science, 2003.
- [75] Silverman, S. Jr. Atlas of clinical oncology oral cancer. 5th ed [CD-ROM]. American Cancer Society, 2003.
- [76] Bsoul, S. A., Huber, M. A., and Terezhalmly, G. T. Squamous cell carcinoma of the oral tissues: a comprehensive review for oral healthcare providers. J. Contemp. Dent. Pract. 6 (2005): 1-16.
- [77] Zakrzewska, J. M. Fortnightly review: oral cancer. BMJ. 318 (1999): 1051-1054.

- [78] Perez-Ordóñez, B., Beauchemin, M., and Jordan, R. C. Molecular biology of squamous cell carcinoma of the head and neck. J. Clin. Pathol. 59 (2006): 445-453.
- [79] Khuaprema, T., ed. Cancer in Thailand Vol. V, 2001-2003. Bangkok: Ministry of Public Health, National Cancer Institute, 2011.
- [80] Chindavijak, S. Micrometastasis and recurrent neck node in supraomohyoid neck dissection field. J. Med. Assoc. Thai. 88 (2005): 1287-1292.
- [81] Macfarlane, G. J., et al. Alcohol, tobacco, diet and the risk of oral cancer: A pooled analysis of three case-control studies. Eur. J. Cancer. B. Oral. Oncol. 31B (1995): 181-7.
- [82] EU-Working Group on Tobacco and Oral Health: Tobacco and oral diseases-report of EU Working Group, 1999. J. Ir. Dent. Assoc. 46 (2000): 12-9,22.
- [83] Jovanovid, A., Schulten, E. A., Kostense, P. J., Snow G. B., and van der Waal, I. Tobacco and alcohol related to the anatomical site of oral squamous cell carcinoma. J. Oral. Patho. Med. 22 (1993): 459-62.
- [84] Blot, W. J., et al. Smoking and drinking in relation to oral and pharyngeal cancer. Cancer. Res. 48 (1988): 3282-7.
- [85] Jaber, M. A., Porter, S. R., Gilthorpe, M. S., Bedi, R., and Scully, C. Risk factors for oral epithelial dysplasia-the role of smoking and alcohol. Oral. Oncol. 35 (1999): 151-6.
- [86] Mehrotra, R., and Yadav, S. Oral squamous cell carcinoma: etiology, pathogenesis and prognostic value of genomic alterations. Indian. J. Cancer. 43 (2006): 60-66.

- [87] Nemes, J. A., et al. Expression of p16 (INK4A), p53, and Rb proteins are independent from the presence of human papillomavirus genes in oral squamous cell carcinoma. Oral. Surg. Oral. Med. Oral. Pathol. Oral. Radiol. Endod. 102 (2006): 344-352.
- [88] Neville, B. W., Damm, D. D., Allen, C. M., and Bouquot, J. E. Oral & maxillofacial pathology. 2nd ed. India: Replika, 2002.
- [89] Larsson, L. G., Sandstrom, A., and Westling, P. Relationship of Plummer-Vinson disease to cancer of the upper alimentary tract in Sweden. Cancer. Res. 35 (1975): 3308-16.
- [90] Levi, F., et al. Food groups and risk of oral and pharyngeal cancer. Int. J. Cancer. 77 (1998): 705-9.
- [91] Scully, C., and Porter, S. ABC of oral health. Oral cancer. BMJ. 321 (2000): 97-100.
- [92] Neville, B. W., and Day, T. A. Oral cancer and precancerous lesions. CA. Cancer. J. Clin. 52 (2002): 195-215.
- [93] Pereira, M. C., Oliveira, D. T., Landman, G., and Kowalski, L. P. Histologic subtypes of oral squamous cell carcinoma: prognostic relevance. J. Can. Dent. Assoc. 73 (2007): 339-44.
- [94] Syrjänen, K. J., Syrjänen, S. M., Lamberg, M., Pyrhönen, S., and Nuutinen J. Morphological and immunohistochemical evidence suggesting human papillomavirus (HPV) involvement in oral squamous cell carcinogenesis. Int. J. Oral. Surg. 12 (1983): 418-24.
- [95] Chang, F., Syrjänen, S. M., Nuutinen, J., Kärjä, J., and Syrjänen, K. J. Detection of human papillomavirus (HPV) DNA in oral squamous cell carcinomas by in situ hybridization and polymerase chain reaction. Arch. Dermatol. Res. 282 (1990): 493-7.

