

บทที่ 4

ผลการทดลอง

1. ตรวจหาแอนติบอดีต่อ EBV associated antigens ในเซลล์ B₉₅₋₈ โดยวิธี indirect immunofluorescence ในผู้ป่วยมะเร็งและคนปกติ

1.1 ทำการตรวจหาแอนติบอดีชนิด Ig G ต่อ EBV associated antigens ในผู้ป่วย NPC 40 ราย, ลิมฟ์โพรมา 30 ราย, มะเร็งบริเวณลำคอและใบหน้า 50 ราย, มะเร็งปอด 40 ราย, มะเร็งตับ 40 ราย, มะเร็งบริเวณอื่น ๆ ของร่างกาย 50 ราย, และคนปกติ 50 ราย

พบว่าผู้ป่วยทุกกลุ่มและคนปกติทุกรายมีแอนติบอดีชนิด Ig G ต่อ EBV associated antigens ในระดับต่างกัน (ตารางที่ 2)

1.2 ทำการตรวจหาแอนติบอดีชนิด Ig A ต่อ EBV associated antigens ในผู้ป่วยมะเร็งและคนปกติ ซึ่งเป็นกลุ่มเดียวกันกับกลุ่มที่ตรวจหาแอนติบอดีชนิด Ig G ในข้อ 1.1 มาแล้ว

พบว่าเฉพาะผู้ป่วย NPC และลิมฟ์โพรมา เท่านั้นที่ตรวจพบแอนติบอดีชนิด Ig A ต่อ EBV associated antigens โดยพบว่าผู้ป่วย NPC มีแอนติบอดีชนิด Ig A ต่อ EBV associated antigens 82.5% และพบในระดับต่าง ๆ กัน ส่วนผู้ป่วยลิมฟ์โพรมา พบว่ามีแอนติบอดีชนิด Ig A ต่อ EBV associated antigens 36.6% และพบในระดับต่าง ๆ กันเช่นเดียวกัน สำหรับผู้ป่วยมะเร็งกลุ่มอื่น ๆ รวมทั้งคนปกติตรวจไม่พบแอนติบอดีชนิด Ig A เลย (ตารางที่ 3)

1.3 ลักษณะ fluorescent positive cells จากการใช้เซลล์ B₉₅₋₈ (รูปที่ 5) เป็น source ของ EBV associated antigens ในการตรวจหาแอนติบอดีชนิด Ig G และ Ig A ต่อ EBV associated antigens โดยวิธี indirect immunofluorescence นั้นใช้ได้ goat anti-human Ig G (heavy chain specific) fluorescein conjugated สำหรับหาแอนติบอดีชนิด Ig G และใช้

goat anti-human Ig A (heavy chain specific) fluorescein conjugated สำหรับหาแอนติบอดีชนิด Ig A จากการดูด้วย fluorescent microscope พบว่า fluorescent positive cell จะติดสี fluorescent เห็นเรืองแสงสีเขียว สำหรับการติดสีนั้น บางเซลล์ติดสีที่ nucleus และติดสีที่ขอบบริเวณ cytoplasm (รูปที่ 6) แต่ส่วนใหญ่เซลล์จะติดสีทั้งเซลล์ (รูปที่ 7)

2. ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างระดับของแอนติบอดีชนิด Ig G กับระดับแอนติบอดีชนิด Ig A ต่อ EBV associated antigens ในผู้ป่วยมะเร็ง

ความสัมพันธ์ระหว่างระดับของแอนติบอดีชนิด Ig G และระดับของแอนติบอดีชนิด Ig A ต่อ EBV antigens ในผู้ป่วย NPC และลิ้มโฟมา ได้แสดงให้เห็นในรูปที่ 8 จะเห็นได้ว่าผู้ป่วย NPC และลิ้มโฟมาบางรายที่มีแอนติบอดีชนิด Ig A สูง จะมีแอนติบอดีชนิด Ig G สูงด้วยเช่นกัน เช่นในผู้ป่วย NPC 1 ราย พบว่ามีแอนติบอดีชนิด Ig A เท่ากับ 1:640 และมีแอนติบอดีชนิด Ig G เท่ากับ 1:1280 และผู้ป่วยลิ้มโฟมา 1 ราย มีแอนติบอดีชนิด Ig A เท่ากับ 1:320 และมีแอนติบอดีชนิด Ig G เท่ากับ 1:640 เป็นต้น แต่มีผู้ป่วย NPC และลิ้มโฟมาบางรายพบว่ามีแอนติบอดีชนิด Ig G สูง แต่ตรวจไม่พบแอนติบอดีชนิด Ig A และเมื่อดูความสัมพันธ์ระหว่างระดับของแอนติบอดีชนิด Ig G และ Ig A ต่อ EBV associated antigens ในผู้ป่วย NPC พบว่ามีค่า correlation coefficient เท่ากับ 0.88 คือมีความสัมพันธ์กันแต่ไม่สมบูรณ์เลยทีเดียว เมื่อดูความสัมพันธ์ระหว่างระดับแอนติบอดีชนิด Ig G และ Ig A ในผู้ป่วยลิ้มโฟมาพบว่ามีค่า correlation coefficient เท่ากับ 0.84

ส่วนผู้ป่วยมะเร็งกลุ่มอื่น ๆ แม้ว่าจะพบว่าระดับแอนติบอดีชนิด Ig G ต่อ EBV associated antigens จะสูงก็ตาม แต่ก็ไม่สามารถตรวจพบแอนติบอดีชนิด Ig A ต่อ EBV associated antigens เลย (รูปที่ 8)

3. ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างระดับแอนติบอดีกับระยะของโรค NPC

3.1 ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างระดับแอนติบอดีชนิด Ig A ต่อ EBV associated antigens ในผู้ป่วย NPC กับระยะของโรค จากการศึกษาผู้ป่วย NPC 26 ราย พบว่าผู้ป่วย NPC ระยะที่ I มี 2 ราย, ระยะที่ II มี 9 ราย, ระยะที่ III