- [96] Soares, R. C., Oliveira, M. C., de Souza, L. B., Costa Ade. L., and Pinto, L. P. Detection of HPV DNA and immunohistochemical expression of cell cycle proteins in oral carcinoma in a population of Brazilian patients. J. Appl. Oral. Sci. 16 (2008): 340-4.
- [97] Syrjänen, S. M., Syrjänen, K. J., and Lamberg, M. A. Detection of human papillomavirus DNA in oral mucosal lesions using in situ DNA-hybridization applied on paraffin sections. Oral. Surg. Oral. Med. Oral. Pathol. 62 (1986): 660-7.
- [98] Greer, R. O. Jr., Eversole, L. R., and Crosby, L. K. Detection of human papillomavirus-genomic DNA in oral epithelial dysplasias, oral smokeless tobacco-associated leukoplakias, and epithelial malignancies. J. Oral. Maxillofac. Surg. 48 (1990): 1201-5.
- [99] Young, S. K., and Min, K. W. In situ DNA hybridization analysis of oral papillomas, leukoplakias, and carcinomas for human papillomavirus. Oral. Surg. Oral. Med. Oral. Pathol. 71 (1991): 726-9.
- [100] Giovannelli, L., et al. Human papillomavirus DNA in oral mucosal lesions. J. Infect. Dis. 185 (2002): 833-6.
- [101] Campisi, G., et al. HPV DNA in clinically different variants of oral leukoplakia and lichen planus. Oral. Surg. Oral. Med. Oral. Pathol. Oral. Radiol. Endod. 98 (2004): 705-11.
- [102] Jontell, M., Watts, S., Wallstrom, M., Levin, L., and Sloberg, K. Human papilloma virus in erosive oral lichen planus. J. Oral. Pathol. Med. 19 (1990): 273-7.
- [103] Lazzari, C. M., Krug, L. P., Quadros, O. F., Baldi, C. B., and Bozzetti, M. C. Human papillomavirus frequency in oral epithelial lesions. J. Oral. Pathol. Med. 33 (2004): 260-3.

- [104] Sugiyama, S. M., Bhawal, U. K., Dohmen, T., Ono, S., Miyauchi, M., and Ishikawa, T. Detection of human papillomavirus-16 and HPV-18 DNA in normal, dysplastic, and malignant oral epithelium. Oral. Surg. Oral. Med. Oral. Pathol. Oral. Radiol. Endod. 95 (2003): 594-600.
- [105] Ali, SMA., et al. Human papillomavirus infection in oral squamous cell carcinomas: correlation with histologic variables and survival outcome in a high risk population. Oral. surgery. 1 (2008): 96-105.
- [106] Termine, N., et al. HPV in oral squamous cell carcinoma vs head and neck squamous cell carcinoma biopsies: a meta-analysis (1988-2007). Ann. Oncol. 19 (2008): 1681-90.
- [107] Miller, C. S., and White, D.K. Human papillomavirus expression in oral mucosa, premalignant conditions, and squamous cell carcinoma: a retrospective review of the literature. Oral. Surg. Oral. Med. Oral. Pathol. Oral. Radiol. Endod. 82 (1996): 57-68.
- [108] Miller, C. S., and Johnstone, B. M. Human papillomavirus as a risk factor for oral squamous cell carcinoma: a meta-analysis, 1982-1997. Oral. Surg. Oral. Med. Oral. Pathol. Oral. Radiol. Endod. 91 (2001): 622-35.
- [109] Mazzanti, M., Bustamante, J., and Oberleithner, H. Electrical Dimension of the Nuclear Envelope. Physiological. Review. 81 (2001): 1-20.



ภาคผนวก

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ก

เอกสารประกอบคำแนะนำแก่อาสาสมัครและผลการพิจารณาจริยธรรมการวิจัย

เอกสารประกอบคำแนะนำแก่อาสาสมัคร

การศึกษาวิจัย เรื่อง

ฮิวแมนแปปิโลมาไวรัส ชนิดที่ 16 ในรอยโรคไลเคนแพลนัส อีพิทีเลียล ดิสเพลเซีย และ มะเร็งสควอมาัส เซลล์ คาร์ซิโนมาในช่องปากของผู้ป่วยไทย

ผู้ทำการศึกษวิจัยหลัก

ทพญ.กมลวารี เกตุแก้ว

นิติบัญญัติโท ภาควิชาเวชศาสตร์ช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทันตแพทย์หญิง ดร.ประทานพร อารีราชการัตน์

ภาควิชาเวชศาสตร์ช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

โครงการวิจัยนี้เป็นการศึกษาถึงฮิวแมนแปปิโลมาไวรัส ชนิดที่ 16 ในรอยโรคไลเคนแพลนัส อีพิทีเลียล ดิสเพลเซีย และมะเร็งสควอมาัส เซลล์ คาร์ซิโนมาในช่องปากของผู้ป่วยไทย เชื้อไวรัสนี้อาจก่อให้เกิดรอยโรคได้ในหลายอวัยวะรวมทั้งช่องปาก โดยการวิจัยนี้ใช้การตรวจย้อมชิ้นเนื้อด้วยวิธีอิมมูโนฮิสโตเคมีเพื่อหาฮิวแมนแปปิโลมาไวรัส ชนิดที่ 16 ในเนื้อเยื่อรอยโรคไลเคนแพลนัส อีพิทีเลียล ดิสเพลเซีย และมะเร็งสควอมาัส เซลล์ คาร์ซิโนมาในช่องปาก เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่เป็นเนื้อเยื่อปกติในช่องปาก

อาสาสมัครกลุ่มเนื้อเยื่อปกตินี้ เป็นผู้ที่ต้องได้รับการรักษาทางศัลยกรรมช่องปาก มีการตัดเนื้อเยื่อเพื่อการรักษาอยู่แล้ว เช่น การถอนฟัน ผ่าฟันคุด โดยเนื้อเยื่อปกติซึ่งถูกตัดออกมานี้จะนำมาใช้ในงานวิจัยและไม่มีผลต่อการรักษาแต่อย่างใด จึงไม่เป็นอันตรายแก่ผู้ป่วย

ในงานวิจัยนี้ข้อมูลส่วนตัวของผู้ป่วยจะไม่มีการเผยแพร่ออกไป และการเปิดเผยข้อมูลของการวิจัยจะเป็นไปในรูปของการสรุปผลการวิจัย

ประโยชน์ที่ได้รับจากการศึกษา

ท่านจะได้รับการรักษาทางศัลยกรรมตามปกติโดยไม่มีผลแทรกซ้อนต่อการรักษาแต่อย่างใด และการศึกษานี้จะทำให้ได้รับข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับฮิวแมนแปปิโลมาไวรัส ชนิดที่ 16 ในรอยโรคไลเคนแพลนัส อีพิทีเลียล ดิสเพลเซีย และมะเร็งสควอมีส เซลล์ คาร์ซิโนมาในช่องปากของผู้ป่วยไทย ซึ่งมีประโยชน์ในการศึกษาถึงสาเหตุการเกิดโรค ปัจจัยที่มีความสัมพันธ์กับโรคไลเคนแพลนัส และอาจนำไปสู่การพัฒนาวิธีการรักษาโรคเหล่านี้ต่อไปในอนาคต

ผลข้างเคียงจากการศึกษา

ไม่มีผลข้างเคียงเพิ่มขึ้นจากการศึกษานี้ โดยผลจากการรักษาจะหายโดยใช้เวลาตามปกติของการหายของแผลชนิดนั้น ๆ ตามลักษณะของโรคหรือการรักษา

หากท่านมีข้อสงสัยประการใดหรือเกิดผลข้างเคียงใด ๆ จากการศึกษาดังกล่าวนี้อ ท่านสามารถติดต่อ

ทพญ.กัญจวี เกตุแก้ว

คลินิกบัณฑิตศึกษา ภาควิชาเวชศาสตร์ช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

โทรศัพท์ 02-218-8771

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทันตแพทย์หญิง ดร.ประทานพร อารีราชการันย์

ภาควิชาเวชศาสตร์ช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

โทรศัพท์ 02-218-8771, 02-218-8942

ศูนย์วิทยุทันตวิทยาการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เอกสารยินยอมมอบขึ้นเนื้อเพื่อใช้ในการทำวิจัย (Consent Form)