มี 13 ราย และระยะที่ IV มี 2 ราย เห็นได้ว่าผู้ป่วย NPC ระยะที่ I และระยะที่ II มีระดับแอนติบอดีชนิด Ig A สูงไม่มากนักเมื่อเปรียบเทียบกับผู้ป่วย NPC ระยะที่ III และระยะที่ IV และผู้ป่วย NPC ระยะที่ IV ซึ่งเป็นระยะสุดท้ายของโรคจะพบแอนติบอดีชนิด Ig A ในระดับสูงมาก (รูปที่ 9, ตารางที่ 4)

3.2 ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างระดับแอนติบอดีชนิด Ig G ต่อ EBV associated antigens ในผู้ป่วย NPC กับระยะของโรค จากการศึกษาผู้ป่วย NPC 26 ราย ซึ่งเป็นผู้ป่วยกลุ่มเดียวกันกับที่ศึกษาในข้อ 3.1 เห็นได้ว่าผู้ป่วย NPC ทุกราย มีระดับแอนติบอดีชนิด Ig G สูง โดยเฉพาะผู้ป่วย NPC ระยะที่ IV พบว่าระดับแอนติบอดีชนิด Ig G สูงมาก (รูปที่ 10, ตารางที่ 5)

4. ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างระดับแอนติบอดีกับ histological types ของ NPC ในผู้ป่วย NPC

4.1 ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างระดับแอนติบอดีชนิด Ig A ต่อ EBV associated antigens กับ histological types ของ NPC ในผู้ป่วย NPC จากการศึกษาผู้ป่วย NPC 26 ราย พบว่ามีผู้ป่วยชนิด poorly differentiated cell carcinoma 16 ราย ชนิด undifferentiated cell carcinoma 10 ราย ส่วนชนิด well differentiated cell carcinoma ไม่มีเลย ระดับแอนติบอดีชนิด Ig A ในผู้ป่วย NPC ทั้ง 2 ชนิดพบว่าสูงใกล้เคียงกัน (รูปที่ 11, ตารางที่ 6)

4.2 ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างระดับแอนติบอดีชนิด Ig G ต่อ EBV associated antigens กับ histological types ในผู้ป่วย NPC จากการศึกษาผู้ป่วย NPC 26 ราย ซึ่งเป็นผู้ป่วย NPC กลุ่มเดียวกับที่ศึกษาในข้อ 4.1 เห็นได้ว่าผู้ป่วย NPC ทุกรายมีระดับแอนติบอดีชนิด Ig G สูง (รูปที่ 12, ตารางที่ 7)

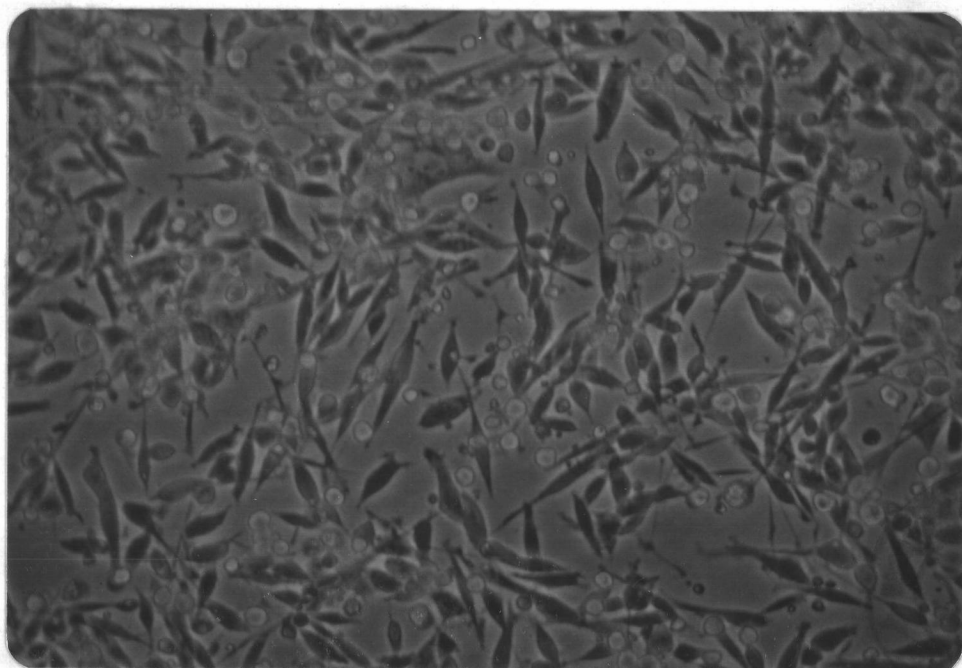
5. ติดตามผลการรักษาของผู้ป่วย NPC 3 ราย โดยศึกษาระดับแอนติบอดีต่อ EBV associated antigens กับระยะเวลาหลังการรักษา (รูปที่ 13)

ผู้ป่วยชาย รายที่ 1 เป็น NPC ชนิด poorly differentiated cell carcinoma ระยะที่ II ตรวจแอนติบอดีครั้งแรกพบว่า Ig A เท่ากับ 1:20 และ Ig G เท่ากับ 1:160 ตรวจครั้งที่ 2 (11 เดือนต่อมา) หลังจากได้รับการรักษาโดย