การวิจัยเรื่อง ฮิวแมนแปปปีโลมาไวรัส ชนิดที่ 16 ในรอยโรคไคเคนแพลนัส
อีพีทีเลียล ดิสเพลเซีย และมะเร็งสควอมัส เซลล์ คาร์ซิโนมาในช่องปากของผู้ป่วยไทย

ก่อนที่จะลงนามในเอกสารยินยอมนี้ ข้าพเจ้าได้รับการอธิบายจากผู้วิจัยถึงวัตถุประสงค์
ของการวิจัย วิธีการวิจัย รวมถึงประโยชน์ที่จะเกิดขึ้นจากการวิจัยอย่างละเอียด และมีความ
เข้าใจดีแล้ว

ผู้วิจัยรับรองว่าจะเก็บข้อมูลเฉพาะเกี่ยวกับตัวข้าพเจ้าเป็นความลับ และจะเปิดเผยได้
เฉพาะในรูปที่เป็นสรุปผลการวิจัย การเปิดเผยข้อมูลเกี่ยวกับตัวข้าพเจ้าต่อหน่วยงานต่างๆ ที่
เกี่ยวข้องกระทำได้เฉพาะกรณีจำเป็น ด้วยเหตุผลทางวิชาการเท่านั้น

ลงนาม.....ผู้ยินยอม
(.....)

ลงนาม.....พยาน
(.....)

ลงนาม.....พยาน
(.....)

ลงนาม.....หัวหน้าโครงการวิจัย
(.....)

วันที่ให้ความยินยอม วันที่.....เดือน.....พ.ศ.....

ศูนย์วิจัยทันตวิทยา
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ข้าพเจ้าไม่สามารถอ่านหนังสือได้ แต่ผู้วิจัยได้อ่านข้อความในใบยินยอมนี้ให้แก่ข้าพเจ้าฟังจนเข้าใจดีแล้ว ข้าพเจ้าจึงลงนาม หรือประทับลายนิ้วหัวแม่มือขวาของข้าพเจ้าในใบยินยอมนี้ด้วยความเต็มใจ

ลงนาม.....ผู้ยินยอม

(.....)

ลงนาม.....พยาน

(.....)

ลงนาม.....พยาน

(.....)

ลงนาม.....หัวหน้าโครงการวิจัย

(.....)

วันให้คำยินยอมเข้าร่วมวิจัย วันที่.....เดือน.....พ.ศ.....

ในกรณีที่ผู้ถูกทดลองยังไม่บรรลุนิติภาวะ จะต้องได้รับการยินยอมจากผู้ปกครองหรือ ผู้อุปการะโดยชอบด้วยกฎหมาย

ลงนาม.....ผู้ยินยอม

(.....)

ลงนาม.....พยาน

(.....)

ลงนาม.....พยาน

(.....)

ลงนาม.....หัวหน้าโครงการวิจัย

(.....)

วันให้คำยินยอมเข้าร่วมวิจัย วันที่.....เดือน.....พ.ศ.....

เอกสารยกเลิกการยินยอมเข้าร่วมวิจัย (Withdrawal Form)

การวิจัยเรื่อง ฮิวแมนแปปปีโลมาไวรัส ชนิดที่ 16 ในรอยโรคไคเคนแพลนัส
อีพีทีเลียล ดิสเพลเซีย และมะเร็งสควอมาตัส เซลล์ คาร์ซิโนมาในช่องปากของผู้ป่วยไทย

เหตุผลในการยกเลิกการยินยอมเข้าร่วมวิจัย

- ย้ายภูมิลำเนา
- ไม่สะดวกในการเดินทาง
- เหตุผลอื่น

.....

.....

ลงนาม.....ผู้ยกเลิกการยินยอม

(.....)

ลงนาม.....พยาน

(.....)

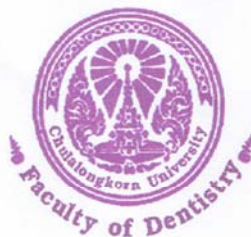
ลงนาม.....พยาน

(.....)

ลงนาม.....หัวหน้าโครงการวิจัย

(.....)

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



No. 31 / 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 : Human Papillomavirus Type 16 and 18 in Oral Lichen Planus, Epithelial Dysplasia and Squamous Cell Carcinoma in Thai Patients

Study Code :-

Center : Chulalongkorn University

Principle Investigator : Dr. Klawajee Ketkaew

Protocol Date : June 17, 2010

Document Reviewed : July 2, 2010

A handwritten signature in black 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

การแสดงจำนวน เพศ และอายุ ของกลุ่มตัวอย่าง

Sex

lesion			Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
normal	Valid	male	7	35.0	35.0	35.0
		female	13	65.0	65.0	100.0
		Total	20	100.0	100.0	
OSCC	Valid	male	16	53.3	53.3	53.3
		female	14	46.7	46.7	100.0
		Total	30	100.0	100.0	
epithelial dysplasia	Valid	male	15	50.0	50.0	50.0
		female	15	50.0	50.0	100.0
		Total	30	100.0	100.0	
lichen planus	Valid	male	17	28.3	28.3	28.3
		female	43	71.7	71.7	100.0
		Total	60	100.0	100.0	

Age

Descriptive Statistics

lesion		N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
normal	age	20	16	43	24.65	7.555
	Valid N (listwise)	20				
OSCC	age	30	33	80	59.77	12.605
	Valid N (listwise)	30				
epithelial dysplasia	age	30	28	77	55.77	12.577
	Valid N (listwise)	30				
lichen planus	age	60	19	71	45.80	11.995
	Valid N (listwise)	60				

การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยอายุในแต่ละกลุ่มตัวอย่าง

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

lesion			age
normal	N		20
	Normal Parameters ^{a,b}	Mean	24.65
		Std. Deviation	7.555
	Most Extreme Differences	Absolute	.186
		Positive	.186
		Negative	-.126
	Kolmogorov-Smirnov Z		.834
Asymp. Sig. (2-tailed)		.490	
OSCC	N		30
	Normal Parameters ^{a,b}	Mean	59.77
		Std. Deviation	12.605
	Most Extreme Differences	Absolute	.109
		Positive	.071
		Negative	-.109
	Kolmogorov-Smirnov Z		.597
Asymp. Sig. (2-tailed)		.868	
epithelial dysplasia	N		30
	Normal Parameters ^{a,b}	Mean	55.77
		Std. Deviation	12.577
	Most Extreme Differences	Absolute	.123
		Positive	.123
		Negative	-.093
	Kolmogorov-Smirnov Z		.671
Asymp. Sig. (2-tailed)		.759	
lichen planus	N		60
	Normal Parameters ^{a,b}	Mean	45.80
		Std. Deviation	11.995
	Most Extreme Differences	Absolute	.090
		Positive	.042
		Negative	-.090
	Kolmogorov-Smirnov Z		.697
Asymp. Sig. (2-tailed)		.716	

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

age

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.215	3	136	.089

ANOVA

age

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	17156.910	3	5718.970	41.440	.000
Within Groups	18768.883	136	138.006		
Total	35925.793	139			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

age

Tukey HSD

(I) lesion	(J) lesion	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
normal	OSCC	-35.117 [*]	3.391	.000	-43.94	-26.30
	epithelial dysplasia	-31.117 [*]	3.391	.000	-39.94	-22.30
	lichen planus	-21.150 [*]	3.033	.000	-29.04	-13.26
OSCC	normal	35.117 [*]	3.391	.000	26.30	43.94
	epithelial dysplasia	4.000	3.033	.553	-3.89	11.89
	lichen planus	13.967 [*]	2.627	.000	7.13	20.80
epithelial dysplasia	normal	31.117 [*]	3.391	.000	22.30	39.94
	OSCC	-4.000	3.033	.553	-11.89	3.89
	lichen planus	9.967 [*]	2.627	.001	3.13	16.80
lichen planus	normal	21.150 [*]	3.033	.000	13.26	29.04
	OSCC	-13.967 [*]	2.627	.000	-20.80	-7.13
	epithelial dysplasia	-9.967 [*]	2.627	.001	-16.80	-3.13

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

การแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเพศและกลุ่มตัวอย่าง

lesion * sex Crosstabulation

Count

		sex		Total
		male	female	
lesion	normal	7	13	20
	OSCC	16	14	30
	epithelial dysplasia	15	15	30
	lichen planus	17	43	60
Total		55	85	140

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	7.097 ^a	3	.069
Likelihood Ratio	7.132	3	.068
Linear-by-Linear Association	2.023	1	.155
N of Valid Cases	140		

a. 0 cells (.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 7.86.