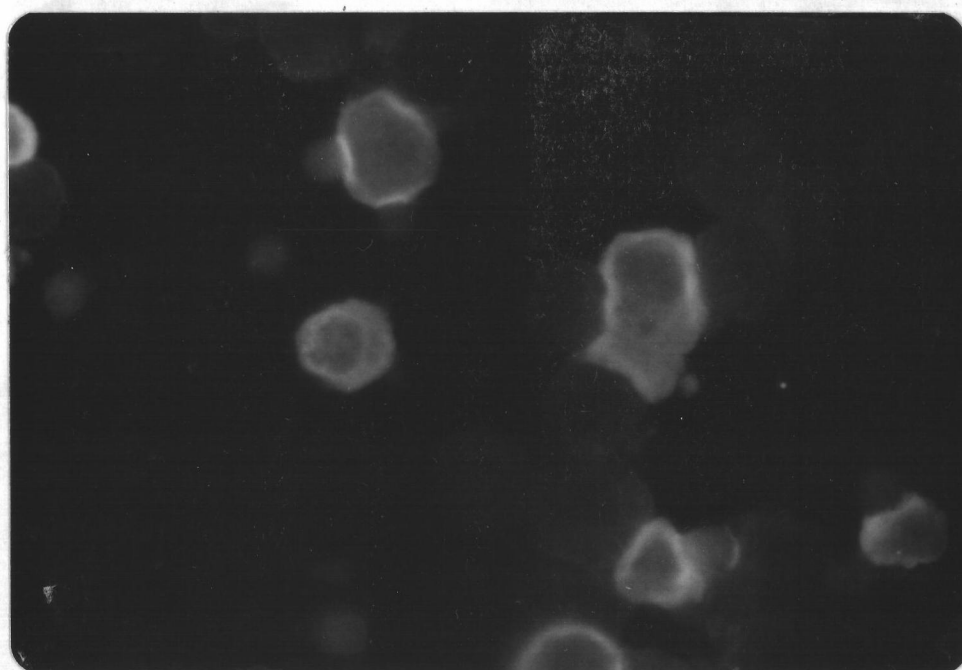
วิธีรังสีรักษาพบว่าแอนติบอดีชนิด Ig A ลดลงเหลือ 1:10 ตรวจครั้งที่ 3 (2 เดือนต่อมา) พบว่าแอนติบอดีชนิด Ig A ลดลงเหลือน้อยกว่า 1:10 พบว่าผู้ป่วยมีอาการดีขึ้นคือหายปวดและระบบการหายใจดีขึ้น ต่อมาผู้ป่วยมาพบแพทย์เนื่องจากมีอาการของโรคขึ้นมาอีก และตรวจหาแอนติบอดีเป็นครั้งที่ 4 (8 เดือนต่อมา) พบว่าแอนติบอดีชนิด Ig A ต่อ EBV associated antigens เพิ่มขึ้นเป็น 1:20 ส่วนระดับแอนติบอดีชนิด Ig G ในทุกระยะที่ทำการตรวจหาไม่เปลี่ยนแปลง

ผู้ป่วยหญิง รายที่ 2 เป็น NPC ชนิด poorly differentiated cell carcinoma ระยะที่ III ตรวจแอนติบอดีครั้งแรกพบว่า Ig A เท่ากับ 1:160 Ig G เท่ากับ 1:320 ตรวจครั้งที่ 2 (4 เดือนต่อมา) หลังการรักษาโดยตัดเนื้องอกและรักษาด้วยวิธีรังสีรักษา พบว่าแอนติบอดีชนิด Ig A ลดลงเหลือ 1:40 ผู้ป่วยมีอาการดีขึ้นคือหายปวด เลือดออกน้อยลงและระบบการหายใจดีขึ้น ตรวจครั้งที่ 3 (4 เดือนต่อมา) พบว่าแอนติบอดีชนิด Ig A เพิ่มขึ้นเป็น 1:160 และตรวจครั้งที่ 4 (9 เดือนต่อมา) แอนติบอดีชนิด Ig A เพิ่มขึ้นเป็น 1:320 ผู้ป่วยมีอาการของโรคขึ้นมาอีก และกลับมารับการรักษาที่โรงพยาบาล พบว่าผู้ป่วยมี recurrent tumour ส่วนระดับแอนติบอดีชนิด Ig G ต่อ EBV associated antigens ไม่มีเปลี่ยนแปลง ในทุกระยะที่ทำการตรวจหา

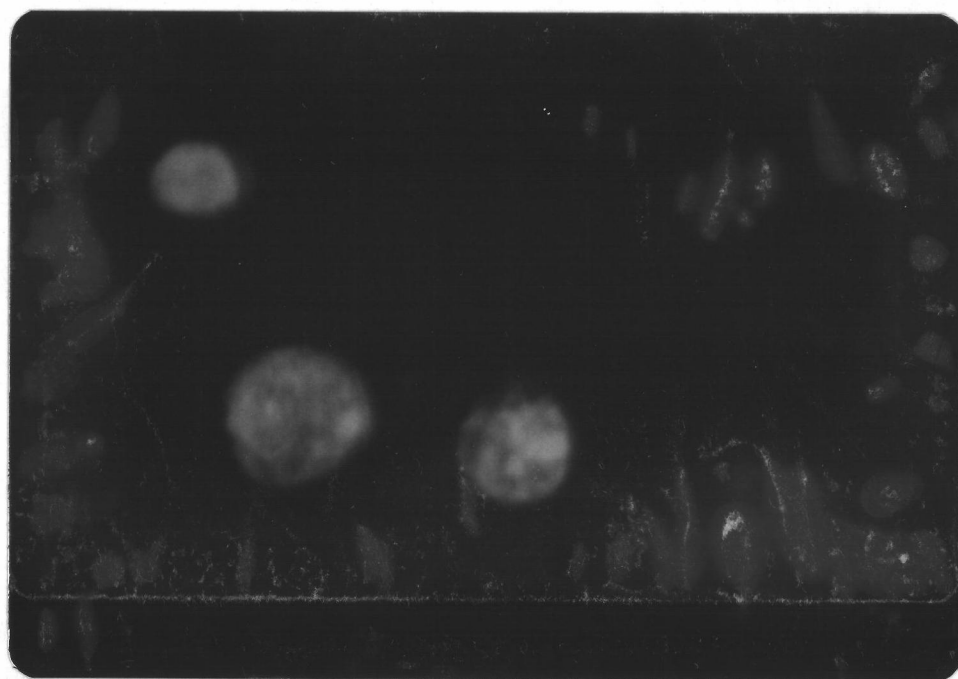
ผู้ป่วยชาย รายที่ 3 เป็น NPC ชนิด poorly differentiated cell carcinoma ระยะที่ II ตรวจแอนติบอดีครั้งแรกพบว่า Ig A เท่ากับ 1:40, Ig G เท่ากับ 1:160 ตรวจครั้งที่ 2 (2 เดือนต่อมา) หลังจากได้รับการรักษาด้วยวิธีรังสีรักษา พบว่าแอนติบอดีชนิด Ig A เพิ่มขึ้นเป็น 1:80 และแอนติบอดีชนิด Ig G เพิ่มขึ้นเป็น 1:160 ตรวจครั้งที่ 3 (2 เดือนต่อมา) พบว่าแอนติบอดีชนิด Ig A ลดลงเป็น 1:40 ส่วนระดับแอนติบอดีชนิด Ig G ยังคงที่อยู่และผู้ป่วยมีอาการดีขึ้นคือหายปวดและระบบการหายใจดีขึ้น