ศูนย์วิทยุทยาการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเพศและผลการตรวจพบ HPV-16

result * sex Crosstabulation

Count

		sex		Total
		male	female	
result	negative	39	53	92
	positive	16	32	48
Total		55	85	140

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	1.085 ^a	1	.298		
Continuity Correction ^b	.738	1	.390		
Likelihood Ratio	1.097	1	.295		
Fisher's Exact Test				.363	.195
Linear-by-Linear Association	1.077	1	.299		
N of Valid Cases	140				

a. 0 cells (.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 18.86.

b. Computed only for a 2x2 table

การแสดงความสัมพันธ์ระหว่างชนิดของรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปาก
และผลการตรวจพบ HPV-16

lesion_grade * result Crosstabulation

			result		Total
			negative	positive	
lesion_grade	reticular LP	Count	0	1	1
		% within lesion_grade	.0%	100.0%	100.0%
	atrophic LP	Count	35	12	47
		% within lesion_grade	74.5%	25.5%	100.0%
	erosive LP	Count	9	3	12
		% within lesion_grade	75.0%	25.0%	100.0%
Total		Count	44	16	60
		% within lesion_grade	73.3%	26.7%	100.0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	2.798 ^a	2	.247
Likelihood Ratio	2.692	2	.260
Linear-by-Linear Association	.399	1	.528
N of Valid Cases	60		

a. 3 cells (50.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is .27.

การแสดงความสัมพันธ์ระหว่างระดับความรุนแรงและลักษณะทางคลินิกของ
รอยโรคอีพิทีเลียล ดิสเพลเซีย

clinical * lesion_grade Crosstabulation

			lesion_grade			Total
			mild ED	moderate ED	severe ED	
clinical	whtie	Count	5	2	2	9
		% within clinical	55.6%	22.2%	22.2%	100.0%
	red	Count	4	2	0	6
		% within clinical	66.7%	33.3%	.0%	100.0%
	whtie and red	Count	6	5	4	15
		% within clinical	40.0%	33.3%	26.7%	100.0%
Total	Count	15	9	6	30	
	% within clinical	50.0%	30.0%	20.0%	100.0%	

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	2.504 ^a	4	.644
Likelihood Ratio	3.675	4	.452
Linear-by-Linear Association	.545	1	.460
N of Valid Cases	30		

a. 8 cells (88.9%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 1.20.

การแสดงความสัมพันธ์ระหว่างระดับความรุนแรงของรอยโรคอีพิทีเลียล ดิสเพลเซีย
และผลการตรวจพบ HPV-16

lesion_grade * result Crosstabulation

Count

		result		Total
		negative	positive	
lesion_grade	mild ED	3	12	15
	moderate ED	2	7	9
	severe ED	3	3	6
Total		8	22	30

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	2.102 ^a	2	.350
Likelihood Ratio	1.930	2	.381
Linear-by-Linear Association	1.556	1	.212
N of Valid Cases	30		

a. 4 cells (66.7%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 1.60.

การแสดงความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะทางคลินิกของรอยโรคอีพิทีเลียล ดิสเพลเซีย
และผลการตรวจพบ HPV-16

clinical * result Crosstabulation

Count

		result		Total
		negative	positive	
clinical	white	1	8	9
	red	1	5	6
	white and red	6	9	15
Total		8	22	30

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	2.784 ^a	2	.249
Likelihood Ratio	2.919	2	.232
Linear-by-Linear Association	2.506	1	.113
N of Valid Cases	30		

a. 4 cells (66.7%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 1.60.

การแสดงความสัมพันธ์ระหว่างกลุ่มตัวอย่างและการตรวจพบ HPV-16

lesion * result Crosstabulation

			result		Total
			negative	positive	
lesion	normal	Count	17	3	20
		% within lesion	85.0%	15.0%	100.0%
	OSCC	Count	23	7	30
		% within lesion	76.7%	23.3%	100.0%
	epithelial dysplasia	Count	8	22	30
		% within lesion	26.7%	73.3%	100.0%
	lichen planus	Count	44	16	60
		% within lesion	73.3%	26.7%	100.0%
Total		Count	92	48	140
		% within lesion	65.7%	34.3%	100.0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)	Point Probability
Pearson Chi-Square	26.747 ^a	3	.000	.000		
Likelihood Ratio	26.126	3	.000	.000		
Fisher's Exact Test	25.155			.000		
Linear-by-Linear Association	1.076 ^b	1	.300	.334	.170	.038
N of Valid Cases	140					

a. 0 cells (.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 6.86.

b. The standardized statistic is 1.037.

Symmetric Measures

		Value	Approx. Sig.	Exact Sig.
Nominal by Nominal	Contingency Coefficient	.401	.000	.000
N of Valid Cases		140		

การแสดงร้อยละของเซลล์ที่ตรวจพบ HPV-16 ในแต่ละกลุ่มตัวอย่าง

Descriptive Statistics

lesion		N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
normal	positive_percent_mean	20	.00	87.30	6.4386	20.07934
	Valid N (listwise)	20				
OSCC	positive_percent_mean	30	.00	86.37	10.5355	22.29384
	Valid N (listwise)	30				
epithelial dysplasia	positive_percent_mean	30	.00	90.86	36.6807	28.22714
	Valid N (listwise)	30				
lichen planus	positive_percent_mean	60	.00	82.58	9.3943	20.32638
	Valid N (listwise)	60				

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การเปรียบเทียบร้อยละของจำนวนเซลล์ที่ให้ผลบวกต่อ HPV-16
ในแต่ละกลุ่มตัวอย่าง

NPar Tests

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

lesion			positive_percent _mean
normal	N		20
	Normal Parameters ^{a,b}	Mean	6.4386
		Std. Deviation	20.07934
	Most Extreme Differences	Absolute	.476
		Positive	.476
		Negative	-.374
	Kolmogorov-Smirnov Z		2.128
	Asymp. Sig. (2-tailed)		.000
OSCC	N		30
	Normal Parameters ^{a,b}	Mean	10.5355
		Std. Deviation	22.29384
	Most Extreme Differences	Absolute	.448
		Positive	.448
		Negative	-.318
	Kolmogorov-Smirnov Z		2.456
	Asymp. Sig. (2-tailed)		.000
epithelial dysplasia	N		30
	Normal Parameters ^{a,b}	Mean	36.6807
		Std. Deviation	28.22714
	Most Extreme Differences	Absolute	.171
		Positive	.171
		Negative	-.097
	Kolmogorov-Smirnov Z		.935
	Asymp. Sig. (2-tailed)		.346
lichen planus	N		60
	Normal Parameters ^{a,b}	Mean	9.3943
		Std. Deviation	20.32638
	Most Extreme Differences	Absolute	.447
		Positive	.447
		Negative	-.322
	Kolmogorov-Smirnov Z		3.459
	Asymp. Sig. (2-tailed)		.000

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Kruskal-Wallis Test

Ranks

	lesion	N	Mean Rank
positive_percent_mean	normal	20	56.33
	OSCC	30	62.68
	epithelial dysplasia	30	101.00
	lichen planus	60	63.88
	Total	140	

Test Statistics^{a,b}

	positive_percent_mean
Chi-Square	30.882
df	3
Asymp. Sig.	.000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: lesion

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Kruskal-Wallis test

Variables: normal, OSCC, epithelial dysplasia, lichen planus

Groups = 4

df = 3

Total observations = 140

T = 22.119111

P < 0.0001

Adjusted for ties:

T = 30.882235

P < 0.0001

At least one of your sample populations tends to yield larger observations than at least one other sample population.