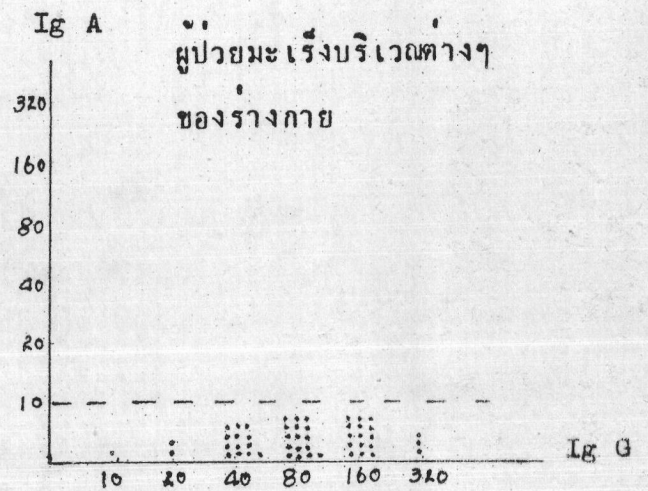
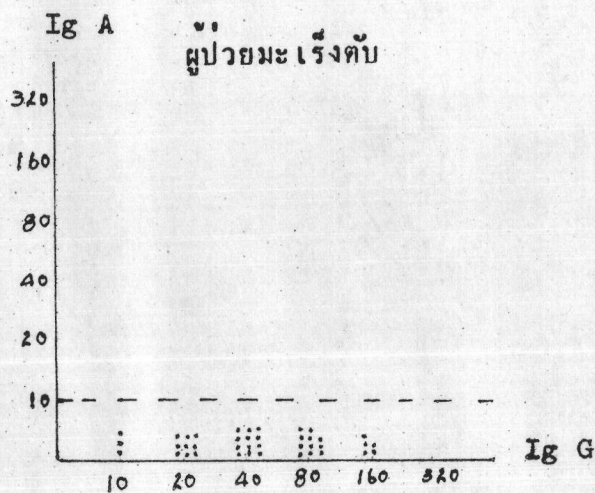
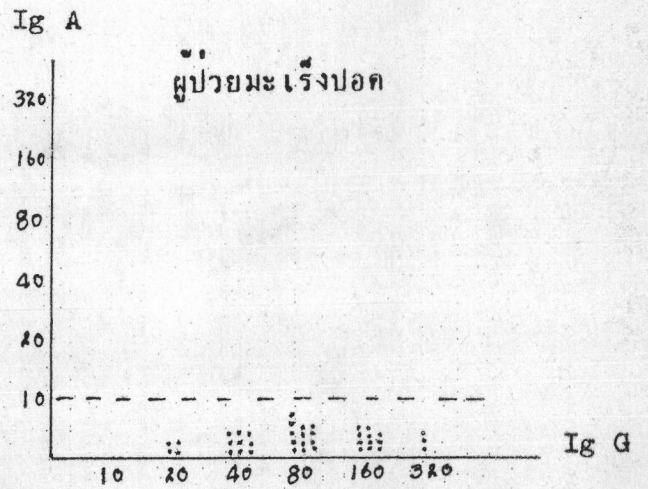
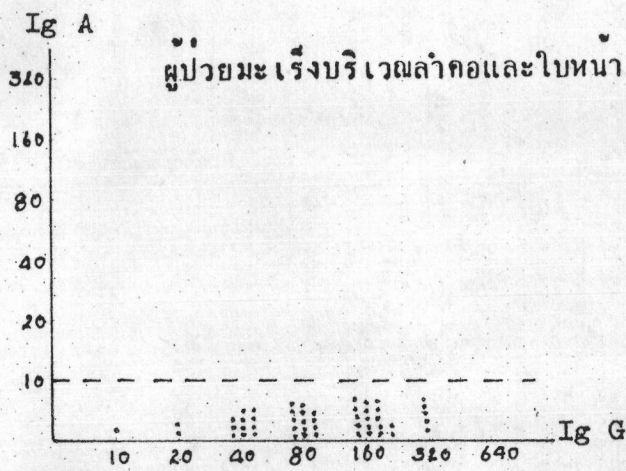
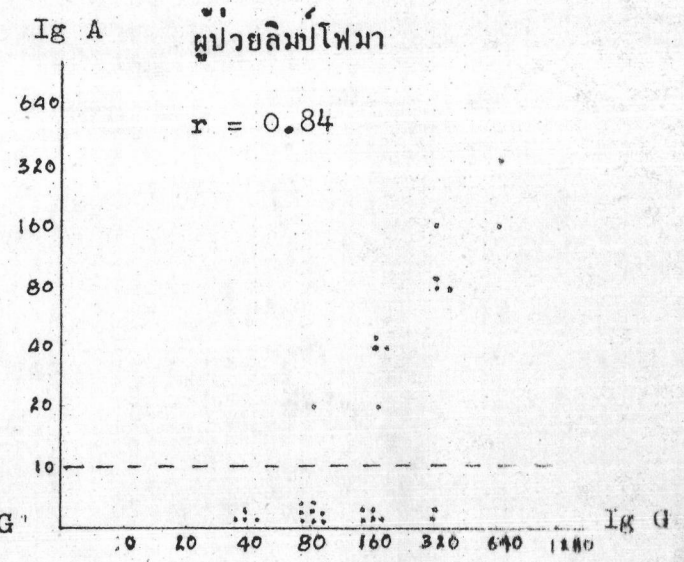
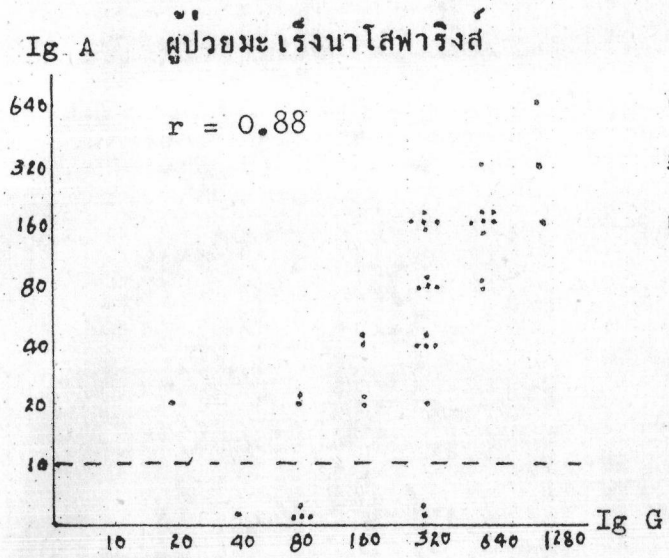
รูปที่ 5 แสดงลักษณะของ เซลล์ B₉₅₋₈ ที่เพาะเลี้ยงในขวดแก้ว (x100)



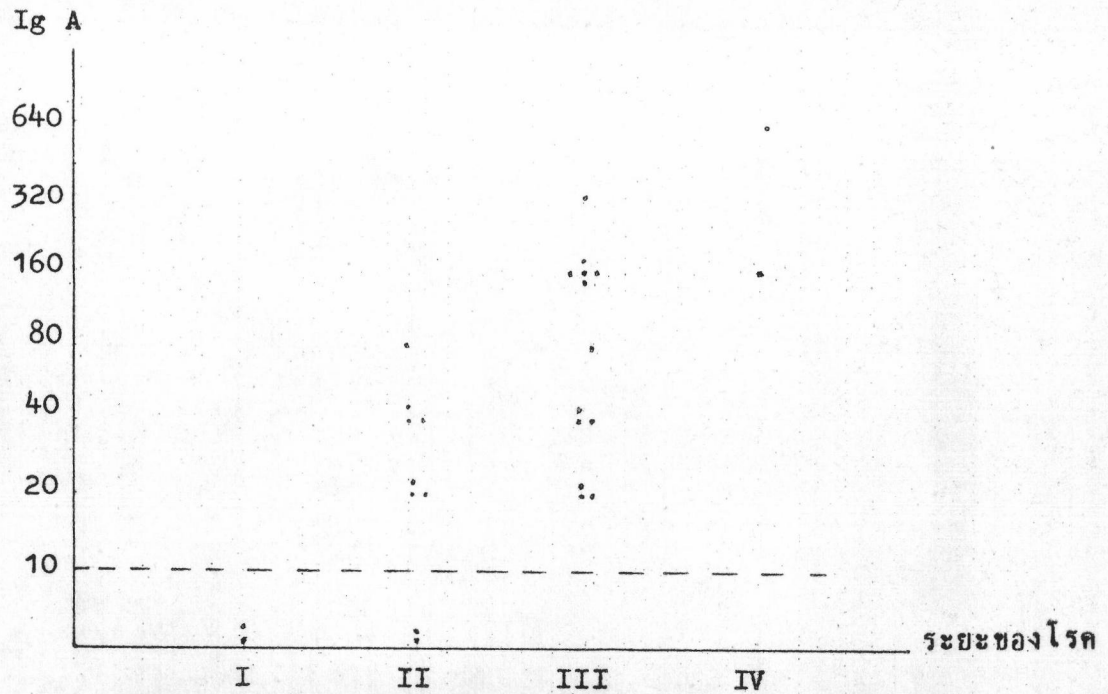
รูปที่ 6 แสดงลักษณะของ เซลล์ B₉₅₋₈ fluorescent positive cells ที่เห็นดีคส์บริเวณ cytoplasm (x400)



รูปที่ 7 แสดงลักษณะของเซลล์ B₉₅₋₈ fluorescent positive cells
ที่เห็นติดสีทั้งเซลล์ (x400)



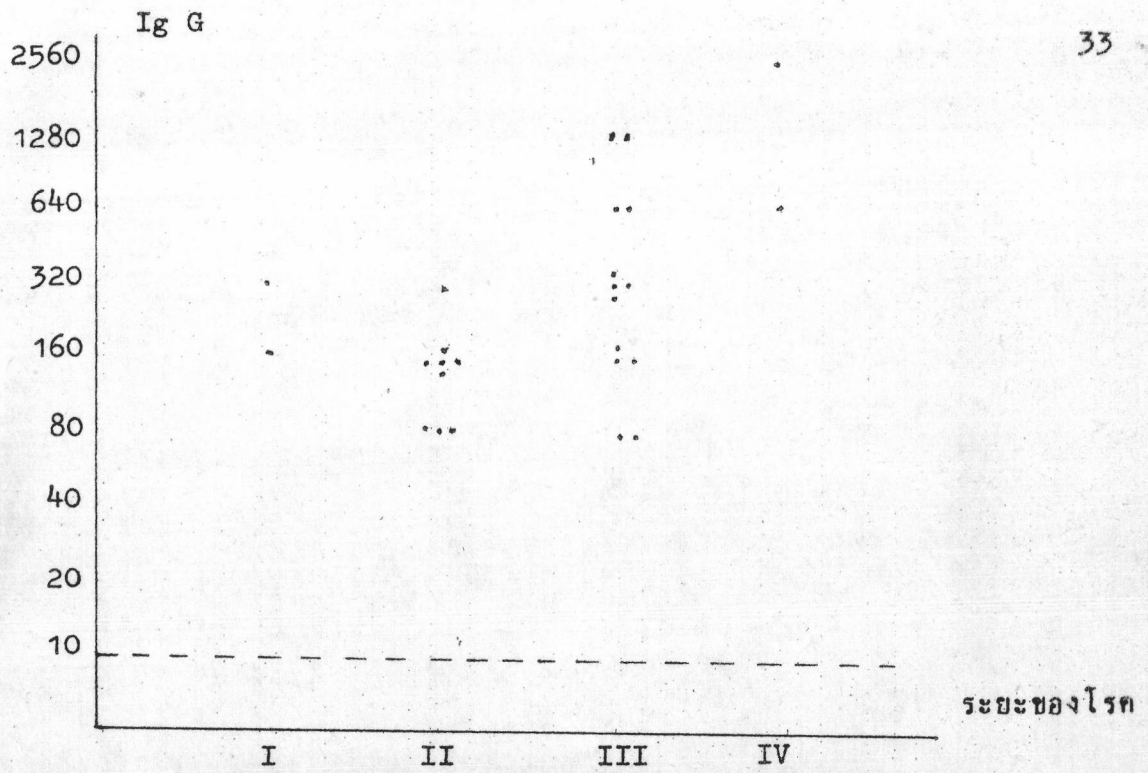
รูปที่ 8 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างระดับของแอนติบอดีชนิด Ig G และแอนติบอดีชนิด Ig A ต่อ EBV associated antigens ในผู้ป่วยมะเร็งชนิดต่างๆ



รูปที่ 9 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างระดับแอนติบอดีชนิด Ig A ต่อ EBV associated antigens กับระยะของโรคในผู้ป่วย NPC

ตารางที่ 4 แสดงให้เห็นระดับแอนติบอดีชนิด Ig A ต่อ EBV associated antigens ในผู้ป่วย NPC ในระยะต่างๆของโรค

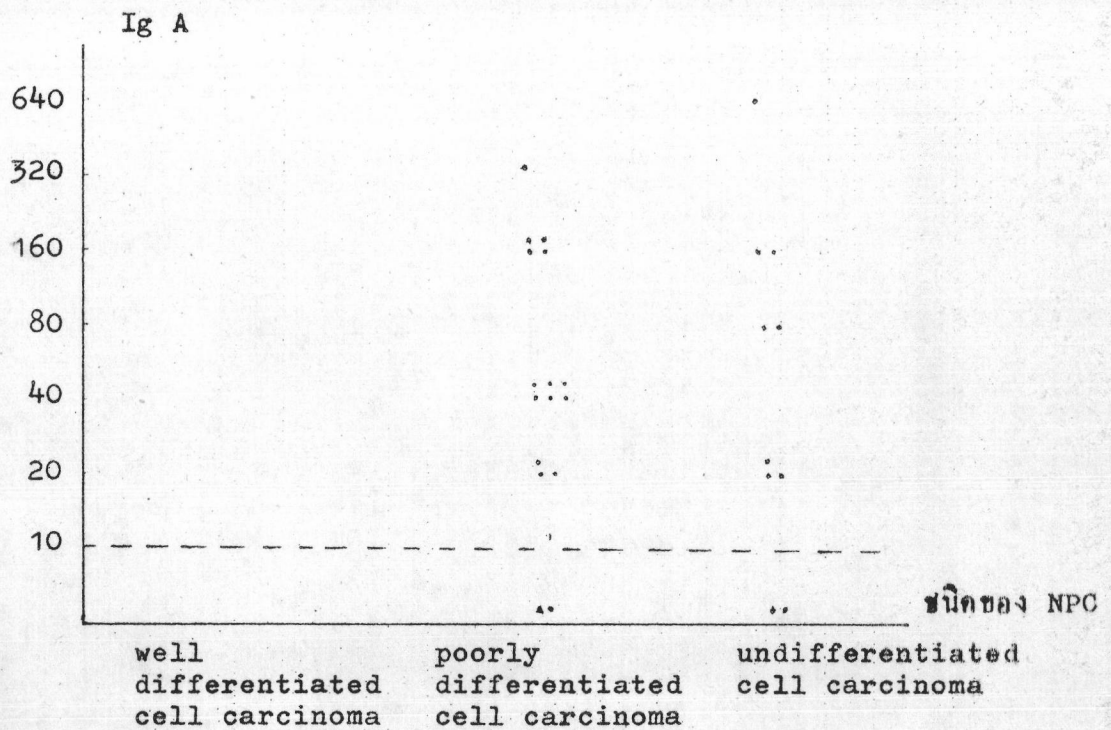
ระยะของโรค	ระดับของแอนติบอดีชนิด Ig A ต่อ EBV								จำนวนผู้ป่วยทั้งหมด
	<1:10	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	
I	2	0	0	0	0	0	0	0	2
II	2	0	3	3	1	0	0	0	9
III	0	0	3	3	1	5	1	0	13
IV	0	0	0	0	0	1	0	1	2
รวม	4	0	6	6	2	6	1	1	26



รูปที่ 10 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างระดับแอนติบอดีชนิด Ig G ต่อ EBV associated antigens กับระยะของโรคในผู้ป่วย NPC

ตารางที่ 5 แสดงให้เห็นระดับแอนติบอดีชนิด Ig G ต่อ EBV associated antigens ในผู้ป่วย NPC ในระยะต่างๆของโรค

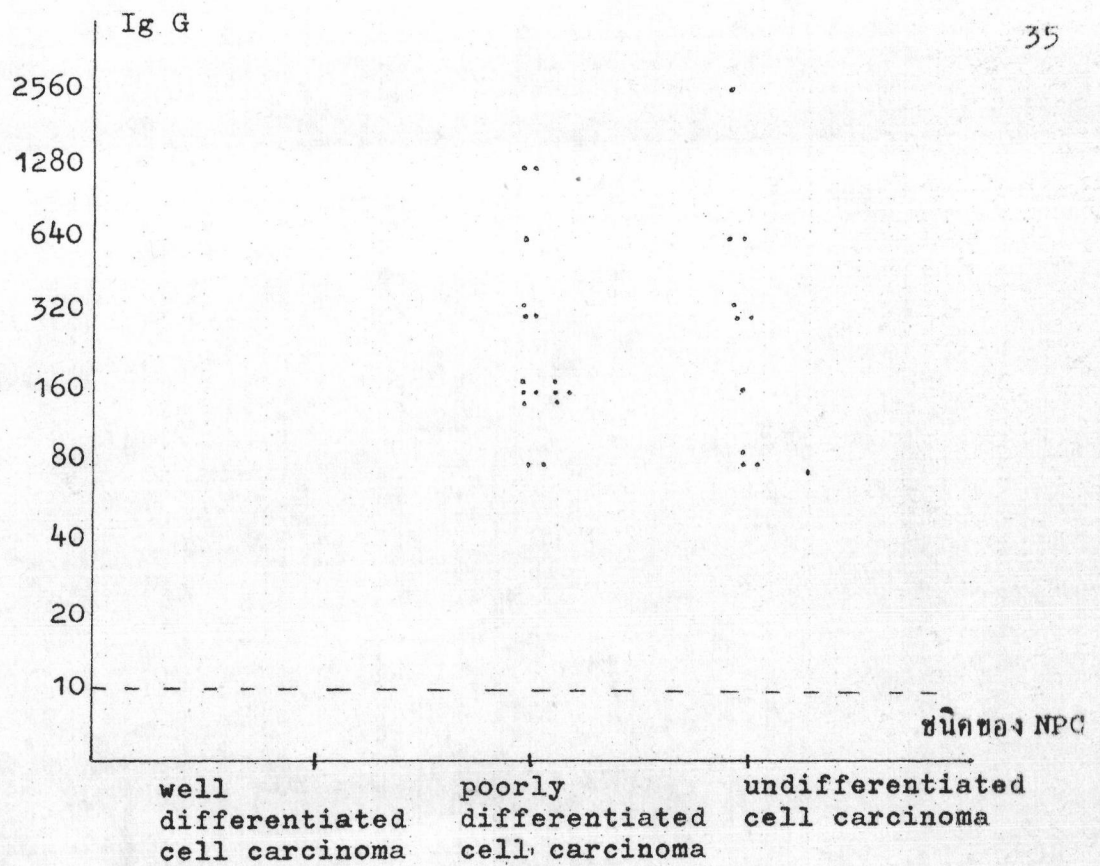
ระยะของโรค	ระดับแอนติบอดีชนิด Ig G ต่อ EBV										จำนวนผู้ป่วยทั้งหมด
	<1:10	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280	1:2560	
I	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	2
II	0	0	0	0	3	5	1	0	0	0	9
III	0	0	0	0	2	3	4	2	2	0	13
IV	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	2
รวม	0	0	0	0	5	9	6	3	2	1	26



รูปที่ 11 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างระดับแอนติบอดีชนิด Ig A ต่อ EBV associated antigens กับชนิดของ NPC

ตารางที่ 6 แสดงระดับแอนติบอดีชนิด Ig A ต่อ EBV associated antigens ในผู้ป่วย NPC ชนิดต่างๆ

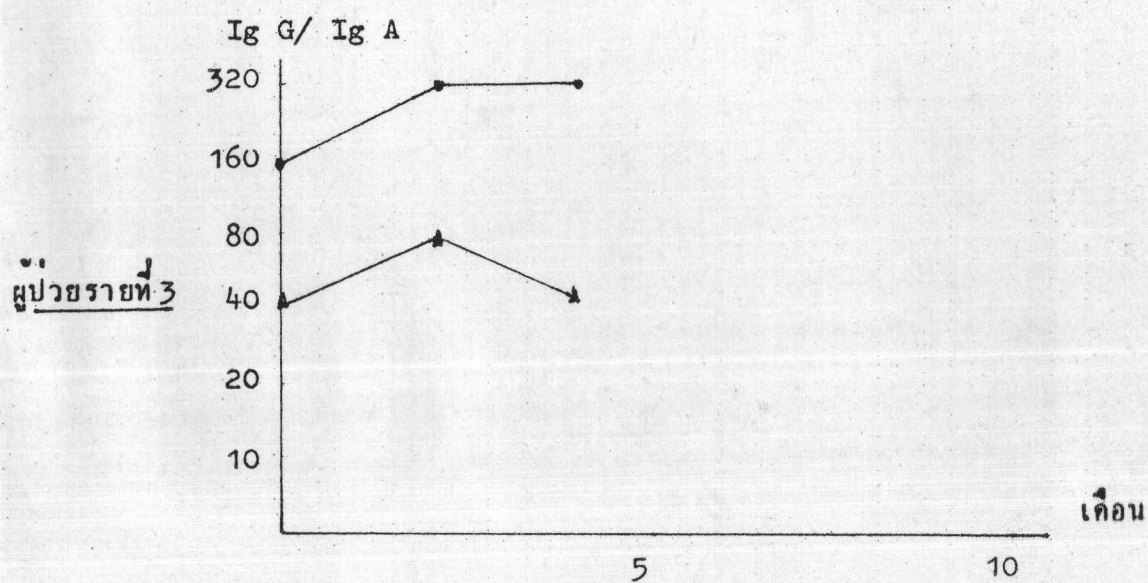
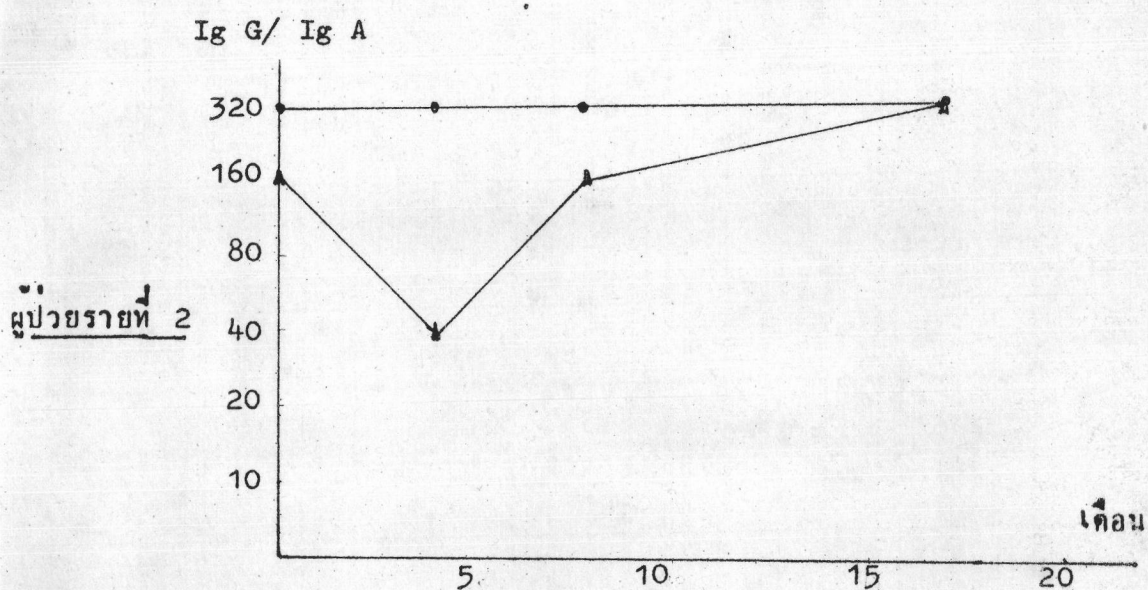
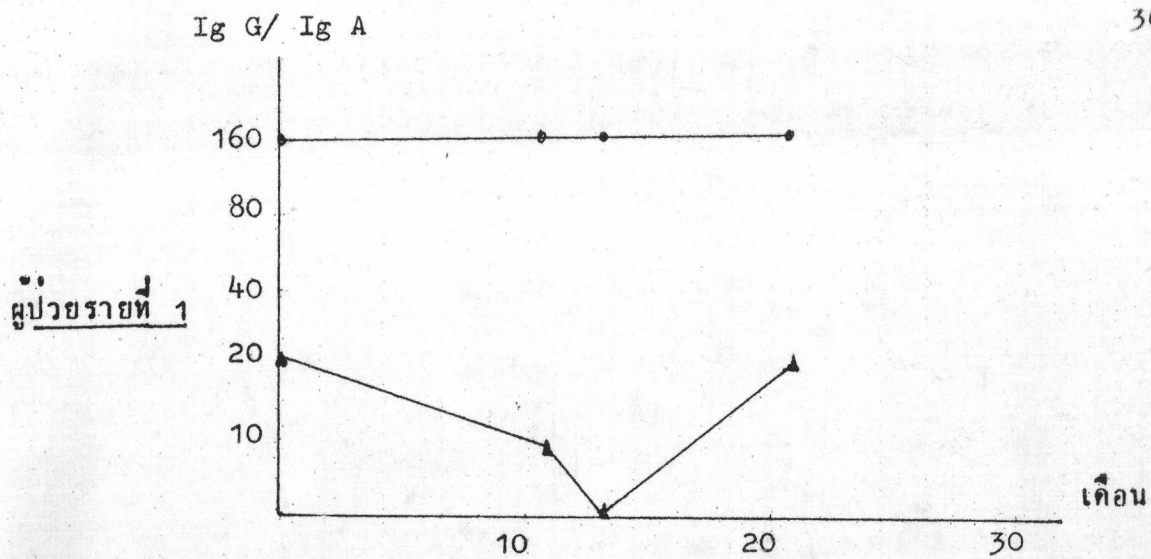
ชนิดของ NPC	ระดับของแอนติบอดีชนิด Ig A ต่อ EBV								จำนวนผู้ป่วยทั้งหมด
	<1:10	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	
well differentiated cell carcinoma	0	0	0	0	0	0	0	0	0
poorly differentiated cell carcinoma	2	0	3	6	0	4	1	0	16
undifferentiated cell carcinoma	2	0	3	0	2	2	0	1	10
รวม	4	0	6	6	2	6	1	1	26



รูปที่ 12 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างระดับแอนติบอดีชนิด Ig G ต่อ EBV associated antigens กับชนิดของ NPC

ตารางที่ 7 แสดงระดับแอนติบอดีชนิด Ig G ต่อ EBV associated antigens ในผู้ป่วย NPC ชนิดต่างๆ

ชนิดของ NPC	ระดับของแอนติบอดีชนิด Ig G ต่อ EBV										จำนวนผู้ป่วยทั้งหมด
	<1:10	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280	1:2560	
well differentiated cell carcinoma	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
poorly differentiated cell carcinoma	0	0	0	0	2	8	3	1	2	0	16
undifferentiated cell carcinoma	0	0	0	0	3	1	3	2	0	1	10
รวม	0	0	0	0	5	9	6	3	2	1	26



รูปที่ 13 แสดงระดับแอนติบอดีชนิด Ig G (●) และ Ig A (▲) ต่อ EBV associated antigens ในผู้ป่วย NPC 3 รายก่อนและหลังการรักษา