Kruskal-Wallis: all pairwise comparisons (Dwass-Steel-Christlow-Fligner)

Critical q (range) = 3.63316

normal vs. OSCC	not significant
(-1.142427 > 3.63316)	P = 0.8508
normal vs. epithelial dysplasia	significant
(-5.538286 > 3.63316)	P = 0.0005
normal vs. lichen planus	not significant
(-1.474175 > 3.63316)	P = 0.7245
OSCC vs. epithelial dysplasia	significant
(5.471744 > 3.63316)	P = 0.0006
OSCC vs. lichen planus	not significant
(-0.315853 > 3.63316)	P = 0.9961
epithelial dysplasia vs. lichen planus	significant
(6.561381 > 3.63316)	P < 0.0001

Kruskal-Wallis: all pairwise comparisons (Conover-Inman)

Critical t (136 df) = 1.977561

normal and OSCC	not significant
(6.358333 > 21.464682)	P = 0.559
normal and epithelial dysplasia	significant
(44.675 > 21.464682)	P < 0.0001
normal and lichen planus	not significant
(7.558333 > 19.198596)	P = 0.4376
OSCC and epithelial dysplasia	significant
(38.316667 > 19.198596)	P = 0.0001
OSCC and lichen planus	not significant
(1.2 > 16.626471)	P = 0.8867
epithelial dysplasia and lichen planus	significant
(37.116667 > 16.626471)	P < 0.0001

การแสดงตำแหน่งของการให้ผลบวกในส่วนต่างๆ ของเซลล์

Position

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	nucleus	7	14.6	14.6	14.6
	cytoplasm	19	39.6	39.6	54.2
	both sites	22	45.8	45.8	100.0
	Total	48	100.0	100.0	

การแสดงตำแหน่งการติดสีในเซลล์เยื่อผิวที่ให้ผลบวกโดยแยกตามกลุ่มตัวอย่าง

Position

lesion			Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
normal	Valid	nucleus	1	33.3	33.3	33.3
		cytoplasm	1	33.3	33.3	66.7
		both sites	1	33.3	33.3	100.0
		Total	3	100.0	100.0	
OSCC	Valid	cytoplasm	2	28.6	28.6	28.6
		both sites	5	71.4	71.4	100.0
		Total	7	100.0	100.0	
epithelial dysplasia	Valid	nucleus	1	4.5	4.5	4.5
		cytoplasm	12	54.5	54.5	59.1
		both sites	9	40.9	40.9	100.0
		Total	22	100.0	100.0	
lichen planus	Valid	nucleus	5	31.3	31.3	31.3
		cytoplasm	4	25.0	25.0	56.3
		both sites	7	43.8	43.8	100.0
		Total	16	100.0	100.0	

การแสดงความสัมพันธ์ระหว่างตำแหน่งของการติดสีในเซลล์เยื่อบุผิว
กับกลุ่มตัวอย่าง

lesion * position Crosstabulation

Count

		position			Total
		nucleus	cytoplasm	both sites	
lesion	normal	1	1	1	3
	OSCC	0	2	5	7
	epithelial dysplasia	1	12	9	22
	lichen planus	5	4	7	16
Total		7	19	22	48

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)	Point Probability
Pearson Chi-Square	9.894 ^a	6	.129	.128		
Likelihood Ratio	10.417	6	.108	.160		
Fisher's Exact Test	9.072			.121		
Linear-by-Linear Association	.861 ^b	1	.353	.415	.213	.063
N of Valid Cases	48					

a. 8 cells (66.7%) have expected count less than 5. The minimum expected count is .44.

b. The standardized statistic is -.928.

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวกัลลวจี เกตุแก้ว เกิดวันที่ 7 มิ.ย. พ.ศ. 2524 ที่จังหวัดพิษณุโลก จบการศึกษา ระดับมัธยมศึกษา จากโรงเรียนเฉลิมขวัญสตรี จังหวัดพิษณุโลก และสำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรี ทันตแพทยศาสตรบัณฑิต จากมหาวิทยาลัยนเรศวร ในปี พ.ศ. 2548 จากนั้นได้รับการบรรจุเป็นข้าราชการในตำแหน่งทันตแพทย์ 4 ที่โรงพยาบาลข้าสูง จังหวัดขอนแก่น และในปี พ.ศ. 2550 ได้ย้ายมารับราชการที่โรงพยาบาลสมเด็จพระยุพราชนครไทย จังหวัดพิษณุโลก หลังจากนั้นในปี พ.ศ. 2552 ได้รับการอนุมัติให้ลาศึกษาต่อในหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชา เวชศาสตร์ช่องปาก ที่ภาควิชาเวชศาสตร์ช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ศูนย์วิทยพัชกร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย