บทที่ 1

บทนำ

ความเป็นมา

มะเร็งคืออะไร

มะเร็งคือกลุ่มของโรคที่เกิดเนื่องจากเซลล์ของร่างกายมีความผิดปกติที่สารพันธุกรรม ส่งผลให้เซลล์มีการเจริญเติบโตแบ่งจำนวนอย่างรวดเร็วและมากกว่าปกติ จึงทำให้เกิดก้อนเนื้อผิดปกติ เซลล์ดังกล่าวสามารถแพร่กระจายไปยังอวัยวะอื่นได้ ถ้าเซลล์พวกนี้เกิดอยู่ในอวัยวะใดก็จะเรียกชื่อมะเร็งตามอวัยวะนั้น เช่น มะเร็งปอด มะเร็งสมอง มะเร็งเต้านม มะเร็งช่องปาก เป็นต้น เท่าที่มีรายงานไว้ในขณะนี้ มะเร็งที่พบในร่างกายมนุษย์มีมากกว่า 100 ชนิด และมะเร็งแต่ละชนิดมีการดำเนินของโรคไม่เหมือนกันรวมทั้งมีวิธีรักษาที่แตกต่างกัน ทั้งนี้ขึ้นกับอวัยวะที่เป็นมะเร็ง ระยะของมะเร็ง สภาพร่างกายและความเหมาะสมของผู้ป่วยมะเร็ง (สถาบันมะเร็งแห่งชาติ, 2546)

อุบัติการณ์ของโรคมะเร็ง

โรคมะเร็งเป็นปัญหาทางสาธารณสุขโลก องค์การอนามัยโลกได้คาดการณ์ไว้ว่าในปี พ.ศ. 2563 ทั่วโลกจะมีคนตายด้วยโรคมะเร็งมากกว่า 11 ล้านคน และจะเกิดขึ้นในประเทศที่กำลังพัฒนามากกว่า 7 ล้านคน โรคมะเร็งที่พบมาก 6 อันดับแรกของโลก ได้แก่ มะเร็งปอด มะเร็งกระเพาะอาหาร มะเร็งเต้านม มะเร็งลำไส้ใหญ่ มะเร็งตับ และมะเร็งปากมดลูก ชนิดของมะเร็งที่พบมากในแต่ละประเทศไม่เหมือนกัน

ในประเทศไทยปี พ.ศ. 2536 พบว่าในเพศชายมีจำนวนผู้ป่วยมะเร็งรายใหม่ประมาณ 32,000 ราย โรคที่พบมากที่สุดตามลำดับ คือ มะเร็งตับ มะเร็งปอด มะเร็งลำไส้ใหญ่ มะเร็งช่องปาก มะเร็งกระเพาะปัสสาวะ และมะเร็งกระเพาะอาหาร ในเพศหญิงมีจำนวนผู้ป่วยมะเร็งรายใหม่ประมาณ 30,000 ราย ที่พบมากที่สุด คือ มะเร็งปากมดลูก มะเร็งเต้านม มะเร็งตับ มะเร็งปอด มะเร็งรังไข่ มะเร็งลำไส้ใหญ่ และมะเร็งช่องปาก เมื่อสำรวจอีกครั้งในปี พ.ศ. 2539 มะเร็งที่พบมากที่สุดในเพศชาย คือ มะเร็งตับ มะเร็งปอด มะเร็งช่องปาก มะเร็งต่อมน้ำเหลือง และมะเร็งสมอง ส่วนในเพศหญิง คือ มะเร็งปากมดลูก มะเร็งเต้านม มะเร็งช่องปาก มะเร็งตับ และมะเร็งสมอง จะเห็นว่าอุบัติการณ์ของการเกิดมะเร็งช่องปากมีมากขึ้น (สถาบันมะเร็งแห่งชาติ, 2546) จากข้อมูลของมะเร็งช่องปากจากสถานพยาบาล 8 แห่ง ในกรุงเทพมหานคร ปี พ.ศ. 2527-2536 พบว่า มีอัตราการเกิด 14 รายต่อ

ประชากร 100,000 คน เกิดได้เท่ากันทั้ง 2 เพศ และมะเร็งสความัสเซลล์ช่องปากเป็นมะเร็งที่พบมากที่สุด (สุรศักดิ์ ชี้รัตน์, ชญาน์ทิพ ศรีรัฐ และนิรมล เฉลิมชัยรัตนกุล, 2540)

สาเหตุและปัจจัยเสี่ยงที่ทำให้เกิดโรคมะเร็ง

สาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดโรคมะเร็งแบ่งออกเป็น 2 ประการ คือ สิ่งแวดล้อมภายนอกร่างกาย ได้แก่ สารก่อมะเร็งต่างๆ ที่ปนเปื้อนในอาหารและเครื่องดื่ม เช่น สารพิษจากเชื้อราชื่อ อะฟลาทอกซิน (aflatoxin) เมทาโบไลท์ของสารเคมีที่ใช้ในขบวนการถนอมอาหาร ชื่อ ไนโตรซามีน (nitrosamine) เป็นต้น รังสีเอ็กซเรย์ รังสีอุลตราไวโอเลต เชื้อไวรัส ได้แก่ ไวรัสตับอักเสบบี ไวรัสฮิวแมนแพบพิลโลมา (human papilloma) การติดเชื้อพยาธิใบไม้ในตับ พฤติกรรมบางอย่าง เช่น สูบบุหรี่ ดื่มสุรา และเคี้ยวหมากพลู ส่วนสาเหตุอีกประการ เกิดจากความผิดปกติภายในร่างกาย ซึ่งเป็นสาเหตุส่วนน้อยของการเกิดมะเร็ง เช่น ความบกพร่องของภูมิคุ้มกัน หรือเด็กที่มีความพิการมาแต่กำเนิด เป็นต้น (สถาบันมะเร็งแห่งชาติ, 2546)

โรคมะเร็งเป็นโรคที่เกี่ยวข้องกับความผิดปกติของยีน (gene)

โรคมะเร็งทุกชนิดเป็นผลมาจากความผิดปกติทางพันธุกรรม (genetic disorder) เนื่องจากมีการเปลี่ยนแปลงของยีน 4 กลุ่ม ได้แก่

1. ยีนก่อนมะเร็ง (proto-oncogene) เป็นยีนที่มีอยู่ตามปกติในมนุษย์ โปรตีนที่ได้จากยีนนี้เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโต เช่น โปรตีนโกรธแฟคเตอร์ (growth factor protein) โปรตีนรีเซปเตอร์ (receptor protein) จี-โปรตีน (G-protein) นอกจากนี้ยังมีโปรตีนทำหน้าที่เป็นเอนไซม์ในไซโตพลาสม เช่น ไทโรซีนไคเนส (tyrosine kinase) และทำหน้าที่เป็นโปรตีนในนิวเคลียสที่ควบคุมการทำงานของยีน ได้แก่ โปรตีนทรานสคริปชันแฟคเตอร์ (transcription factor protien) ดังนั้นถ้ายีนเกิดการกลายพันธุ์ไปเป็นยีนมะเร็ง (oncogene) ก็จะส่งผลให้โปรตีนผลผลิตเหล่านี้ผิดปกติและมีการแบ่งตัวของเซลล์เพิ่มมากขึ้นกว่าปกติ หรือมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเซลล์อันเป็นลักษณะสำคัญของเซลล์มะเร็ง

2. ยีนต้านมะเร็ง (tumor suppressor gene) เป็นยีนอีกกลุ่มหนึ่งที่พบว่าถ้ามีการกลายพันธุ์จะทำให้เซลล์ปกติเปลี่ยนเป็นเซลล์มะเร็ง ในภาวะปกติทำหน้าที่เป็นยีนที่ยับยั้งการเกิดมะเร็ง เนื่องจากโปรตีนผลผลิตของยีนชนิดนี้ทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมการแบ่งตัวของเซลล์ และทำงานในลักษณะตรงข้ามกับโปรตีนซึ่งสร้างมาจากกลุ่มของยีนมะเร็ง โปรตีนจากกลุ่มของยีนต้านมะเร็งที่พบในไซโตพลาสม เช่น โปรตีนจากยีน *NF1* จะทำหน้าที่คอยควบคุมการทำงานของโปรตีนแรส (ras protien) และโปรตีนที่พบในนิวเคลียสซึ่งส่วนใหญ่จะเกี่ยวข้องกับการถอดรหัสของยีน เช่น โปรตีนจากยีน *p53* จะทำหน้าที่

ควบคุมวัฏจักรของเซลล์ (cell cycle) และโปรแกรมการตายของเซลล์ (apoptosis) เป็นต้น ถ้ายีนต้านมะเร็งมีความผิดปกติ เซลล์จะเพิ่มจำนวนโดยขาดการควบคุม

3. ยีนซ่อมแซมดีเอ็นเอ (mismatch repair gene) ถ้ามีความผิดปกติก็จะส่งเสริมให้มีโอกาสเป็นมะเร็งง่ายขึ้น ปกติยีนกลุ่มนี้จะไม่ทำให้เกิดโรคมะเร็งโดยตรง แต่จะทำหน้าที่ซ่อมแซมหรือแก้ไขการจับของเบสคู่สมในดีเอ็นเอที่ผิดให้ถูกต้อง ถ้ายีนนี้ไม่ทำงานจะทำให้เพิ่มโอกาสของการผ่าเหล่าในยีนอื่นๆ รวมทั้งยีนก่อนมะเร็งและยีนต้านมะเร็ง เป็นผลทำให้เกิดมะเร็งโดยกลไกทุติยภูมิ

4. ยีนทีโลเมอร์เรส (telomerase gene) สร้างเอนไซม์ทีโลเมอร์เรส ซึ่งไม่พบหรือพบน้อยในเซลล์ทั่วไป ยกเว้นเซลล์ที่มีการเจริญเติบโตตลอดเวลา เช่น เซลล์รากผม เซลล์สืบพันธุ์ เอนไซม์ตัวนี้มีหน้าที่ในการสร้างทีโลเมียร์ (telomere) ส่วนปลายของโครโมโซมไม่ให้สั้นลงหลังการแบ่งตัวของเซลล์ทำให้เซลล์มีการแบ่งตัวไม่สิ้นสุด ในโรคมะเร็งส่วนใหญ่พบว่ามีการสร้างเอนไซม์ชนิดนี้ในปริมาณสูง เป็นตัวบ่งชี้ทางมะเร็งที่สำคัญเพราะแสดงถึงภาวะไม่แก่ของเซลล์ ความผิดปกติของยีน 4 กลุ่มนี้จึงเกี่ยวข้องโดยตรงกับการเกิดโรคมะเร็ง (นเรศ สุขเจริญ, อภิวัฒน์ มุทิรางกูร และยง ภู่วรวรรณ, 2541; มนตรี จุฬาวัฒนทล และคณะ, 2542; Alberts และคณะ, 2002)

<u>การแบ่งชนิดของเนื้อเยื่อที่เกิดมะเร็ง</u>

แยกชนิดของเนื้อเยื่อที่เกิดมะเร็งตามการกำเนิดออกได้เป็น 6 กลุ่ม ได้แก่

1. เนื้อเยื่อบุผิว (epithelium) ได้แก่ ผิวหนัง กระเพาะอาหาร ถุงน้ำดี เปลือกต่อมหมวกไต (adrenal cortex)
2. เนื้อเยื่อยึดต่อ (connective tissue) ได้แก่ เนื้อเยื่อไฟบรัส (fibrous tissue) กระดูกอ่อน กระดูกแข็ง ไขมัน กล้ามเนื้อเรียบ กล้ามเนื้อลาย
3. เนื้อเยื่อของระบบเม็ดเลือดและระบบภูมิคุ้มกัน (hemopoietic and immune system) ได้แก่ เนื้อเยื่อระบบน้ำเหลือง ไธมัส (thymus) แกรนนูโลไซท์ (granulocyte) และ เม็ดเลือดแดง
4. เนื้อเยื่อระบบประสาท (nervous tissue) ได้แก่ เยื่อหุ้มสมองและไขสันหลัง (meninges)
5. เนื้อเยื่อที่มีแหล่งกำเนิดจากหลายระบบรวมกัน (multiple histogenetic cellular origin) ได้แก่ เต้านม ไต
6. เนื้อเยื่ออื่นๆ ได้แก่ รก

การวินิจฉัยโรคมะเร็งเพื่อการรักษาที่ได้ผลนั้นมีความจำเป็นต้องทราบขอบเขต จุดกำเนิดของมะเร็ง หรือเนื้อเยื่อที่เกิดมะเร็ง จึงต้องมีการแบ่งมะเร็งตามการจำแนกของเนื้อเยื่อทั้ง 6 ชนิดดังกล่าวข้างต้นและการเรียกชื่อมะเร็งของเนื้อเยื่อ จะเรียกตามแหล่งกำเนิดของเนื้อเยื่อที่มาจากการพัฒนาตัวอ่อน ถ้ามะเร็งมีจุดกำเนิดมาจากเนื้อเยื่อที่พัฒนาจากส่วนนอกสุด (ectoderm) ของเซลล์ตัวอ่อนใน

ระยะแกสตรูลา (gastrula) ซึ่งเป็นส่วนที่พัฒนาไปเป็นผิวหนัง โครงสร้างที่เกี่ยวข้องกับผิวหนังและระบบประสาท และมะเร็งที่เกิดจากเนื้อเยื่อที่พัฒนาจากเซลล์ส่วนในสุด (endoderm) ซึ่งเป็นส่วนที่พัฒนาไปเป็นระบบทางเดินอาหารและส่วนที่เกี่ยวข้องรวมถึงอวัยวะภายใน เช่น ตับ ปอด มะเร็งของเนื้อเยื่อที่พัฒนาจาก 2 ส่วนนี้ จะเรียกว่า คาร์ซิโนมา (carcinoma) ซึ่งเนื้อเยื่อดังกล่าวได้แก่ เนื้อเยื่อบุผิว เนื้อเยื่อระบบประสาท เป็นต้น ส่วนอะดีโนคาร์ซิโนมา (adenocarcinoma) ใช้เรียกมะเร็งที่เนื้อเยื่อบุผิวมีลักษณะเป็นต่อม (glandular epithelium) ได้แก่ กระเพาะอาหาร ตับอ่อน เต้านม มะเร็งที่เกิดกับเนื้อเยื่อที่พัฒนามาจากเซลล์ส่วนกลางของตัวอ่อน (mesoderm หรือ mesenchymal embryonic germ layer) ซึ่งเป็นส่วนที่จะพัฒนาไปเป็นกระดูก ไขมัน กล้ามเนื้อ เลือด เป็นต้น มะเร็งชนิดนี้เรียกว่า ซาร์โคมา (sarcoma) ถ้าเป็นมะเร็งที่เนื้อเยื่อไขมันบริเวณเต้านมเรียกว่า ไลโปซาร์โคมา (liposarcoma) มะเร็งที่กระดูกอ่อนของซี่โครงเรียกว่า คอนโดรซาร์โคมา (chondrosarcoma) มะเร็งที่กระดูกแข็งของซี่โครงเรียกว่า ออสติโอเจนิกซาร์โคมา (osteogenic sarcoma) บางครั้งการเรียกชื่อมะเร็งเป็นการเรียกชื่อเฉพาะ เช่น Ewing tumor (มะเร็งกระดูก) และ Wilm's tumor (มะเร็งไต) เป็นต้น มะเร็งที่พัฒนามาจากทั้งส่วนนอกสุดหรือส่วนในสุดและส่วนกลางของตัวอ่อน เรียกว่า คาร์ซิโนซาร์โคมา ส่วนมะเร็งที่เกิดจากเนื้อเยื่อที่พัฒนามาจากเซลล์ตัวอ่อนทั้งสามส่วน เป็นมะเร็งที่มีจุดกำเนิดจากเนื้อเยื่อหลายชนิดรวมกันเรียกว่าเทอราโตมา (teratoma)

ประมาณร้อยละ 90 ของมะเร็งที่เกิดกับมนุษย์เป็นชนิดคาร์ซิโนมา เนื่องจากเนื้อเยื่อบุผิวมักต้องสัมผัสกับสิ่งแวดล้อมทางกายภาพ เคมี และจุลชีพ เกิดการเสียหายและเปลี่ยนแปลงทำให้มีการเพิ่มขึ้นของเซลล์จำนวนมากและพัฒนากลายเป็นมะเร็งในที่สุด (นเรศ สุขเจริญ และคณะ, 2541; Albert และคณะ, 2002; Limvongse, 2001; Pitot, 2002; Tannock และ Hill, 1998)

<u>ขบวนการเกิดโรคมะเร็ง</u>

ขบวนการเกิดโรคมะเร็งประกอบด้วย 4 ขั้นตอน

1. ขั้นตอนเริ่มต้น (initiation step) คือการเกิดการกลายพันธุ์ของยีน 4 กลุ่มที่กล่าวมาแล้ว โดยการกลายพันธุ์อาจเกิดจากการผ่าเหล่าเฉพาะจุด (point mutation) การสลับชนิดของเบสเพียวรีนและไพริมิดีน (base transversion) และการเลื่อนของเบสในโคดอน (codon) (frameshift mutation) เป็นต้น
2. ขั้นตอนการสนับสนุน (promotion step) ในขั้นตอนนี้มีทูเมอร์โปรโมเตอร์ (tumor promoter) ซึ่งเป็นสารที่มีคุณสมบัติพิเศษที่ไม่ก่อให้เกิดมะเร็งโดยตรง แต่ช่วยทำให้เซลล์ที่กลายพันธุ์จากระยะเริ่มต้นมีจำนวนเพิ่มขึ้น ซึ่งจะเกิดขึ้นได้เมื่อเซลล์ได้รับสารที่เป็นทูเมอร์โปรโมเตอร์ซ้ำหลายๆ ครั้ง นอกจากนี้ยังขึ้นอยู่กับปัจจัยอื่นด้วย ได้แก่ อายุ อาหาร ฮอร์โมน เป็นต้น จากผลการทดลองในสัตว์ทดลอง พบว่า

สารที่เป็นทูเมอร์โปรโมเตอร์สามารถยับยั้งโปรแกรมการตายของเซลล์ โดยทำให้มีการเพิ่มขึ้นหรือลดลงของการแสดงออกของยีนที่ควบคุมโปรแกรมการตายของเซลล์

3. ขั้นตอนการลุกลาม (progression step) เป็นขั้นตอนที่มีการเพิ่มปริมาณของเซลล์โดยปราศจากการควบคุมทำให้เกิดกลุ่มเซลล์ที่ผิดปกติทั้ง ขนาด รูปร่าง และการทำงาน ทำให้เกิดการผิดปกติของเนื้อเยื่อ (dysplasia) ถ้ากลุ่มเซลล์นี้มีปริมาณมากขึ้นและมีขอบเขตชัดเจนจะเรียกว่า บีไนน์ (benign) ถ้าเป็นมะเร็งเยื่อบุผิวที่ยังไม่มีการแพร่กระจายผ่านเบสเมนท์เมมเบรน (basement membrane) ซึ่งกั้นระหว่างเซลล์เยื่อบุผิวกับชั้นของเซลล์อื่นๆ จะเรียกว่า คาร์ซิโนมาอินซิตู (carcinoma *in situ*)

4. ขั้นตอนการแพร่กระจาย (metastasis step) ในขั้นตอนนี้เป็นการแพร่กระจายของโรค โดยเซลล์มะเร็งที่มีคุณสมบัติในการแพร่กระจายจะสูญเสียการสื่อสารกับเซลล์ข้างเคียง และสารนอกเซลล์ (extracellular matrix, ECM) จากนั้นสามารถยึดเกาะและทำลายเบสเมนท์เมมเบรนได้ อาจแบ่งได้เป็น 3 ขั้นตอน คือ ขั้นตอนแรกเป็นการยึดเกาะของเซลล์มะเร็งกับเบสเมนท์เมมเบรน ขั้นตอนที่สองเกิดขึ้นภายหลังจากการยึดเกาะ 2-8 ชั่วโมง จะเป็นการทำลายเบสเมนท์เมมเบรนบริเวณที่ถูกยึดเกาะโดยใช้เอนไซม์ที่ผลิตโดยเซลล์มะเร็งหรือเซลล์ปกติที่ถูกเหนี่ยวนำจากเซลล์มะเร็ง ขั้นตอนที่สาม คือ เซลล์มะเร็งสามารถทะลุผ่านเบสเมนท์เมมเบรนออกมายังบริเวณเนื้อเยื่อแวดล้อมทั่วไป การเคลื่อนที่ของเซลล์มะเร็งจะเกิดขึ้นพร้อมกับการเพิ่มจำนวนเซลล์ จึงทำให้เซลล์มะเร็งเกิดการแพร่กระจายได้มากขึ้น (นเรศ สุขเจริญ และคณะ, 2541; Limvongse, 2001; Pitot, 2002)

เซลล์มะเร็งที่สามารถแพร่กระจายได้ต้องมีคุณสมบัติที่แตกต่างจากเซลล์มะเร็งอื่นๆ กล่าวคือมีการแสดงออกของยีนหลายชนิด ได้แก่ ยีนที่สร้างเอนไซม์สำหรับย่อยสารนอกเซลล์เช่นเฮพพาแรนเนส (heparanase) เอนไซม์แมทริกซ์เมทัลโลโปรตีเนส (matrix metalloproteinase, MMP) โปรตีนรีเซปเตอร์ เป็นต้น การศึกษายีนต่างๆที่เกี่ยวข้องจะช่วยให้การวินิจฉัยและการรักษาโรคมะเร็งในระยะแพร่กระจายได้ผลดีขึ้น รวมถึงการป้องกันไม่ให้มีการแพร่กระจายของโรคมะเร็งด้วย (นเรศ สุขเจริญ และคณะ, 2541; Mollinedo และคณะ,1997)

การแพร่กระจายของโรคมะเร็งเริ่มจากขั้นตอนตั้งแต่เซลล์แยกออกจากก้อนมะเร็งปฐมภูมิ (primary cancer) ตามกลไกดังกล่าวข้างต้นเข้าสู่เนื้อเยื่อข้างเคียง ลุกลามเข้าสู่ระบบหมุนเวียนโลหิตหรือน้ำเหลือง หลีกเลี่ยงระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายโดยการรวมกลุ่มกันเอง (homotypic aggregation) หรือเกาะรวมกับเซลล์อื่นๆ (heterotypic aggregation) หรือสร้างสารบางชนิดที่ต่อต้านเซลล์ของระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย จากนั้นจึงเดินทางสู่จุดหมายปลายทางโดยแทรกออกจากหลอดเลือดหรือระบบน้ำเหลืองเข้าสู่อวัยวะเป้าหมายที่จำเพาะเนื่องจากอวัยวะเหล่านี้หลั่งสารที่ดึงดูดเซลล์มะเร็งได้ เช่น มะเร็งในต่อมลูกหมากจะแพร่กระจายไปยังกระดูก ทำให้เกิดมะเร็งทุติยภูมิ (secondary cancer) ที่กระดูกด้วย เป็นต้น เมื่อเซลล์มะเร็งแพร่กระจายไปถึงตำแหน่งใหม่ในร่างกาย จะมีการกระตุ้นให้สร้างหลอดเลือดใหม่ (angiogenesis) โดยการทำลายเบสเมนท์เมมเบรนของหลอดเลือดเดิมและ

อาศัยปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการงอกของหลอดเลือด (angiogenic factors) เช่น โกรธแฟคเตอร์ต่างๆ และเอนไซม์สำหรับการสร้างหลอดเลือดใหม่ เซลล์มะเร็งจึงมีการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเป็นก้อนมะเร็งใหม่ได้ (นเรศ สุขเจริญ และคณะ, 2541; Nakajima และคณะ, 1986; Schlessinger, Lax และ Lemmom, 1995; Yanagishita, 1993)

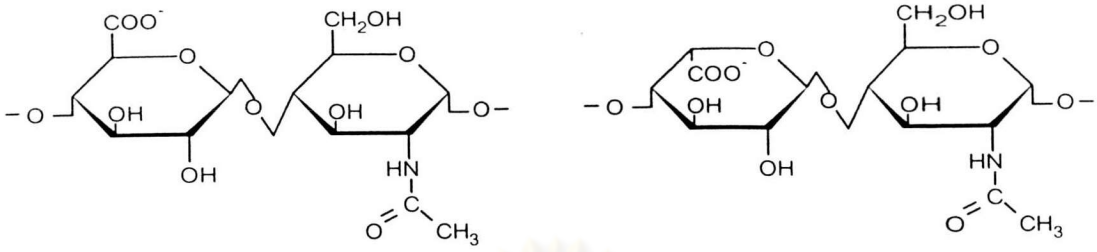
เซลล์และสารนอกเซลล์

องค์ประกอบส่วนใหญ่ในเนื้อเยื่อของร่างกายประกอบด้วยเซลล์และสารนอกเซลล์ เซลล์สามารถมีอันตรกิริยากับเซลล์อื่นๆหรือสารนอกเซลล์ได้ เนื่องจากมีโมเลกุลที่ผิวเซลล์ทำหน้าที่เป็นตัวรับส่งสัญญาณต่างๆ โมเลกุลดังกล่าว ได้แก่ เฮพพาแรนซัลเฟตโปรติโอกลัยแคน (heparan sulfate proteoglycan, HSPG) เป็นต้น สารนอกเซลล์หมายถึงส่วนประกอบของสารประเภทโปรตีนและโพลีแซคคาไรด์ (polysaccharide) ล้อมรอบเซลล์ และทำหน้าที่เป็นโครงสร้างที่ค้ำจุนเซลล์เพื่อให้เซลล์ทำหน้าที่ได้อย่างสมบูรณ์ ได้แก่ องค์ประกอบเนื้อเยื่อและอวัยวะต่างๆ ส่วนเบสเมนท์เมมเบรน คือ สารนอกเซลล์ที่มีโครงสร้างพิเศษมีลักษณะเป็นแผ่นบางที่มีความต่อเนื่องกันประกอบไปด้วยส่วนที่เป็นโปรตีนคอลลาเจน (collagenous protein) ได้แก่ คอลลาเจนประเภทที่ 4 (type IV collagen) และโปรตีนอื่นๆได้แก่ ลามินิน (laminin) ไฟโบรเนกติน (fibronectin) และโปรติโอกลัยแคน (proteoglycans, PG) โปรติโอกลัยแคนที่สำคัญและมีมากที่สุด ได้แก่ เฮพพาแรนซัลเฟตโปรติโอกลัยแคน เบสเมนท์เมมเบรนเป็นโครงสร้างซึ่งค้ำจุนและสนับสนุนให้เกิดการเคลื่อนย้าย (migration) การเพิ่มจำนวน (proliferation) และการเปลี่ยนแปลงไปแสดงลักษณะเฉพาะของเซลล์ (differentiation) ในเซลล์เยื่อบุผิวและเซลล์เยื่อบุผิวหลอดโลหิต (endothelial cell) และอีกหน้าที่หนึ่งคือ เป็นเครื่องกั้นระหว่างเนื้อเยื่ออวัยวะหรือโครงสร้างอื่นๆ กับเซลล์เยื่อบุผิว และไม่ยอมให้โมเลกุลขนาดใหญ่ผ่านเข้าออกได้อย่างอิสระ (นเรศร สุขเจริญ และคณะ, 2541; Cawson และคณะ, 2001; Liotta, Steeg และ Stetler-Stevenson, 1991; Yanagishita, 1993)

ความสำคัญและบทบาทของเฮพพาแรนซัลเฟตโปรติโอกลัยแคน

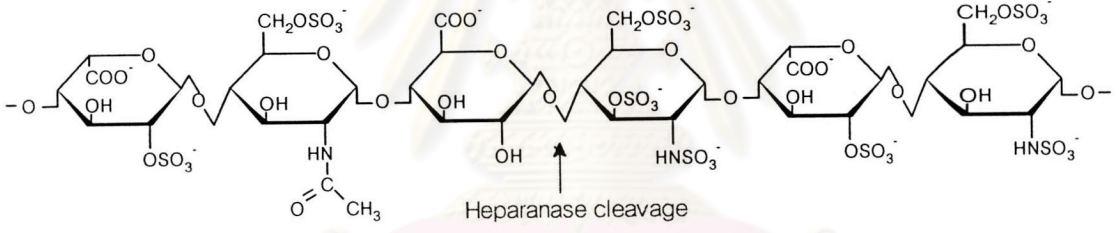
เฮพพาแรนซัลเฟตโปรติโอกลัยแคนเป็นองค์ประกอบสำคัญของเบสเมนท์เมมเบรนและผิวเซลล์ มีโครงสร้างพื้นฐานประกอบด้วยโปรตีนแก่น (core protein) เชื่อมอยู่กับสายของเฮพพาแรนซัลเฟตที่มีลักษณะเป็นเส้นตรงหลายๆเส้นจับกับโปรตีนแก่นด้วยพันธะโควาเลนท์โดยใช้ออกซิเจนของกรดอะมิโน (O-linked covalent bond) สายของเฮพพาแรนซัลเฟตจัดอยู่ในกลุ่มของกลัยโคซามิโนกลัยแคน (glycosaminoglycan, GAG) ที่ได้รับการเติมหมู่ซัลเฟต (sulfate group) กลัยโคซามิโนกลัยแคนประกอบด้วยหน่วยของน้ำตาลโมเลกุลคู่ที่ซ้ำกัน (repeating disaccharide unit) ได้แก่ กรดเฮกซูโรนิค

(hexuronic acid) ซึ่งอาจเป็นกรดดี-กลูคิวโรนิค (D-glucuronic acid) หรือกรดแอล-ไอดูโรนิค (L-iduronic acid) และเอ็น-อะเซทิลกลูโคซามีน (N-acetyl-glucosamine) (รูปที่1)



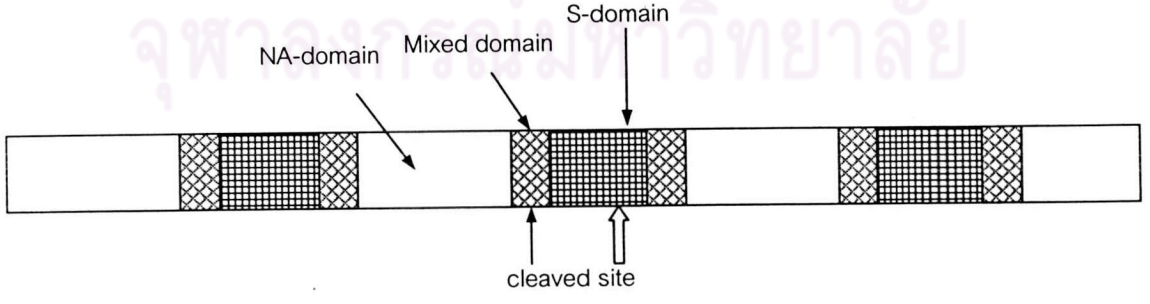
D-glucuronic acid (GlcA) N-acetyl-glucosamine (GlcNAc) L-iduronic acid (IdoA) N-acetyl-glucosamine(GlcNAc)

รูปที่ 1 น้ำตาลโมเลกุลคู่ของสายเฮพพาแรนซัลเฟต

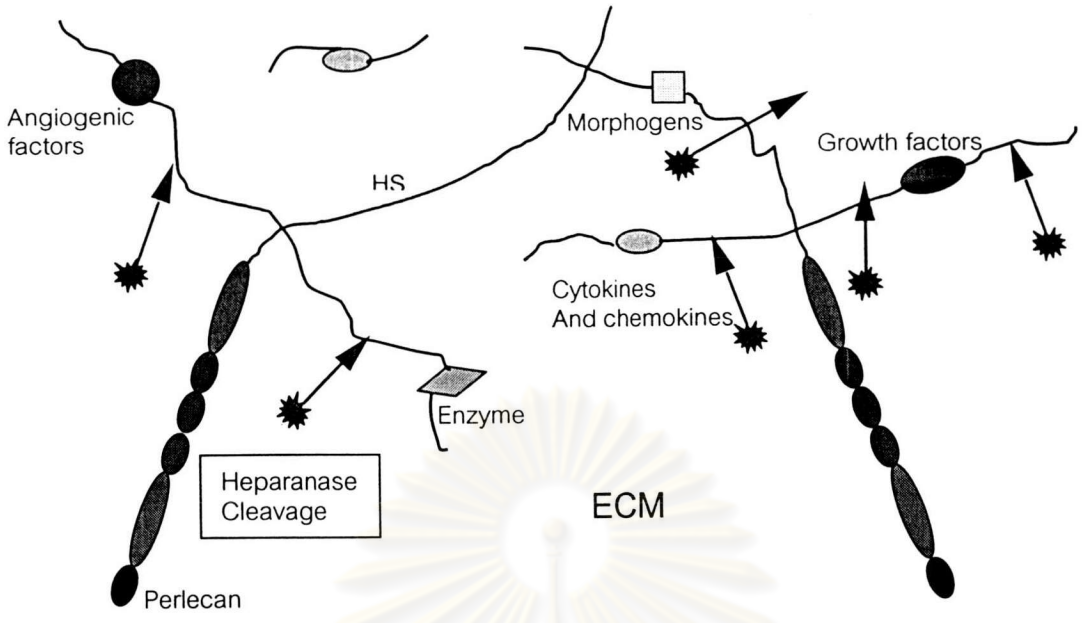


รูปที่ 2 ตำแหน่งบนสายเฮพพาแรนซัลเฟตที่ถูกตัดด้วยเอนไซม์เฮพพาแรนเนส

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 3 สายของเฮพพาแรนซัลเฟต ซึ่งแบ่งเป็นลักษณะโดเมน ได้แก่ โดเมนเอส โดเมนเอ็นเอ และโดเมนผสม



รูปที่ 4 โมเลกุลเฮพพาแรนซัลเฟตโปรติโอกลัยแคนที่เชื่อมกับชีวโมเลกุลต่างๆ และตำแหน่งที่ถูกตัดด้วยเอนไซม์เฮพพาแรนเนส

หน่วยของน้ำตาลโมเลกุลคู่ที่ซ้ำกันจะถูกสร้างและดัดแปลงภายในกอลไจแอพพาราตัส (golgi apparatus) การดัดแปลงที่เกิดขึ้นได้แก่การแทนที่หมู่อะเซทิลตรงตำแหน่งไนโตรเจนด้วยหมู่ซัลเฟตที่โมเลกุลของเอ็น-อะเซทิลกลูโคซามีน ส่วนโมเลกุลของกรดดี-กลูคิวโรนิคจะเกิดปฏิกิริยาการเปลี่ยนอีพิเมอร์ (epimerization) ที่คาร์บอนตัวที่ 5 กลายเป็นกรดแอล-ไอดูโรนิคและมีการเติมหมู่ซัลเฟตที่ตำแหน่งออกซิเจนในหมู่ไฮดรอกซี (hydroxyl group) ของคาร์บอนตัวที่ 2 ในโมเลกุลของกรดแอล-ไอดูโรนิค การดัดแปลงที่เกิดต่อมาคือการเติมหมู่ซัลเฟตที่ตำแหน่งออกซิเจนในหมู่ไฮดรอกซีของคาร์บอนตัวที่ 6 และตัวที่ 3 ในโมเลกุลของกลูโคซามีนตามลำดับ การแทนที่หมู่อะเซทิลด้วยหมู่ซัลเฟตและการเติมหมู่ซัลเฟตที่คาร์บอนตำแหน่งต่างๆมักเกิดไม่สมบูรณ์จึงทำให้โมเลกุลของสายเฮพพาแรนซัลเฟตเกิดเป็นลักษณะโดเมน (domain) ได้แก่ โดเมนเอส (S-domain หรือ sulfated domain) หรือบางครั้งเรียกว่า โดเมนเอ็นเอส (NS-domain หรือ N-sulfated domain) ซึ่งเป็นโดเมนที่ประกอบด้วยหมู่ซัลเฟตจำนวนมาก ส่วนของโดเมนเอสจะถูกแยกออกจากโดเมนปกติหรือโดเมนเอ็นเอ (NA-domain หรือ N-acetylated domain) ด้วยโดเมนผสม (mixed domain) ซึ่งประกอบด้วยหน่วยของน้ำตาลโมเลกุลคู่ที่ถูกเติมหมู่ซัลเฟตสลับกับหน่วยของน้ำตาลโมเลกุลคู่ที่มีหมู่อะเซทิล (รูปที่ 2 และ รูปที่ 3) (Bame, 2001; Lindahl, Kusche-Gullberg และ Kjellen, 1998; Yanagishita และ Hascall 1992)

โดเมนเอสและโดเมนผสมของสายเฮพพาแรนซัลเฟตที่บริเวณผิวเซลล์และเบสเมนท์เมมเบรนเป็นส่วนที่ใช้เชื่อมกับโมเลกุลหลายชนิด (Lindahl และคณะ, 1998; Yanagishita และ Hascall 1992) เช่น เอนไซม์ที่ใช้ในการแข็งตัวของเลือด (coagulation factors) โปรติเอสจากแมสท์เซลล์ (mast cell

protease) ไลโปโปรตีนไลเปส (lipoprotein lipase) ไซโตไคน์ (cytokines) [เช่น แกรนนูโลไซท์แมคโครฟาจโคโลนีสติมูเลติงแฟคเตอร์ (granulocytes macrophage colony stimulating factor) อินเตอร์ลิวคิน-3 (interleukin-3) และอินเตอร์ลิวคิน-7 (interleukin-7)] และโกรธแฟคเตอร์ [เช่น เบสิกไฟโบรบลาสท์โกรธแฟคเตอร์ (basic fibroblast growth factor, bFGF) วาสคิวลาร์เอนโดธิเลียโกรธแฟคเตอร์ (vascular endothelial growth factor, VEGF) เฮพพาโตไซท์โกรธแฟคเตอร์ (hepatocyte growth factor, HGF)] เป็นต้น (รูปที่ 4) (Ishihara, 1997; Schlessinger และคณะ, 1995; Vlodavsky และคณะ, 2000; Vlodavsky และ Friedmann, 2001; Vlodavsky และคณะ, 2002; Vlodavsky และคณะ, 2001) ทำให้เฮพพาแรนซัลเฟตโปรติโอกลัยแคนมีอิทธิพลต่อขบวนการต่างๆ ของร่างกายทั้งในภาวะปกติและพยาธิสภาพ ได้แก่ การสร้างตัวอ่อนในระยะเริ่มต้น (early embryogenesis) (Goshen และคณะ, 1996) วิวัฒนาการของอวัยวะต่างๆ (morphogenesis) (Zcharia และคณะ, 2001) การสร้างหลอดเลือด (angiogenesis) (Elkin และคณะ, 2001; Vlodavsky และคณะ, 2000; Vlodavsky และ Friedmann, 2001; Vlodavsky, Fuks และคณะ, 1991) อันตรกิริยาระหว่างเซลล์เยื่อบุผิวและเซลล์มีเซนไคม์ (mesenchymal cell) การซ่อมแซมเนื้อเยื่อ (Vlodavsky และคณะ, 2001) ไลปิดเมตาบอลิสม (lipid metabolism) (Noonan และคณะ, 1991) การงอกของแกนประสาท (neurite outgrowth) การอักเสบ (inflammation) และภูมิคุ้มกันต้านตนเอง (autoimmunity) (Goldshmidt และคณะ, 2002; Okada และคณะ, 2002; Parish, Freeman และ Hulett, 2001; Vlodavsky และคณะ, 2002; Vlodavsky และคณะ, 2001; Wrenshall และ Platt, 1999) สายเฮพพาแรนซัลเฟตช่วยป้องกันไม่ให้โปรตีนบางชนิดถูกสลายโดยโปรติเอสด้วยการเชื่อมโปรตีนเหล่านี้กับสายเฮพพาแรนซัลเฟต นอกจากนี้ยังทำให้โปรตีนบางชนิดอยู่ในสภาพไม่มีฤทธิ์ (inactive) น้ำหนักโมเลกุลของเฮพพาแรนซัลเฟตโปรติโอกลัยแคนขึ้นอยู่กับจำนวนหน่วยของน้ำตาลโมเลกุลคู่และความมากน้อยของการดัดแปลงของสายเฮพพาแรนซัลเฟต ซึ่งจะอยู่ในช่วง 20,000 ถึง 80,000 ดาลตัน (1 สายของเฮพพาแรนซัลเฟตมีน้ำตาลโมเลกุลคู่ซ้ำกัน 40-160 ครั้ง) (Yanagishita, 1993) การสร้างหรือกำหนดโดเมนจะสัมพันธ์กับการดำเนินปฏิกิริยาต่างๆระหว่างเซลล์กับเซลล์และเซลล์กับสารนอกเซลล์ ดังนั้นการทำลายสายเฮพพาแรนซัลเฟตด้วยเฮพพาแรนเนส จึงก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงมากมาย (Bar-ner และคณะ, 1985; Lindahl และคณะ, 1998; Vlodavsky, Bar-Shavit และคณะ, 1991; Yanagishita และ Hascall, 1992) นอกจากนี้ยังพบว่าบริเวณโดเมนเอสมักจะเป็นบริเวณที่ถูกตัดได้โดยเฮพพาแรนเนส (รูปที่ 2 และ รูปที่ 3) (Hulett และคณะ, 2000; Okada และคณะ, 2002; Pikas และคณะ, 1998)

ความสำคัญและบทบาทของเอนไซม์เฮพพาแรนเนส

ในการศึกษาที่ผ่านมามีการลอกแบบพันธุกรรม (clone) ยีนที่สร้างเอนไซม์นี้โดยคณะผู้วิจัยหลายคณะด้วยกัน พบว่าเซลล์ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมสามารถสร้างเฮพพาแรนเนสได้ทั้งในสภาวะปกติและพยาธิสภาพ จึงมีการศึกษาคุณสมบัติทางอณู รูปแบบการแสดงออก หน้าที่ในสิ่งมีชีวิต และความมีนัยสำคัญทางคลินิก โดยเฉพาะบทบาทในการแพร่กระจายของมะเร็งและการสร้างหลอดเลือดใหม่ (Gohji, Okamoto และคณะ, 2001; Hulett และคณะ, 1999; Inoue และคณะ, 2001; Kussie และคณะ, 1999; Parish และคณะ, 2001; Toyoshima และ Nakajima, 1999; Vlodavsky และคณะ, 2000; Vlodavsky และ Friedmann, 2001; Vlodavsky และคณะ, 1999; Vlodavsky และคณะ, 2002; Vlodavsky และคณะ, 1990)

เฮพพาแรนเนสเป็นเอนไซม์ที่ตัดพันธะไกลโคซิดิกซึ่งอยู่ภายในสายเฮพพาแรนซัลเฟต ที่บริเวณจำเพาะด้วยกลไกอาศัยน้ำในการย่อยสลาย (hydrolytic mechanism) เป็นการตัดสายของเฮพพาแรนซัลเฟตออกเป็นส่วนย่อยส่วนละ 10-20 หน่วย ซึ่งจะแตกต่างจาก เฮพพาริเนส (heparinase) และเฮพพาริติเนส (heparitinase) ที่ได้จากแบคทีเรียซึ่งสามารถตัดหรือดึงสายของเฮพพาแรนซัลเฟตออกจากโปรตีนแก่นได้ทั้งสาย (Bame, 2001; Pikas และคณะ, 1998) เฮพพาแรนเนสที่สกัดครั้งแรกได้มาจากรกของมนุษย์และเซลล์ตับของหนู (Nakajima, 2002) ต่อมาพบเฮพพาแรนเนสจากเซลล์ของเนื้อเยื่อปกติและมะเร็ง ได้แก่ ไซโตโทรโฟบลาสต์ (cytotrophoblast) (Goshen และคณะ, 1996) เซลล์เยื่อบุผิวหลอดโลหิต (Godder และคณะ, 1991; Ishai-Michaeli และคณะ, 1992) เกล็ดเลือด (platelet) (Ishai-Michaeli, Eldor และ Vlodavsky, 1990; Pikas และคณะ, 1998; Vlodavsky และคณะ, 1992) แมสท์เซลล์ (mast cell) (Bashkin และคณะ, 1990) นิวโทรฟิล (neutrophil) (Ishai-Michaeli และคณะ, 1990; Kosir และคณะ, 2002; Matzner และคณะ, 1985; Matzner และคณะ, 1992) เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดที (T lymphocyte) และบี (B lymphocyte) (Fridman และคณะ, 1987; Lider และคณะ, 1990) เซลล์มะเร็งชนิดลิมโฟมา (lymphoma) (Bar-Ner และคณะ, 1985; Ishai-Michaeli และคณะ, 1990) เซลล์มะเร็งชนิดมีลาโนมา (melanoma) (Walch, Albino และ Marchetti, 1999) และเซลล์มะเร็งชนิดคาร์ซิโนมาอื่นๆ ได้แก่ มะเร็งสความัสเซลล์ช่องปาก (Ikuta และคณะ, 2001; Kurokawa และคณะ, 2003) มะเร็งตับ (hepatocellular carcinoma) (El-Assal และคณะ, 2001; Ikeguchi, Hirooka และ Kaibara, 2003) เซลล์มะเร็งรังไข่ (ovarian carcinoma cell) (Peretz และคณะ, 1990)

มีหลักฐานที่สนับสนุนว่าเฮพพาแรนเนสมีบทบาทในการรุกรานและแพร่กระจายของมะเร็งดังนี้ คือ พบการแสดงออกของอาร์เอ็นเอนำรหัส (messenger RNA) ของเฮพพาแรนเนสในหนูที่มีการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งสูงกว่าที่ไม่มีการแพร่กระจาย และเมื่อทดลองใส่ยีนของเฮพพาแรนเนส

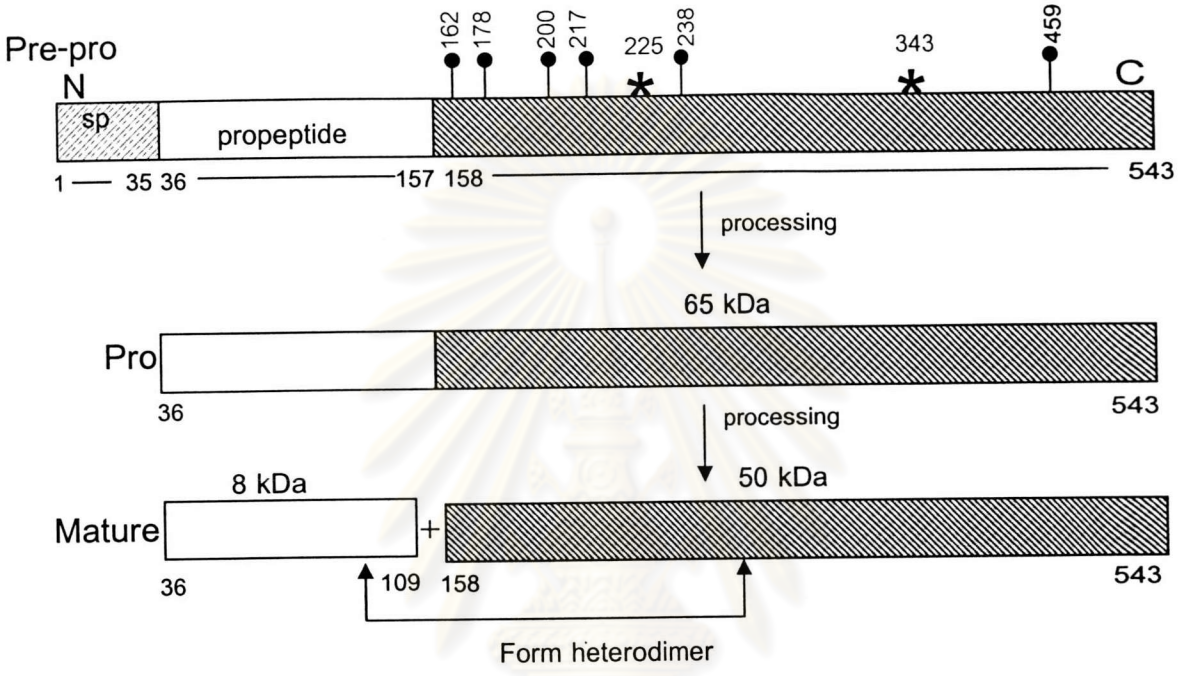
(transfection) เข้าไปในเซลล์ไลน์ (cell line) ที่มีความสามารถแบ่งตัวไม่รู้จบ ได้แก่ เซลล์ไลน์ของมะเร็งชนิดลิมโฟมา และเซลล์ไลน์ของมะเร็งชนิดมีลาโนมา พบว่ามีผลให้เซลล์เหล่านี้มีการรุกรานและแพร่กระจายได้มากขึ้น ในการทดลองฉีดเซลล์ที่บรรจุยีนเฮพพาแรนเนสเข้าไปในตัวหนูพบว่าจะทำให้เกิดก้อนเนื้อในตับและทำให้หนูตายเร็วขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับหนูที่ฉีดด้วยเซลล์เปล่า (mock cell) (Vlodavsky และ Friedmann, 2001) และพบว่าถ้ามีการใช้สารยับยั้งเฮพพาแรนเนส (heparanase inhibitor) ในสัตว์ทดลองที่มีการแพร่กระจายของมะเร็งจะทำให้การแพร่กระจายลดลงมากกว่าร้อยละ 90 (Nakajima, Irimura และ Nicolson, 1988; Parish และคณะ, 1987; Parish และคณะ, 1999; Vlodavsky และคณะ, 1994-95) นอกจากนี้ยังพบเฮพพาแรนเนสในซีรัม ชิ้นเนื้อตัวอย่างมะเร็ง (biopsy specimen) จากสัตว์ทดลองและผู้ป่วยโรคมะเร็ง และในปัสสาวะของผู้ป่วยมะเร็งที่มีการแพร่กระจายรุนแรง (Nakajima และคณะ, 1988; Parish และคณะ, 2001; Peretz และคณะ, 1990)

<u>บทบาทของเฮพพาแรนเนสกับการสร้างหลอดเลือดใหม่</u>

เซลล์มะเร็งสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการสร้างหลอดเลือดใหม่เพื่อมาเลี้ยงก้อนเนื้อมะเร็ง เนื่องจากการเพิ่มจำนวนประชากรของเซลล์มะเร็ง ทำให้มีความต้องการอาหารและออกซิเจนมากขึ้น โดยปกติการสร้างหลอดเลือดใหม่จะเกี่ยวข้องกับขบวนการและโมเลกุลหลายชนิดโดยเฉพาะโปรตีนโกรธแฟคเตอร์และเอนไซม์ที่ใช้ทำลายสารนอกเซลล์ได้แก่ แมทริกซ์เมทัลโลโปรตีเนส เซรีนโปรตีเนส (serine proteinase) และเฮพพาแรนเนส เป็นต้น (Liotta และคณะ, 1991) เฮพพาแรนเนสเป็นตัวการทำลายสายเฮพพาแรนซัลเฟตซึ่งมีผลทำให้โปรตีนโกรธแฟคเตอร์ทั้งหลายได้แก่ bFGF, VEGF, HGF ที่ถูกเก็บไว้ในสารนอกเซลล์ถูกปลดปล่อยมาพร้อมกับสายเฮพพาแรนซัลเฟต ซึ่งมีผลทำให้โมเลกุลของโปรตีนโกรธแฟคเตอร์เหล่านี้มีฤทธิ์ (active) โดยเฉพาะ bFGF ซึ่งพบว่ามีอยู่เป็นจำนวนมากในเบสเมนท์เมมเบรนของหลอดเลือด bFGF ที่จับอยู่กับชิ้นส่วนของเฮพพาแรนซัลเฟตจะจับกับตัวรับบนผิวเซลล์เยื่อบุผิวหลอดเลือด ทำให้เกิดการเคลื่อนย้ายและการเพิ่มจำนวนเซลล์และเกิดการงอกของหลอดเลือดใหม่ (vascular sprouts) ซึ่งสามารถตรวจสอบโดยวิธีย้อมสีอิมมูโนฮีสโตเคมี (immunohistochemical stain) พบเฮพพาแรนเนสในหลอดเลือดที่กำลังงอกใหม่มากกว่าหลอดเลือดที่เจริญแล้ว (Elkin และคณะ, 2001; Goldshmidt และคณะ, 2002; Vlodavsky, Bar-Shavit และคณะ, 1991; Vlodavsky, Bashkin และคณะ, 1991; Vlodavsky, Fuks และคณะ, 1991; Vlodavsky และคณะ, 2002; Vlodavsky และคณะ, 1990)

Vlodavsky และคณะ (1999) ได้ทำการลอกแบบสารพันธุกรรมของยีนที่สร้างเฮพพาแรนเนสและมีงานวิจัยในลักษณะเดียวกันจากคณะผู้วิจัย Hulett และคณะ (1999); Kussie และคณะ (1999) และ Toyoshima และ Nakajima (1999) พบว่า ซีดีเอ็นเอ (complementary DNA,

cDNA) ซึ่งสังเคราะห์ขึ้นโดยใช้อาร์เอ็นเอต้นแบบประกอบด้วย 1,758 คู่เบส มีส่วนของดีเอ็นเอที่เป็นยีน (open reading frame, ORF) จำนวน 1,629 คู่เบส มีจำนวนกรดอะมิโนทั้งหมด 543 ตัว จะให้สายโปรตีนที่มีน้ำหนัก 61.2 กิโลดาลตัน ถูกหลั่งออกมาในลักษณะของ "พรี-โพรเอนไซม์" (pre-proenzyme) (รูปที่ 5) โมเลกุลของเฮพพาแรนเนสที่ถูกสังเคราะห์ประกอบด้วยส่วนของสายเปปไทด์สัญญาณ (signal peptide) ซึ่งอยู่ทางด้านปลายอะมิโน (N-terminus) มีลำดับกรดอะมิโน Met^{1}-Ala^{35} เฮพพาแรนเนสที่



รูปที่ 5 โครงสร้างปฐมภูมิและขบวนการดัดแปลงของเฮพพาแรนเนส

●	ตำแหน่งกรดอะมิโนที่เติมหมู่คาร์โบไฮเดรต
*	บริเวณเร่ง (Catalytic site)
N	N - terminus
C	C - terminus
sp	signal peptide

สมบูรณ์มีลักษณะโมเลกุลประกอบด้วยสองส่วนที่ต่างกัน (heterodimer) (Fairbanks และคณะ, 1999; Hulett และคณะ, 2000; Parish และคณะ, 2001; Vlodavsky และคณะ, 1999; Vlodavsky และ Friedmann, 2001) ซึ่งมีน้ำหนัก 8 กิโลดาลตัน และ 50 กิโลดาลตัน ส่วนของ 8 กิโลดาลตันประกอบด้วยกรดอะมิโน Gln^{36} - Lys^{109} ส่วนกรดอะมิโนตั้งแต่ Glu^{110}- Gln^{157} ประมาณ 6 กิโลดาลตันจะถูกย่อยสลาย ในส่วนของ 50 กิโลดาลตัน เริ่มจากกรดอะมิโน Lys^{158}-Ile^{543} สายเปปไทด์ทั้ง 2 สายเชื่อมต่อกันด้วยพันธะที่ไม่ใช่โควาเลนต์ (non-covalent bond) กลไกในการเชื่อมต่อสายเปปไทด์ยังไม่

ทราบแน่ชัด เฮพพาแรนเนสมีส่วนที่ถูกเติมด้วยหมู่คาร์โบไฮเดรตจำนวน 6 ตำแหน่ง โดย 5 ตำแหน่งแรกอยู่ที่กรดอะมิโน 80 ตัวแรกของสาย 50 กิโลดาลตัน ซึ่งการดึงเอาหมู่คาร์โบไฮเดรตเหล่านี้ออกไปจะไม่มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ (Parish และคณะ, 2001) กรดอะมิโนตำแหน่งที่ 225 และ 343 เป็นบริเวณเร่ง (รูปที่ 5) ในส่วนปลายคาร์บอกซิล (C-terminus) มีบางส่วนอยู่ภายในเยื่อเซลล์ (transmembrane domain) คือกรดอะมิโน Pro^{515}- Ile^{534} มีงานวิจัยระบุชัดว่าส่วนปลายอะมิโนของเฮพพาแรนเนส คือ ส่วนสำคัญที่เอนไซม์ใช้ออกฤทธิ์ มีการทดลองนำเอาซีดีเอ็นเอของส่วน 50 กิโลดาลตันเข้าไปในเซลล์ พบว่าเซลล์ไม่สามารถแสดงฤทธิ์ของเฮพพาแรนเนสได้ (Vlodavsky และคณะ, 1999) ลำดับกรดอะมิโนของเฮพพาแรนเนสในมนุษย์ หนู mouse และหนู rat มีความเหมือนกันร้อยละ 80-95 (Hulett และคณะ, 1999)

ยีนของเฮพพาแรนเนสในมนุษย์ยาวประมาณ 40 กิโลเบส อยู่บนโครโมโซมตำแหน่งที่ 4q21.3 ประกอบด้วย 14 เอกซอน (exon) และเชื่อมกับเครื่องหมายทางพันธุกรรม (genetic marker) D4S400 (Parish และคณะ, 2001; Vlodavsky และ Friedmann, 2001) จากการศึกษาพบว่าเฮพพาแรนเนสจะทำงานได้ดีที่ ความเป็นกรดด่าง (pH) 5.0-6.0 และจะเสื่อมฤทธิ์ ที่ pH>8.0 ดังนั้นที่ pH ปกติของร่างกายเฮพพาแรนเนส สามารถทำงานได้เล็กน้อย (Gilat และคณะ, 1995)

Vlodavsky และคณะ (2000) และ Zcharia และคณะ (2001) ได้ประเมินการแสดงออกของยีนเฮพพาแรนเนสโดยใช้ปฏิกิริยาเซมิควอนติเตทีฟ รีเวอร์สทรานสคริปชัน ลูกโซ่โพลีเมอร์เรส (semi-quantitative reverse transcription polymerase chain reaction, RT-PCR) สามารถสร้างซีดีเอ็นเอและพบดีเอ็นเอของเฮพพาแรนเนสจากเซลล์ไลน์ของมะเร็งเต้านมที่มีการแพร่กระจายแต่ไม่พบในเซลล์ที่ไม่มีการแพร่กระจาย

Maxhimer และคณะ (2002) ศึกษาการแสดงออกของโปรตีนเฮพพาแรนเนสและสายเฮพพาแรนซัลเฟตในเนื้อเยื่อที่ตัดจากผู้ป่วยมะเร็งเต้านมระยะต่างๆ เปรียบเทียบกับเนื้อปกติโดยวิธีการย้อมสีอิมมูโนฮีสโตเคมีและการย้อมอิมมูโนฟลูออเรสเซนต์ (immunofluorescence stain) พบว่ามะเร็งที่อยู่ในระยะแพร่กระจายจะพบเฮพพาแรนเนสควบคู่ไปกับการหายไปของสายเฮพพาแรนซัลเฟต ซึ่งไม่พบปรากฏการณ์นี้ในเนื้อเยื่อปกติ

Koliopanos และคณะ (2001) ศึกษาการแสดงออกของเฮพพาแรนเนสในมะเร็งตับอ่อนระยะเริ่มต้นและระยะแพร่กระจาย โดยเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อจากผู้ป่วยเกรด 1 (well differentiation) ผู้ป่วยเกรด 2 (moderately differentiation) และผู้ป่วยเกรด 3 (poorly differentiation) เนื้อเยื่อของผู้ป่วยตับอ่อนอักเสบเรื้อรังและเนื้อเยื่อตับอ่อนปกติจากผู้บริจาคอวัยวะ ในการค้นหาโปรตีนเฮพพาแรนเนสใช้วิธีย้อมสีอิมมูโนฮีสโตเคมี การแสดงออกของอาร์เอ็นเอนำรหัสด้วยวิธี *อินซิตู* ไฮบริไดเซชัน (*in situ* hybridization) และการหาปริมาณอาร์เอ็นเอนำรหัสของเฮพพาแรนเนสโดยวิธีปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรสชนิดบอกปริมาณ (real time polymerase chain reaction) พบว่าในผู้ป่วยตับอ่อนอักเสบ

เรื้อรังมีการแสดงออกของอาร์เอ็นเอนำรหัสของเฮพพาแรนเนส 7.9 เท่า ในผู้ป่วยมะเร็ง 30.2 เท่า เมื่อเทียบกับเนื้อเยื่อตับอ่อนปกติ และพบว่าถ้าผู้ป่วยมีการแสดงออกของอาร์เอ็นเอนำรหัสเฮพพาแรนเนสจำนวนมาก ผู้ป่วยจะมีอัตราการอยู่รอดหลังผ่าตัดต่ำกว่าผู้ที่มีการแสดงออกน้อย

Kim และคณะ (2002) ได้ศึกษาการแสดงออกของยีนเฮพพาแรนเนสในมะเร็งตับอ่อนระยะต่างๆกัน พบว่ามีปริมาณอาร์เอ็นเอนำรหัสของเฮพพาแรนเนสสูงในเนื้อเยื่อที่มีการแพร่กระจายมาก โดยใช้วิธี *อินซิตู* ไฮบริไดเซชันเปรียบเทียบกับลักษณะที่ปรากฏทางคลินิกของผู้ป่วย ถ้าพบปริมาณอาร์เอ็นเอนำรหัสของเฮพพาแรนเนสสูงในเนื้อเยื่อมะเร็งที่อยู่ในระยะต้น จะทำให้อัตราการรอดชีวิตของผู้ป่วยลดลง โดยวิเคราะห์ด้วย Kaplan-Meier survival curve

การศึกษาอิมมูโนฮีสโตเคมีของมะเร็งรังไข่ในระยะต่างๆ โดย Ginath และคณะ (2001) พบว่ามีกิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์เฮพพาแรนเนส (heparanase activity) ในไซโตปลาสซึม (cytoplasm) พร้อมการแสดงออกของยีนมะเร็ง *erb B2* และ *Mdm2* ในเนื้อเยื่อมะเร็งมากกว่าเนื้อเยื่อที่อยู่ในระยะบีไนน์หรือเนื้อเยื่อปกติ

จากการศึกษาของ Peretz และคณะ (1990) ทดลองเลี้ยงเซลล์ที่ได้จากเนื้อเยื่อมะเร็งรังไข่ของผู้ป่วยในภาวะที่มีสารนอกเซลล์ติดฉลากรังสี พบว่ามีชิ้นส่วนของเฮพพาแรนซัลเฟตออกมาในอาหารเลี้ยงเซลล์ ซึ่งชิ้นส่วนดังกล่าวเล็กกว่าสายเฮพพาแรนซัลเฟตในสารนอกเซลล์ตามปกติ 7-9 เท่า คาดว่าสิ่งที่ทำลายสายเฮพพาแรนซัลเฟต คือ เอนไซม์เฮพพาแรนเนสที่มาจากเซลล์มะเร็ง

Kurokawa และคณะ (2003) ได้ทำการทดลองปลูกถ่ายเซลล์ไลน์ของมะเร็งสความัสเซลล์ช่องปากของมนุษย์ที่มีระดับความสามารถในการรุกรานต่างกัน 3 ระดับ บริเวณลิ้นหนูที่ปราศจากภูมิคุ้มกัน (severe combined immunodeficiency disease, SCID mice) ทำให้เกิดก้อนมะเร็งบนลิ้นของหนู ได้มีการศึกษาอาร์เอ็นเอนำรหัสของเฮพพาแรนเนสจากก้อนมะเร็งที่พบรวมทั้งเนื้อเยื่อรอบๆก้อนมะเร็งด้วยวิธี *อินซิตู* ไฮบริไดเซชัน และใช้วิธีย้อมสีอิมมูโนฮีสโตเคมีเพื่อวิเคราะห์โมเลกุลเฮพพาแรนซัลเฟตโปรติโอกลัยแคนที่เป็นองค์ประกอบของเบสเมนท์เมมเบรน ได้แก่ เพอร์ลีแคน (perlecan) และโปรตีนอื่นๆ เช่น ลามินิน คอลลาเจนประเภทที่ 4 นอกจากนี้ยังได้ศึกษาโครงสร้างของเบสเมนท์เมมเบรนที่อยู่รอบๆเนื้อเยื่อมะเร็งด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนชนิดส่องผ่าน (transmission electron microscope) พบว่ามีปริมาณอาร์เอ็นเอนำรหัสของเฮพพาแรนเนสมากในบริเวณที่เบสเมนท์เมมเบรนถูกทำลาย มีการเพิ่มของกิจกรรมจำเพาะของเฮพพาแรนเนสซึ่งทำให้มีการรุกรานของมะเร็งมากขึ้นและตรวจพบการหายไปของสายเฮพพาแรนซัลเฟตจากโปรตีนแกน ผลการศึกษานี้แสดงว่าปริมาณอาร์เอ็นเอนำรหัสและกิจกรรมจำเพาะของเฮพพาแรนเนสมีความสัมพันธ์ในเชิงบวกกับการรุกรานของเซลล์มะเร็งสความัสเซลล์ช่องปากไปยังเนื้อเยื่อข้างเคียง

Simizu และคณะ (2003) ได้ศึกษากลไกการควบคุมการแสดงออกของเฮพพาแรนเนสในระดับยีน โดยใช้เซลล์ไลน์ที่พัฒนามาจากเซลล์มะเร็งในมนุษย์ 8 ชนิดและเซลล์ไลน์ที่พัฒนามาจากเซลล์

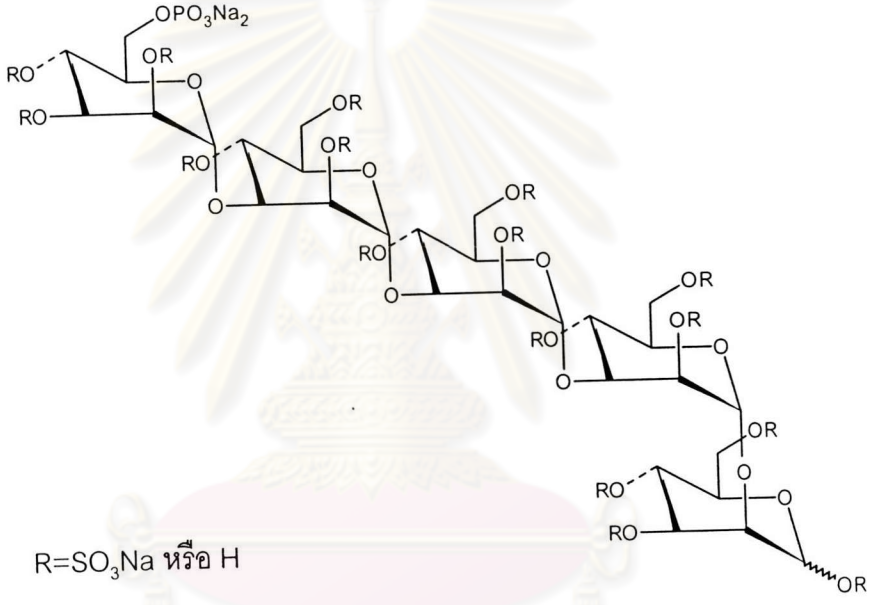
ไฟโบรบลาสต์ปกติจากปอดของมนุษย์ หาปริมาณการแสดงออกของเฮพพาแรนเนสทั้งในระดับยีนและโปรตีน พบว่ามีเซลล์ไลน์ 4 ชนิดที่มีการแสดงออกของเฮพพาแรนเนสสูงทั้งในระดับยีนและโปรตีน เซลล์ไลน์อีก 4 ชนิดและเซลล์ไลน์ไฟโบรบลาสต์ปกติไม่มีการแสดงออกของเฮพพาแรนเนส เมื่อเติมสาร 5-aza-2'-deoxycytidine (AzaC) ซึ่งเป็นสารที่สามารถดึงหมู่เมธิลออกจากดีเอ็นเอในยีนของเฮพพาแรนเนส จากการศึกษาพบว่าไม่มีผลต่อเซลล์ไลน์ที่มีการแสดงออกของเฮพพาแรนเนสในระดับสูง แต่ทำให้เซลล์ไลน์ที่ไม่มีการแสดงออกของเฮพพาแรนเนสมีการแสดงออกมากขึ้น ในงานวิจัยนี้ถือเป็นงานวิจัยแรกที่มีการทดสอบถึงระดับกลไกการควบคุมการแสดงออกของยีนเฮพพาแรนเนส

Gohji, Hirano และคณะ (2001) และ Gohji, Okamoto และคณะ (2001) ได้ศึกษาโปรตีนและอาร์เอ็นเอนำรหัสของเฮพพาแรนเนสในชิ้นเนื้อของผู้ป่วยที่เป็นมะเร็งกระเพาะปัสสาวะที่มีการรุกรานและแพร่กระจาย โดยตรวจหาอาร์เอ็นเอนำรหัสด้วยวิธี *อินซิตู* ไฮบริไดเซชัน และโปรตีนด้วยวิธีย้อมสีอิมมูโนฮีสโตเคมีได้ผลการทดลองเช่นเดียวกับมะเร็งชนิดอื่น กล่าวคือพบอาร์เอ็นเอนำรหัสและโปรตีนเฮพพาแรนเนสในมะเร็งระยะลุกลามมากกว่าระยะต้น โดยเฉพาะรายที่มีการแพร่กระจายไปยังต่อมน้ำเหลือง คณะผู้วิจัยคณะนี้ได้ศึกษาเอนไซม์ชนิดอื่นๆ ที่นอกเหนือจากเฮพพาแรนเนสที่สามารถทำลายสารนอกเซลล์เช่นเดียวกัน เช่น แมทริกซ์เมทัลโลโปรตีเนส-2 (MMP-2) และ แมทริกซ์เมทัลโลโปรตีเนส–9 (MMP-9) โดยศึกษาความสัมพันธ์กับการสร้างหลอดเลือดใหม่และอัตราการอยู่รอดของผู้ป่วยในที่ระยะ (stage) ต่างๆ กัน พบว่าชิ้นเนื้อของมะเร็งที่มีการแสดงออกของเฮพพาแรนเนสในปริมาณมากจะมีการสร้างหลอดเลือดใหม่จำนวนมากอย่างมีนัยสำคัญ แต่ไม่พบความสัมพันธ์นี้กับการแสดงออกของ MMP-2 และ MMP-9 และผู้ป่วยที่มีการแสดงออกของเฮพพาแรนเนสในอัตราสูงจะมีอัตราการอยู่รอดต่ำกว่าผู้ป่วยที่มีการแสดงออกต่ำ

ได้กล่าวแล้วว่าเฮพพาแรนซัลเฟตโปรติโอกลัยแคนทำหน้าที่เป็นโครงสร้าง แนวกั้นและค้ำจุนเซลล์ รวมทั้งเป็นองค์ประกอบของเบสท์เมนท์เมมเบรน และเป็นที่เก็บสะสมของโปรตีนโกรธแฟคเตอร์ ดังนั้นเซลล์มะเร็งที่สร้างเฮพพาแรนเนสสามารถตัดสายเฮพพาแรนซัลเฟตได้ จะสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการสร้างหลอดเลือดใหม่ในเนื้อเยื่อมะเร็ง El-Assal และคณะ (2001) ได้ศึกษาในเซลล์มะเร็งตับ (hepatocellular carcinoma) ที่ใช้เนื้อเยื่อจากผู้ป่วยทดสอบการแสดงออกของอาร์เอ็นเอนำรหัสเฮพพาแรนเนสโดยปฏิกิริยารีเวอร์สทรานสคริปชัน และลูกโซ่โพลีเมอร์เรส และโปรตีน bFGF ด้วยวิธีเวสเทอร์นบลอทโดยใช้แอนติบอดีที่มาจากโคลนเดียวกัน (monoclonal antibody) พบว่าการแสดงออกของเฮพพาแรนเนสและโปรตีน bFGF สัมพันธ์กับความหนาแน่นของหลอดเลือดขนาดเล็กในก้อนมะเร็ง (tumor microvessel density) อย่างมีนัยสำคัญ

จากที่กล่าวมาแล้วจะเห็นว่าเฮพพาแรนเนสมีความสำคัญต่อการรุกรานและแพร่กระจายของมะเร็ง สามารถใช้เป็นตัวชี้ถึงศักยภาพในการแพร่กระจายของโรคมะเร็ง ดังนั้นการศึกษาการแสดงออกของอาร์เอ็นเอนำรหัสของเฮพพาแรนเนสกับโรคมะเร็งระยะต่างๆ หรือโรคมะเร็งชนิดต่างๆ จะ

ทำให้ทราบความสัมพันธ์ของรูปแบบการแสดงออกของยีนเฮพพาแรนเนสกับโรคมะเร็ง รวมทั้งใช้ในการพยากรณ์ความรุนแรงของโรคได้ นำไปสู่เป้าหมายในการรักษาโรคมะเร็ง เช่น การพัฒนายา หรือศึกษาการใช้ตัวยับยั้งเฮพพาแรนเนสเพื่อลดการเจริญของก้อนมะเร็ง ร่วมกับการรักษาโดยใช้รังสีเคมีบำบัดหรือการผ่าตัดให้ได้ผลดียิ่งขึ้น ตัวยับยั้งที่มีการศึกษาได้แก่ ฟอสโฟแมนโนเพนตาโอสซัลเฟต (phosphomannopentaose sulfate, PI-88) (รูปที่ 6) สามารถยับยั้งการสร้างหลอดเลือดของมะเร็งระยะเริ่มต้นได้อย่างมีประสิทธิภาพ เนื่องจาก PI-88 จะป้องกันการเกิดอันตรกิริยาระหว่างเฮพพาแรนซัลเฟตและโกรธแฟคเตอร์กับโปรตีนรีเซปเตอร์ (Parish และคณะ, 2001; Yu และคณะ, 2002) การพัฒนาดังกล่าวจำเป็นต้องมีข้อมูลของเฮพพาแรนเนส เฮพพาแรนซัลเฟตโปรติโอกลัยแคน ตลอดจนข้อมูลอื่นๆ ที่เกี่ยวข้องอย่างเพียงพอ เพื่อนำไปสู่การเอาชนะโรคมะเร็งได้ในอนาคต



รูปที่ 6 โครงสร้างของฟอสโฟแมนโนเพนตาโอสซัลเฟต (phosphomannopentaose sulfate, PI-88)

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์ที่จะศึกษาการแสดงออกของอาร์เอ็นเอนำรหัสเฮพพาแรนเนสในโรคมะเร็งสความัสเซลล์ช่องปาก ซึ่งมีอุบัติการณ์เกิดโรคค่อนข้างรุนแรงและทำให้ผู้ป่วยเสียชีวิตจากการลุกลามและแพร่กระจายของโรค ผู้ป่วยที่รอดชีวิตก็จะสูญเสียความสวยงามและการทำงานของอวัยวะช่องปาก เนื่องจากการผ่าตัดที่ต้องตัดอวัยวะข้างเคียงออกไป ในการศึกษานี้จะใช้เนื้อเยื่อมะเร็งสความัสเซลล์ช่องปากมนุษย์กับเนื้อเยื่อปกติของคนเดียวกันมาทดสอบการแสดงออกของอาร์เอ็นเอนำรหัสเฮพพาแรนเนส และเพื่อเปรียบเทียบการแสดงออกจากเนื้อเยื่อทั้งสอง

ความสำคัญของปัญหา

ช่องปากคือบริเวณที่อยู่ถัดจากริมฝีปากเข้าไป เป็นจุดเริ่มของทางเดินอาหารประกอบด้วย 2 ส่วน ส่วนนอกมีขนาดเล็กเรียกว่า ช่องปากส่วนหน้า (vestibule of the mouth) เป็นช่องแคบๆ ระหว่างผิวด้านในของริมฝีปากและแก้มกับด้านนอกของฟันและเหงือก ส่วนในที่มีขนาดใหญ่กว่าเรียกว่าช่องปากส่วนใน (oral cavity proper) คือ บริเวณที่อยู่ถัดจากฟันและสันเหงือกเข้าไปประกอบด้วยขากรรไกรบนและล่างด้านบนของช่องปากจะเป็นเพดาน (palate) ซึ่งเชื่อมด้านซ้ายขวาของขากรรไกรบน เพดานเป็นตัวกั้นระหว่างช่องปากและช่องจมูก ด้านล่างช่องปากประกอบด้วยพื้นปากและลิ้นที่บริเวณขากรรไกรบนและล่างจะเป็นที่อยู่ของฟัน ซึ่งฝังตัวอยู่ในกระดูกเบ้าฟัน (alveolae bone) ด้วยเอ็นยึดปริทันต์ (periodontal ligament) ส่วนเหงือกจะปกคลุมส่วนขากรรไกรบนล่างและเชื่อมกับเยื่อเมือกช่องปาก ซึ่งเป็นส่วนด้านในของแก้มและด้านล่างของช่องปากบริเวณใต้ลิ้นและริมฝีปาก จุลกายวิภาคของเนื้อเยื่อต่างๆ ที่พบในช่องปาก ได้แก่ เนื้อเยื่อบุผิว และ เนื้อเยื่อยึดต่อ (Cawson และคณะ, 2001; Lotti, Parish และ Rogers, 1999)

เทอดพงษ์ ตรีรัตน์ (2540) ได้รวบรวมการจำแนกเนื้อเยื่อบุผิวออกได้เป็น 2 ประเภท ประเภทแรกคือ ชนิดปกคลุมและบุ เป็นเนื้อเยื่อบุผิวที่ปกคลุมผิวหนังภายนอกร่างกายและบุเยื่อเมือกของอวัยวะที่เป็นท่อของทางเดินของระบบต่างๆ เช่น หลอดเลือด หลอดอาหาร (esophagus) รวมถึงเนื้อเยื่อบุผิวที่บุเยื่อเมือกช่องปาก ประเภทที่สองเป็นเนื้อเยื่อบุผิวชนิดต่อมที่อยู่ลึกในเนื้อเยื่อต่างๆ ทำหน้าที่สร้างน้ำคัดหลั่ง เช่น ต่อมน้ำลาย

เยื่อบุผิวปกคลุมและบุ จำแนกตามการเรียงตัว รูปร่างลักษณะ รวมถึงการเปลี่ยนแปลงของผนังเซลล์ชั้นบนสุดของเยื่อบุผิว เช่น มีขนพัดโบก (cilia) หรือ เคราติน (keratin) การเรียงตัวของเซลล์มีลักษณะที่เซลล์เรียงตัวชั้นเดียวและมากกว่าหนึ่งชั้น ถ้าเซลล์มีการเรียงตัวมากกว่าหนึ่งชั้นเรียกว่า สตราติฟาย (stratify) รูปร่างลักษณะของเซลล์ที่ประกอบอยู่ชั้นบนๆ ของเยื่อบุผิวมีลักษณะคล้ายเกล็ดปลา เรียกว่า สความัส (squamous) ลักษณะสี่เหลี่ยมลูกบาศก์ เรียกว่า คิวบอย (cuboid) หากเป็นทรงสูงซึ่งสูงมากกว่ากว้างและมีนิวเคลียสรูปรี เรียกว่า คอลัมนาร์ (columnar) และอีกชนิดหนึ่งมีการเรียงตัวของเซลล์หลายชั้นเซลล์ยืดหดตัวได้มีรูปร่างระหว่างสความัสและคิวบอย เรียกว่า เยื่อบุผิวชนิดทรานซิชัน (transitional epithelium)

ดังนั้นเนื้อเยื่อบุผิวชนิดสตราติฟายด์สความัส (stratified squamous epithelium) คือ เซลล์บุผิวที่มีรูปร่างคล้ายเกล็ดปลาเรียงตัวกันหลายชั้นมี 2 ชนิด คือ มีเคราตินและไม่มีเคราติน (non-keratinized) จะพบเนื้อเยื่อบุผิวชนิดสตราติฟายด์แบบมีและไม่มีเคราตินบุบริเวณช่องปาก หลอดคอ (pharynx) และหลอดอาหาร ส่วนที่ผิวหนังเป็นชนิดที่มีเคราติน เคราตินเป็นโปรตีนชนิดหนึ่งที่ปกคลุมเซลล์ชั้นบนสุด ป้องกันการเสียดสีและการระเหยของน้ำจากร่างกาย

เยื่อบุผิวชนิดต่อม ประกอบด้วยเซลล์ที่เรียงตัวกันเป็นกลุ่มก้อน ทำหน้าที่สร้างน้ำคัดหลั่งออกสู่ภายนอกโดยการซึมหรือไหลผ่านของหลอดเลือดหรือท่อน้ำเหลือง ต่อมดังกล่าวได้แก่ ต่อมเมือก (mucous gland) สร้างสารคัดหลั่งที่มีลักษณะข้นเหนียวเป็นเมือก ต่อมน้ำใส (serous gland) สร้างสารคัดหลั่งที่มีลักษณะเป็นน้ำใส และต่อมน้ำใสปนเมือก (mixed sero-mucous gland) สร้างสารทั้งสองชนิดปนกัน

ลักษณะทางกายวิภาคและจุลกายวิภาคของเนื้อเยื่อบุผิวในช่องปากส่วนใหญ่เป็นเยื่อบุผิวชนิดสตราติฟายด์สความัสที่ชื้นอยู่เสมอ ซึ่งจะแตกต่างกันตามตำแหน่งของเนื้อเยื่อพื้นฐานช่องปากเนื่องจากมีหน้าที่ที่แตกต่างกัน ได้แก่

เยื่อเมือกช่องปาก ประกอบด้วยเนื้อเยื่อสองชั้นคือ ชั้นของเนื้อเยื่อบุผิวซึ่งอยู่ด้านนอกและชั้นของเนื้อเยื่อยึดต่อที่รองรับเนื้อเยื่อบุผิวในช่องปากเรียกว่าลามินาโพรเพรีย (lamina propria) ลักษณะเซลล์ของเนื้อเยื่อบุผิวตลอดจนความหนาของเยื่อเมือกช่องปากมีความแตกต่างกันตามตำแหน่งและหน้าที่ของเยื่อเมือกบริเวณนั้นๆ แบ่งออกได้เป็น 3 ชนิด ได้แก่ชนิดที่ 1 เยื่อเมือกปกคลุม (lining mucosa) พบบุพื้นผิวในส่วนที่ไม่มีหน้าที่เคี้ยวอาหาร ซึ่งมีการเสียดสีน้อย ได้แก่ ริมฝีปาก แก้ม เยื่อเมือกหุ้มกระดูกเบ้าฟัน (alveolar mucosa) บริเวณลิ้นด้านล่าง พื้นช่องปาก และเพดานอ่อน เป็นเนื้อเยื่อบุผิวชนิดไม่มีเคราติน ส่วนลามินาโพรเพรียประกอบด้วยเส้นใยคอลลาเจนที่มีการเรียงตัวอย่างไม่เป็นระเบียบทำให้ยืดหยุ่นได้ และสามารถปรับตัวให้เหมาะสมกับการเคลื่อนไหวอันเนื่องมาจากการเคลื่อนไหวของกล้ามเนื้อ ชนิดที่ 2 เยื่อเมือกบดเคี้ยว (masticatory mucosa) พบบุอยู่บริเวณที่ต้องรับแรงและการเสียดสีจากอาหารขณะบดเคี้ยว ได้แก่ เพดานแข็ง และสันเหงือกในช่องปากที่ไม่มีฟัน (edentulous mouth) เนื้อเยื่อบุผิวที่บริเวณดังกล่าวค่อนข้างหนาเมื่อเทียบกับส่วนอื่นๆและเป็นประเภทสตราติฟายด์สความัสชนิดมีเคราตินหรือพาราเคราติน (parakeratinized epithelium) ส่วนของลามินาโพรเพรียประกอบด้วยเส้นใยคอลลาเจนที่เรียงตัวเป็นระเบียบแน่นหนาสามารถรับแรงจากการบดเคี้ยว และชนิดที่ 3 คือเยื่อเมือกพิเศษ (specialized mucosa หรือ sensory mucosa) พบที่ด้านบนของลิ้น เนื่องจากเยื่อเมือกบริเวณนี้มีปุ่มบนลิ้น (papillae) และตุ่มรับรส (test bud) ทำหน้าที่รับความรู้สึกและรับรสจึงจัดแยกเป็นกลุ่มพิเศษ ปุ่มบนลิ้นมีหลายชนิดมีทั้งปกคลุมด้วยเยื่อบุผิวที่มีเคราตินและไม่มีเคราติน และมีแกนของปุ่มเป็นเนื้อเยื่อยึดต่อ

ริมฝีปากและแก้ม ริมฝีปากประกอบด้วยมัดของกล้ามเนื้อลาย โครงสร้างด้านนอกเป็นส่วนรอยต่อของเยื่อเมือกช่องปากกับผิวหนังเรียกว่า บริเวณทรานซิชัน (transitional zone) ในส่วนนี้เนื้อเยื่อบุผิวมีเคราตินแต่บางลง และมีส่วนของเนื้อเยื่อยึดต่อที่ยื่นเข้ามาใกล้ผิวหนังทำให้เห็นสีแดงของเลือดลอดออกมาจึงมองเห็นริมฝีปากเป็นสีแดงเข้ม แก้มมีโครงสร้างด้านนอกเป็นผิวหนังปกติ ส่วนด้านในเป็นเยื่อบุผิวประเภทสตราติฟายด์สความัสชนิดไม่มีเคราตินที่ชื้นอยู่เสมอ ทั้งริมฝีปากและแก้มทำให้อาหารยังคงอยู่ในปากได้ขณะที่ฟันทำหน้าที่เคี้ยว และช่วยในการพูด

เหงือก เป็นเยื่อเมือกบดเคี้ยว ซึ่งทำหน้าที่รับแรงกดและถูไถขณะบดเคี้ยวอาหาร เหงือกแบ่งออกได้เป็น 3 ชนิด ได้แก่ เหงือกอิสระ (free gingiva) เหงือกยึด (attached gingiva) และเหงือกสามเหลี่ยม (interdental papilla) ประกอบด้วยเนื้อเยื่อบุผิวและเนื้อเยื่อยึดต่อ เนื้อเยื่อบุผิวที่ปกคลุมอยู่ด้านบนหรือเรียกว่าเยื่อบุผิวเหงือก (gingival epithelium) เป็นชนิดสตราติฟายด์สความัสมักมีเคราตินหรือพาราเคราติน เรียงตัวซิดเป็นชั้นๆ ยึดต่อกันด้วยสารระหว่างเซลล์ (intercellular substance) ส่วนเนื้อเยื่อบุผิวที่ร่องเหงือก (gingival sulcus) เป็นชนิดไม่มีเคราติน

ลิ้น ประกอบด้วยโครงสร้างที่เป็นกล้ามเนื้อลายเรียงตัวกันหลายแนว ด้านบนของลิ้นแบ่งออกเป็น 2 ส่วน แยกจากกันด้วยร่องที่เรียกว่าซัลคัสเทอร์มินาลิส (sulcus terminalis) ส่วนหน้าประมาณสองในสามของลิ้นประกอบด้วยปุ่มบนลิ้นซึ่งมีรูปร่างแหลมบาง (filiform) ปกคลุมด้วยเนื้อเยื่อบุผิวประเภทสตราติฟายด์สความัสที่มีเคราติน มีแกนเป็นเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน และปุ่มบนลิ้นที่มีรูปร่างคล้ายดอกเห็ด (fungiform) มีลักษณะเรียบ กลม และมีสีแดงเนื่องจากถูกคลุมด้วยเยื่อบุผิวประเภทสตราติฟายด์สความัสชนิดไม่มีเคราติน ทำให้มองเห็นสีของเลือดในเส้นเลือดที่อยู่ในเนื้อเยื่อยึดต่อข้างใต้ นอกจากนี้ยังมีปุ่มบนลิ้นชนิด โฟลิเอต (foliate papillae) และ เซอร์คัมวาเลต (circumvallate papillae) ซึ่งปกคลุมด้วยเนื้อเยื่อบุผิวทั้งชนิดที่มีและไม่มีเคราติน กล้ามเนื้อบนลิ้นสามารถเปลี่ยนแปลงรูปร่างและขนาดได้เพื่อความสะดวกในการพูดและบดเคี้ยวและจะช่วยให้อาหารมีลักษณะเป็นก้อนเพื่อสะดวกในการกลืน บนลิ้นประกอบด้วยตุ่มรับรสซึ่งปกคลุมด้วยเซลล์เยื่อบุผิวตามที่ได้กล่าวมาแล้ว ภายในมีเซลล์รับความรู้สึกประมาณ 10-12 เซลล์แทรกอยู่ทำหน้าที่รับรส ส่วนหลังของลิ้นจะมีพื้นผิวที่เป็นปุ่มปม ภายในมีเนื้อเยื่อของระบบน้ำเหลือง (lymphoid tissue) ปกคลุมด้วยเยื่อบุผิวชนิดไม่มีเคราติน ด้านล่างของลิ้นบุด้วยเยื่อบุผิวชนิดไม่มีเคราติน (ชนินทร์ เตชะประเสริฐวิทยา, 2533; เทอดพงษ์ ตรีรัตน์, 2540; Avery, 2000; Cawson และคณะ, 2001; Lotti และคณะ, 1999; Ten Cate,1998)

จากที่กล่าวมาจะเห็นว่าเนื้อเยื่อบุผิวในช่องปากจัดเป็นเนื้อเยื่อบุผิวชนิดสตราติฟายด์สความัส ดังนั้นการเกิดพยาธิสภาพรวมทั้งการเกิดโรคมะเร็งในช่องปาก จะเป็นพยาธิสภาพที่เนื้อเยื่อบุผิวมากกว่าเนื้อเยื่ออื่นๆ และมีอุบัติการณ์ของมะเร็งสความัสเซลล์มากที่สุดถึงร้อยละ 90 ของมะเร็งทั้งหมดในช่องปาก (สุรศักดิ์ ชี้รัตน์และคณะ, 2540; Cawson และคณะ, 2001)

การศึกษาของ Cawson และคณะ (2001) และDas และ Nagpal (2002) พบว่ามะเร็งสความัสเซลล์ช่องปากมีอุบัติการณ์เกิดโรคที่สัมพันธ์กับอายุ ส่วนใหญ่จะพบในผู้ป่วยอายุประมาณ 55-77 ปี สาเหตุของมะเร็งในช่องปากเช่นเดียวกับสาเหตุของมะเร็งโดยทั่วไป คือ แบ่งเป็นสาเหตุจากปัจจัยภายนอกหมายถึงการได้รับสารก่อมะเร็งต่างๆ ร่วมกับบัจจัยภายในร่างกาย เช่น ปัจจัยทางด้านพันธุกรรมทำให้มีการส่งเสริมการเกิดมะเร็งในช่องปาก สารก่อมะเร็งต่างๆ เช่น บุหรี่มีสารประกอบมากกว่า 2,500 ชนิด และมีประมาณ 300 ชนิดที่เป็นสารก่อมะเร็ง ตัวอย่างเช่น สารประเภทไนโตรซามีน (tobacco-specific-nitrosamines) ซึ่งถูกจัดเป็นสารก่อมะเร็งที่สำคัญที่สุดในบุหรี่

นอกจากนี้ยังมีสารที่เป็นเมทาโบไลท์ (metabolite) ของยาสูบ ได้แก่ สารประกอบโพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน (polycyclic aromatic hydrocarbon) โลหะต่างๆ คาร์บอนมอนนอกไซด์ (carbon monoxide) ไฮโดรเจนไซยาไนด์ (hydrogen cyanide) ฟีนอล (phenol) หมากพลูประกอบด้วยสารประเภทอัลคาลอยด์ (alkaloid) และโพลีฟีนอลซึ่งเป็นปัจจัยเสี่ยงของมะเร็งในช่องปาก

สำหรับเครื่องดื่มประเภทอัลกอฮอล์ก็มีส่วนส่งเสริมให้เกิดมะเร็งช่องปาก โดยที่อัลกอฮอล์ทำให้การดูดซึมสารอาหารของร่างกายได้น้อยลง เพิ่มความสามารถของสารก่อมะเร็งให้เข้าสู่ร่างกายได้ง่ายขึ้น ทำให้ระบบภูมิต้านทานของร่างกายลดต่ำลง นอกจากนี้สารอะเซทาลดีไฮด์ (acetaldehyde) ซึ่งเป็นเมทาโบไลท์ของอัลกอฮอล์ก็ถูกจัดเป็นสารทูเมอร์โปรโมเตอร์ชนิดหนึ่ง

ในการศึกษาทางด้านระบาดวิทยาของมะเร็งสความัสเซลล์ช่องปาก เกี่ยวกับการได้รับสารอาหารของประชากรพบว่า ผักและผลไม้ที่มีวิตามินเอและซีสูงจะสามารถป้องกันโรคได้ ส่วนอาหารประเภทเนื้อสัตว์ และพริกแดงจะทำให้เพิ่มปัจจัยเสี่ยงมากขึ้น

สาเหตุอื่นเช่น การติดเชื้อได้แก่ ซิฟิลิส (Syphilis) แคนดิไดเอซิส (Candidiasis) และไวรัส (virus) ได้แก่ ไวรัสฮิวแมน แพบพิลโลมา (HPV) 16 และ 18 จะทำให้เกิดการทำลายโปรตีน p53 ซึ่งทำหน้าที่เป็นโปรตีนต้านมะเร็ง พบไวรัสเอบสไต-บาร์ร์ (Epstein-Barr virus, EBR) ในผู้ป่วยโรคมะเร็งสความัสเซลล์ช่องปากถึงร้อยละ 50

การได้รับรังสีอุลตราไวโอเลตในแสงอาทิตย์เป็นสาเหตุให้เกิดโรคได้ แต่เกิดในคนผิวขาวมากกว่าผิวดำ สาเหตุที่มาจากโรคเยื่อเมือกในช่องปาก ได้แก่ โรคพร่องธาตุเหล็ก (Paterson-Kelly syndrome) การระคายเคืองเรื้อรังจากฟันปลอม แผลร้อนใน (apthus ulcer) ดิสคอยด์ลูปัสเออริทีมาโตซัส (discoid lupus erythematosus) ออรัลสับมิวคัสไฟโบรซิส (oral submucous fibrosis) มะเร็งในช่องปากที่เกิดร่วมกับผู้ป่วยโรคโลหิตจางชนิดแฟนโคนิ (Fanconi's anemia) เป็นต้น

เนื่องจากโรคมะเร็งเป็นโรคที่เกี่ยวข้องกับความผิดปกติของยีน ดังนั้นเมื่อได้รับสารก่อมะเร็งหรือสารส่งเสริมให้เป็นมะเร็งจึงเกิดการเหนี่ยวนำทำให้มีการเปลี่ยนแปลงที่สารพันธุกรรมจนกลายเป็นโรคมะเร็ง Nagpal และ Das (2003) ได้รวบรวมการเปลี่ยนแปลงยีนที่พบในโรคมะเร็งสความัสเซลล์ช่องปาก ได้แก่ ยีนที่ทำหน้าที่ส่งสัญญาณให้เซลล์เจริญเติบโต เกิดการกลายพันธุ์ทำให้เซลล์เจริญเติบโตอย่างไม่หยุดยั้ง เช่น ยีนที่สร้างโปรตีนโกรธแฟคเตอร์ ได้แก่ *int-2* *hst-1* สร้างโปรตีนไฟโบรบลาสท์โกรธแฟคเตอร์-3 (FGF-3) และโปรตีนไฟโบรบลาสท์โกรธแฟคเตอร์-4 (FGF-4) ตามลำดับ ยีนที่สร้างโปรตีนรีเซปเตอร์โกรธแฟคเตอร์ ได้แก่ ยีน *EGFR/erbB* ซึ่งพบว่าในเนื้อเยื่อมะเร็งช่องปากมีการแสดงออกของยีนชนิดนี้สูงกว่าปกติ 69 เท่า ทำให้พบการแสดงออกของอาร์เอ็นเอนำรหัสอีพิเดอร์มอลโกรธแฟคเตอร์รีเซปเตอร์ (epidermal growth factor receptor, EGFR) นอกจากนี้ยังพบว่าผู้ป่วยที่มีการแสดงออกของยีน *c-erbB-2* ซึ่งให้โปรตีนผลผลิตคล้าย EGFR (EGFR like protein) จะมีอัตราการรอดชีวิตต่ำกว่าผู้ป่วยที่ไม่มีการแสดงออกดังกล่าว ตรวจพบยีนสร้างโปรตีนสำหรับส่ง

สัญญาณได้แก่ *K-ras/N-ras* ว่ามีการขยายสัญญาณ (amplification) อย่างผิดปกติ และตรวจพบการผ่าเหล่าเฉพาะจุดและการขาดหายไปของอัลลีน (allele) ของยีน *H-ras* ในโรคมะเร็งช่องปากของผู้ป่วยที่เคี้ยวยาสูบ นอกจากนี้ยังตรวจพบว่ามีการแสดงออกมากเกินไปของยีน *stat-3* ในมะเร็งช่องปากระยะเริ่มต้น แต่ไม่พบในเยื่อบุผิวปกติและรอยโรคก่อนเป็นมะเร็ง (premalignant lesions) ตรวจพบว่ายีนสร้างโปรตีนทรานสคริปชันแฟคเตอร์ได้แก่ยีน *C-myc/N-myc fos jun c-myb* มีการขยายสัญญาณเพิ่มมากขึ้นในเนื้อเยื่อมะเร็ง ถ้ายีนที่เกี่ยวข้องกับโปรแกรมการตายของเซลล์ได้แก่ ยีน *bcl-2* มีการแสดงออกมากเกินไปควบคู่กับการสูญเสียหน้าที่ของยีน *Bax* จะทำให้โรคมีความรุนแรงขึ้น

ยีนที่ควบคุมวัฏจักรของเซลล์มีหลายชนิด เช่น ยีนต้านมะเร็ง ได้แก่ ยีน *p53* ซึ่งอยู่บนโครโมโซม 17p13.1 นอกจากแสดงบทบาทสำคัญในวัฏจักรเซลล์แล้ว ยังมีหน้าที่ช่วยซ่อมแซมดีเอ็นเอ ทำให้จีโนมมนุษย์มีความเสถียร เป็นยีนสำคัญในการแสดงลักษณะเฉพาะของเซลล์และควบคุมโปรแกรมการตายของเซลล์ ถ้ายีนนี้ถูกควบคุมไม่ให้แสดงออกหรือไม่มีฤทธิ์ซึ่งอาจเกิดจากหลายกลไก เช่น เกิดการผ่าเหล่าเฉพาะจุดมักพบที่โคดอน 238-248 การขาดหายไปของเบส (deletion) การติดเชื้อ HPV16/18 ทำให้มีการสร้างโปรตีนมะเร็ง (oncoprotein) E6 ซึ่งจะเชื่อมและทำลายยีน *p53* ทำให้ยีนสูญเสียหน้าที่ความผิดปกติของยีน *p53* พบในผู้ป่วยที่มีพฤติกรรมดื่มสุราและสูบบุหรี่ซึ่งเป็นพฤติกรรมเสี่ยงของโรคมะเร็งสความัสเซลล์ช่องปาก ในผู้ป่วยที่ตรวจพบความผิดปกติของยีน *p53* มีโอกาสที่จะกลับมาเป็นมะเร็งอีกครั้ง (recurrent) เมื่อรักษาหายแล้ว

ในการแบ่งตัวของเซลล์ปกติแต่ละครั้งส่วนปลายของโครโมโซมที่เรียกว่าทีโลเมียร์ จะสั้นลง ดังนั้นเมื่อถึงระยะเวลาหนึ่งที่เซลล์แบ่งตัวไม่ได้เซลล์จึงตายไป แต่เซลล์มะเร็งสามารถสร้างเอนไซม์ทีโลเมอร์เรส ที่จะสามารถสร้างทีโลเมียร์เพื่อเซลล์จะได้แบ่งตัวอย่างไม่หยุดยั้ง พบว่าผู้ป่วยมะเร็งช่องปากสความัสเซลล์ร้อยละ 37 มีการแสดงออกของยีนของเอนไซม์ดังกล่าว

ถ้ามีความผิดปกติในจีโนมมนุษย์ เช่น มีความไม่เสถียรในกลุ่มของนิวคลีโอไทด์ที่ซ้ำกัน (short tandem repeat หรือ microsatellite) มีการสูญเสียเฮทเทอร์โรไซโกท (loss of heterozygosity, LOH) มีการขาดหายไปบางส่วนของโครโมโซม 3p 4q 5q21-22 8p21-23 9p21-22 11q13 13q 14q 17p 18q 22q และ 17p13 เป็นต้น ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงหลายอย่าง ได้แก่ เกิดการเสื่อมฤทธิ์ของยีนต้านมะเร็งและโปรตีนของยีนเหล่านี้ผิดปกติ

Cawson และคณะ (2001) Lotti และคณะ (1999) และ Shah (2001) พบว่าบริเวณที่เกิดมะเร็งในช่องปากมากที่สุด คือ แอ่งที่ล้อมรอบด้วยด้านข้างและด้านล่างของลิ้น และสันขากรรไกรล่างทั้งหมด คิดเป็นเนื้อที่ร้อยละ 30 ของช่องปาก ซึ่งเป็นบริเวณที่พบการเกิดโรคถึงร้อยละ 70 ของมะเร็งในช่องปากผู้ป่วยร้อยละ 65 ที่เป็นมะเร็งบริเวณนี้เมื่อมารับการตรวจรักษาครั้งแรกพบว่ามีการแพร่กระจายแล้ว เนื่องจากไม่มีอาการผิดปกติในระยะแรก จนกระทั่งมีการแพร่ของมะเร็งซึ่งผู้ป่วยจะมีอาการลิ้นติดพื้น

ปากทำให้พูดไม่ชัดหรือตะกุกตะกัก มะเร็งจะแพร่กระจายไปที่ต่อมน้ำเหลืองใต้ขากรรไกรล่างและที่คอ ส่วนบริเวณอื่นๆในช่องปากที่สามารถตรวจพบมะเร็งได้แก่

ริมฝีปาก มะเร็งสความัสเซลล์ที่เกิดบริเวณริมฝีปากมักเกิดที่ริมฝีปากล่างมากกว่าริมฝีปากบน ตรงบริเวณรอยต่อของริมฝีปากกับผิวหนัง ส่วนริมฝีปากบนมักเกิดที่ตรงกลางบริเวณรอยต่อของเนื้อเยื่อส่วนแห้งกับส่วนชุ่มชื้น สาเหตุของการเกิดมะเร็งส่วนใหญ่มาจากรังสีอุลตราไวโอเลต และ (การระคายเคือง) จากการสูบบุหรี่ การเปลี่ยนแปลงระยะแรกเกิดมีแผลแข็งซึ่งส่วนใหญ่มีสีขาวและไม่เจ็บ ถ้าทิ้งไว้โดยไม่รักษาจะทำให้แพร่กระจายมาที่ต่อมน้ำเหลืองใต้คางและบริเวณคอ มะเร็งจากส่วนนี้มักจะแพร่กระจายไปเกิดมะเร็งทุติยภูมิที่ปอด สมอง และกระดูก

ลิ้น มักเกิดบริเวณด้านข้างที่ติดกับด้านล่างของลิ้น (ventrolateral tongue) มากกว่าด้านบนของลิ้น ลักษณะแผลระยะแรกไม่เจ็บปวด มีสีขาว หรือแดง บางทีพบเป็นตุ่มนูนเล็กๆ เมื่อมีการแพร่กระจายจะลุกลามไปยังเนื้อเยื่อข้างเคียง ทำให้การเคลื่อนไหวของลิ้นได้น้อยลง ผู้ป่วยจะพูดหรือกลืนลำบาก การแพร่กระจายไปยังต่อมน้ำเหลืองบริเวณใดนั้นขึ้นกับตำแหน่งของมะเร็งบนลิ้น เนื่องจากลิ้นมีลักษณะแบ่งเป็น 2 ส่วนเท่ากัน (bilateral) ดังนั้นมะเร็งอาจลุกลามไปยังต่อมน้ำเหลืองใต้คาง ใต้ขากรรไกรล่าง หรือต่อมน้ำเหลืองที่คอด้านใดก็ได้ขึ้นอยู่กับตำแหน่งของมะเร็งที่ลิ้น

เยื่อบุผิวข้างแก้ม มะเร็งสความัสเซลล์ที่เกิดขึ้นบริเวณนี้มีสาเหตุจากอุปนิสัยในการเคี้ยวหมาก เมี่ยง หรือยาฉุน ที่อมไว้บริเวณเยื่อบุข้างแก้ม บริเวณที่เกิดมากคือ เยื่อบุข้างแก้มที่ตรงกับฟันกรามซี่ที่ 3 และแผ่นนวมท้ายฟันกรามล่าง (retromolar pad) อาการเริ่มแรกมักเป็นแผลแข็งสีขาวและไม่เจ็บ เมื่อเกิดการลุกลามแผลจะใหญ่ขึ้นขยายไปยังกล้ามเนื้อรอบๆและขากรรไกร เซลล์มะเร็งจะแพร่กระจายไปยังต่อมน้ำเหลืองใต้คาง ขากรรไกรล่าง และบริเวณคอ

บริเวณอื่นๆ ในช่องปาก ได้แก่ เหงือก เยื่อเมือกหุ้มกระดูกเบ้าฟัน (alveolar mucosa) เพดานปาก (palate) เป็นส่วนที่เกิดมะเร็งสความัสเซลล์ช่องปากได้น้อยกว่าตำแหน่งอื่นๆ ในเหงือกมักพบบริเวณขากรรไกรล่างด้านหลังและมักจะเกิดในผู้ป่วยโรคปริทันต์เรื้อรัง หรือเกิดมาจากการระคายเคืองเรื้อรังจากฟันปลอม การแพร่กระจายมักไปที่ต่อมน้ำเหลืองบริเวณคอและแพร่กระจายไปเป็นมะเร็งทุติยภูมิที่กระดูก

Cawson และคณะ (2001) และ Das และ Nagpal (2002) ศึกษาลักษณะการเปลี่ยนแปลงของจุลกายวิภาคเนื้อเยื่อของโรคมะเร็งสความัสเซลล์ช่องปากพบว่า จากเนื้อเยื่อปกติจะมีการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเซลล์เยื่อบุผิวจนกลายเป็นกลุ่มของเซลล์ที่ผิดปกติลักษณะที่ปรากฏ คือ เซลล์ย้อมติดสีเข้มมากขึ้น (hyperchromatism) มีรูปร่างและขนาดของเซลล์แตกต่างกัน (pheomorphism) อัตราส่วนระหว่างนิวเคลียสกับไซโตพลาสซึมเพิ่มมากขึ้น มีการสร้างโปรตีนเคราตินขึ้นภายในเนื้อเยื่อบุผิวบริเวณที่เกิดมะเร็งนั้น มีการแบ่งตัวของเซลล์ (mitosis) เพิ่มขึ้น บางครั้งพบว่าบางเซลล์กลายเป็นเซลล์ที่ใหญ่โตผิดปกติ (giant cell) หลังจากนี้มะเร็งจะแพร่กระจายไปยังชั้นของกล้ามเนื้อ ระบบประสาท เนื้อเยื่อ

ต่อมต่างๆ กระดูก โดยผ่านระบบน้ำเหลือง ระบบหมุนเวียนโลหิต มะเร็งสความัสเซลล์ช่องปาก แบ่งเป็น 2 ลักษณะ ได้แก่ มะเร็งเบซัลลอยด์สความัสเซลล์ (basaloid squamous cell carcinoma) และมะเร็งเวอร์รูคัส (verrucus carcinoma) มะเร็งเบซัลลอยด์สความัสเซลล์จะมีความรุนแรงและมีการแบ่งตัวมากกว่าประเภทเวอร์รูคัส ซึ่งมีสีค่อนข้างขาวมีลักษณะแผลเป็นปุ่มคล้ายดอกกระหล่ำ และพบได้น้อยกว่ามะเร็งเบซัลลอยด์สความัสเซลล์ มีการประเมินระยะของมะเร็งสความัสเซลล์ช่องปากโดยใช้ระบบ TNM ซึ่งเสนอโดยสมาพันธ์ต่อต้านมะเร็งระหว่างประเทศ (International Union against Cancer, 1997) T หมายถึง tumor (ก้อนมะเร็ง) ประเมินจากส่วนที่กว้างที่สุดของก้อนมะเร็ง N หมายถึง node (ต่อมน้ำเหลือง) คือ จำนวนและขนาดของก้อนมะเร็งที่พบที่ต่อมน้ำเหลืองซึ่งแพร่กระจายจากก้อนมะเร็งปฐมภูมิ M หมายถึง metastasis (การแพร่กระจาย) หมายถึงการเกิดเป็นมะเร็งทุติยภูมิ (Spencer, Ferguson และ Wiesenfeld, 2002)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่1 การแบ่งระยะของมะเร็งสความัสเซลล์ช่องปากโดยใช้ระบบ TNM ตามสมาพันธ์ต่อต้านมะเร็งระหว่างประเทศ (Spencer และคณะ, 2002)

Tumor	Explanation
T1	Greatest diameter $\leq$ 2 cm
T2	Greatest diameter 2 to 4 cm
T3	Greatest diameter $\geq$ 4 cm
T4	Invades adjacent structures
Nodes	**Explanation**
N0	No clinically positive nodes
N1	Single ipsilateral node $<$ 3 cm
N2a	Single ipsilateral node 3 to 6 cm
N2b	Multiple ipsilateral $\leq$ 6 cm
N3	Node $>$ 6 cm
Metastasis	**Explanation**
M0	No distant metastasis
M1	Distant metastasis
Clinical staging (ระยะมะเร็ง)	**Explanation**
Stage I	$T_1N_0M_0$
Stage II	$T_2N_0M_0$
Stage III	$T_1N_1M_0$
	$T_2N_1M_0$
	T_3N_0, N_1M_0
Stage IVA	T_4N_0, N_1M_0
Stage IVB	anyTN_2, N_3M_0
Stage IVC	anyT anyNM_1

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Das และ Nagpal (2002) Spencer และคณะ (2002) และ Xi และ Grandis (2003) ได้กล่าวถึงการวินิจฉัยและรักษาโรคมะเร็งสความัสเซลล์ช่องปาก การที่จะระบุระยะของโรคมะเร็งสความัสเซลล์ช่องปากในผู้ป่วยต้องใช้หลายขบวนการได้แก่ การตรวจร่างกาย ซักประวัติพฤติกรรมการสูบบุหรี่และดื่มอัลกอฮอล์ การตรวจเนื้อเยื่อ รังสีวินิจฉัยในช่องปาก ลักษณะรอยโรคในช่องปาก การเคลื่อนที่ของลิ้น ความสมบูรณ์ของฟัน ความกว้างของปากที่อ้าได้ การคลำต่อมน้ำเหลืองบริเวณคอประกอบกับการทำรังสีวินิจฉัยบริเวณปอด เพื่อตรวจการแพร่กระจายของมะเร็ง นอกจากวิธีพื้นฐานดังกล่าวยังสามารถใช้การถ่ายภาพเอกซเรย์แนวราบของเนื้อเยื่อเฉพาะแห่งโดยคอมพิวเตอร์ (computed tomography, CT) เพื่อดูตำแหน่งของมะเร็งในช่องปากและคอ ภาพถ่ายเอ็มอาร์ (magnetic resonance image, MRI) สามารถตรวจหาก้อนมะเร็งที่ลิ้นได้ การใช้เทคนิคโพสิตรอนอิมิสชันโทโมกราฟฟี (positron emission tomography, PET) เพื่อตรวจสอบการกลับมาเป็นมะเร็งอีกครั้งและการแพร่กระจายของมะเร็งไปบริเวณคอ ทุกวิธีจะมีข้อจำกัดที่แตกต่างกันไม่สามารถใช้ยืนยันได้อย่างแม่นยำว่ารอยโรคในช่องปากจะหายหรือเปลี่ยนไปเป็นมะเร็ง และเป็นมะเร็งที่มีการแพร่กระจายอย่างรุนแรงและรวดเร็วหรือไม่ จึงมีการค้นหาสารเคมี โมเลกุล และหรือขบวนการที่ใช้บ่งชี้ได้อย่างชัดเจนมากขึ้นโดยใช้ความรู้ทางอณูชีววิทยา สารเคมี โมเลกุล หรือขบวนการควรตรวจพบเฉพาะในเซลล์มะเร็งที่เริ่มมีการเปลี่ยนแปลงและไม่พบในเซลล์เยื่อบุผิวปกติ สามารถตรวจพบแม้จะมีจำนวนเซลล์เพียงเล็กน้อยในร่างกาย กล่าวคือ ในการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งผ่านเบสเมนท์เมมเบรนใต้เนื้อเยื่อบุผิวในช่องปากและเบสเมนท์เมมเบรนของหลอดเลือด โดยเซลล์มะเร็งที่มีคุณสมบัติในการแพร่กระจายซึ่งจะมีจำนวนเพียงเล็กน้อยแต่มีความสามารถหลั่งเอนไซม์ใช้ทำลายเบสเมนท์เมมเบรนได้ ถ้าสามารถหาตัวบ่งชี้ที่เป็นตัวแทนของเซลล์ดังกล่าวได้ ก่อนที่เซลล์จะกลายเป็นมะเร็งหรือก่อนที่จะแสดงความสามารถในการแพร่กระจาย ก็จะเป็นเป้าหมายในการค้นคว้ายาหรือวิธีในการรักษาผู้ป่วยได้อย่างมีประสิทธิภาพ

เซลล์มะเร็งที่จะสามารถหลั่งเอนไซม์ดังกล่าวได้จะต้องมีการแสดงออกของยีนที่ใช้สร้างเอนไซม์นั้นๆ สามารถตรวจสอบหาปริมาณอาร์เอ็นเอนำรหัสของยีนดังกล่าวโดยวิธี RT-PCR ในงานวิจัยนี้จะหาปริมาณของอาร์เอ็นเอนำรหัสเฮพพาแรนเนสในเนื้อเยื่อมะเร็งสความัสเซลล์ช่องปากและในเนื้อเยื่อปกติของผู้ป่วยคนเดียวกัน ในการประเมินความแตกต่างของอาร์เอ็นเอนำรหัสในเนื้อเยื่อทั้งสองชนิดเพื่อใช้เป็นพื้นฐานในการศึกษาความสามารถในการแพร่กระจายและการเกิดเป็นมะเร็งทุติยภูมิต่อไป เนื่องจากเฮพพาแรนเนสเป็นเอนไซม์ที่ใช้ทำลายสายเฮพพาแรนซัลเฟตซึ่งเป็นโครงสร้างสำคัญในเบสเมนท์เมมเบรนและสารนอกเซลล์ ดังนั้นเฮพพาแรนเนสจึงสามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้และทำนายความรุนแรงของโรคได้ การวิจัยหาตัวบ่งชี้ต่างๆยังทำให้สามารถใช้เป็นข้อมูลสำหรับพัฒนาการรักษาให้มีประสิทธิภาพเพิ่มขึ้น ได้แก่การรักษาโดยใช้ยีนบำบัด (gene therapy) ซึ่งแต่เดิมการรักษาโรคมะเร็งสความัสเซลล์ช่องปากจะใช้วิธีผ่าตัดร่วมกับการใช้เคมีบำบัดและรังสีรักษา การใช้ยีนบำบัดคือการเพิ่ม

หรือเปลี่ยนแปลงยีนและหรือผลผลิตของยีนในเซลล์ มีจุดประสงค์เพื่อการรักษาโรคที่มีความผิดปกติของยีน และส่วนใหญ่ใช้ยีนบำบัดในการรักษาโรคมะเร็ง (สุรางค์ นุชประยูร, จินตนา จิรถาวร และณัฏฐิยา หิรัญกาญจน์, 2546) สามารถกระทำในร่างกายผู้ป่วย *(in vivo)* คือ การนำยีนเข้าสู่ร่างกายผู้ป่วยโดยตรง เช่น โดยการฉีดเข้ากล้ามเนื้อหรือเข้าสู่เนื้องอก หรือกระทำนอกร่างกายผู้ป่วย (*ex vivo*) เนื่องจากสามารถนำเซลล์ที่ต้องการเปลี่ยนแปลงยีนออกมานอกร่างกายซึ่งเป็นวิธีที่ใช้มากที่สุดในปัจจุบันเพราะควบคุมง่าย แต่สามารถใช้ได้กับเซลล์มะเร็งบางชนิดเท่านั้น

ดังนั้นการศึกษาข้อมูลของยีนที่มีความผิดปกติในเซลล์มะเร็งสความัสเซลล์ช่องปาก เช่น การแสดงออกของยีนเฮพพาแรนเนสจะทำให้มีความเข้าใจเกี่ยวกับโรคมะเร็งสความัสเซลล์ช่องปากตลอดจนโรคมะเร็งอื่นๆเพิ่มมากขึ้นซึ่งอาจใช้เป็นประโยชน์ในการวินิจฉัยและการรักษาต่อไป

วัตถุประสงค์การวิจัย

1. เพื่อศึกษาการแสดงออกของอาร์เอ็นเอนำรหัสเฮพพาแรนเนสจากเนื้อเยื่อมะเร็งสความัสเซลล์ช่องปากมนุษย์และการแสดงออกในเนื้อเยื่อปกติของคนเดียวกัน
2. เพื่อเปรียบเทียบการแสดงออกของอาร์เอ็นเอนำรหัสเฮพพาแรนเนสจากเนื้อเยื่อมะเร็งสความัสเซลล์ช่องปากมนุษย์และการแสดงออกในเนื้อเยื่อปกติของคนเดียวกัน

สมมุติฐานการวิจัย

การแสดงออกของอาร์เอ็นเอนำรหัสเฮพพาแรนเนสในเนื้อเยื่อมะเร็งสความัสเซลล์ช่องปากมนุษย์จะมีความแตกต่างจากเนื้อเยื่อปกติที่อยู่บริเวณรอบๆ ก้อนเนื้อมะเร็งในผู้ป่วยคนเดียวกัน

ขอบเขตการวิจัย

ในการศึกษาการแสดงออกอาร์เอ็นเอนำรหัสเฮพพาแรนเนสจากเนื้อเยื่อมะเร็งสความัสเซลล์และเนื้อเยื่อปกติบริเวณช่องปากในคนเดียวกัน โดยวิธีสกัดอาร์เอ็นเอจากเนื้อเยื่อเพื่อใช้เป็นแม่แบบสร้างซีดีเอ็นเอ และนำซีดีเอ็นเอที่ได้มาเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเฮพพาเรนเนสโดยใช้ไพรเมอร์เฉพาะในปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรส โดยใช้ดีเอ็นเอกลีเซอราลดีไฮด์-3-ฟอสเฟตดีไฮโดรจีเนส (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH) เป็นตัวอ้างอิงปริมาณ และใช้ปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรสชนิดบอกปริมาณในการศึกษาเปรียบเทียบปริมาณการแสดงออกของอาร์เอ็นเอนำรหัสเฮพพาเรนเนสจากเนื้อเยื่อทั้งสอง โดยใช้ GAPDH เป็นตัวอ้างอิงปริมาณเช่นเดียวกัน

ข้อตกลงเบื้องต้น

1. เป็นการศึกษาเนื้อเยื่อจากมะเร็งสความัสเซลล์บริเวณช่องปากของผู้ป่วย ซึ่งได้รับการวินิจฉัยว่าจะต้องรับการรักษาโดยการผ่าตัดเท่านั้น
2. เป็นการศึกษาเนื้อเยื่อปกติที่อยู่รอบๆ เนื้อเยื่อมะเร็งในข้อ 1 และมีความจำเป็นต้องถูกตัดออกมาพร้อมกับเนื้อเยื่อมะเร็งในการผ่าตัดเพื่อการรักษาดังกล่าว ซึ่งเนื้อเยื่อปกติดังกล่าวเป็นส่วนที่อยู่ห่างเนื้อเยื่อมะเร็งมากที่สุด
3. จะเก็บเนื้อเยื่อจากผู้ป่วยที่อนุญาตเท่านั้น โดยผู้ป่วยหรือผู้แทนโดยชอบธรรมของผู้ป่วย (กรณีผู้ป่วยเป็นผู้เยาว์หรือไม่สามารถตัดสินใจด้วยตนเองได้) และได้ลงนามในใบยินยอมเข้าร่วมการวิจัย (consent form)
4. ผู้ป่วยจะต้องไม่เป็นโรคทางระบบ โรคติดเชื้อ และโรคมะเร็งในส่วนอื่นๆ ของร่างกาย ยกเว้นมะเร็งในช่องปากที่กำลังศึกษาได้ลุกลามไปยังต่อมน้ำเหลืองใกล้เคียง
5. การเก็บเนื้อเยื่อเพื่อการวิจัยนี้ จะให้ความสำคัญในการการตรวจทางพยาธิวิทยาหรือการตรวจอื่นๆ เพื่อการวินิจฉัยและรักษาผู้ป่วยตามปกติก่อน ดังนั้นถ้าพยาธิแพทย์เห็นว่าก้อนเนื้อที่ตัดออกจากผู้ป่วยมีน้อยเกินไป สามารถปฏิเสธการเก็บเนื้อเยื่อเพื่อการวิจัยจากผู้ป่วยรายนั้นได้ หากเนื้อเยื่อมีปริมาณมากพอ จะเก็บเนื้อเยื่อดังต่อไปนี้ ผู้ป่วย 1 คนเก็บเนื้อเยื่อจำนวน 4 ชิ้น แบ่งเป็นจากบริเวณมะเร็ง 2 ชิ้น และจากบริเวณปกติ 2 ชิ้น มีขนาดชิ้นละประมาณ 50–100 มิลลิกรัม
6. บริเวณที่เก็บเนื้อเยื่อต้องไม่ใช่เนื้อเยื่อไขมัน เนื้อมะเร็งถูกแบ่งออกจากบริเวณที่ไม่ใช่เนื้อตายและไม่ใช่บริเวณขอบของมะเร็ง เนื้อเยื่อไม่ถูกแช่หรือใส่สารเคมีใดๆนอกจากสารเคมีที่ใช้สำหรับรักษาอาร์เอ็นเอในเนื้อเยื่อ เมื่อแยกเนื้อเยื่อแล้วใส่ลงในหลอดทดลองที่เตรียมไว้ หลอดละ 1 ชิ้น ปิดฝาแล้วใส่ลงในไนโตรเจนเหลว (liquid nitrogen) ทันที

ข้อจำกัดของการวิจัย

เป็นการศึกษาเฉพาะผู้ป่วยมะเร็งสความัสเซลล์ช่องปาก ที่มารับการรักษาที่โรงพยาบาลราชวิถี กรุงเทพมหานคร และได้รับการวินิจฉัยว่าต้องได้รับการผ่าตัดเท่านั้น อยู่ในระยะเวลาตั้งแต่ เดือนพฤษภาคม 2545 – เดือนพฤศจิกายน 2546 เป็นเวลา 19 เดือน จำนวน 18 คน

คำสำคัญ

มะเร็งสวามัสเซลล์ช่องปาก เฮพพาแรนซัลเฟตโปรติโอกลัยแคน เฮพพาแรนเนส อาร์เอ็นเอ นำรหัส ปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรส ปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรสชนิดบอกปริมาณ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปแบบการวิจัย

เป็นการวิจัยทางห้องปฏิบัติการ

ตัวแปร

ตัวแปรอิสระ คือ ประเภทของเนื้อเยื่อ ได้แก่ เนื้อเยื่อมะเร็งและเนื้อเยื่อปกติ
ตัวแปรตาม คือ การแสดงออกของเฮพพาแรนเนส

กลุ่มตัวอย่าง

ผู้ป่วยโรคมะเร็งสความัสเซลล์ช่องปากที่มารับการรักษาที่โรงพยาบาลราชวิถี กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข แขวงทุ่งพญาไท เขตราชเทวี กรุงเทพมหานคร ที่ได้รับการวินิจฉัยจากแพทย์หรือคณะแพทย์ว่าต้องได้รับการรักษาโดยการผ่าตัดทั้งนี้ผู้ป่วยหรือผู้แทนผู้ป่วย (กรณีผู้ป่วยเป็นผู้เยาว์หรือผู้ที่ไม่สามารถตัดสินใจด้วยตนเอง) ได้ลงนามในใบยินยอมเข้าร่วมการวิจัย จึงจัดเข้าเป็นกลุ่มตัวอย่างสำหรับงานวิจัย จำนวน 18 คน

ปัญหาทางด้านจริยธรรม

การเก็บเนื้อเยื่อสำหรับงานวิจัยนี้ได้รับอนุญาตจากคณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัย คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ตามหนังสือเลขที่ 087/2002 วันที่ 28 มีนาคม 2545 (ภาคผนวก ก) และคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัย โรงพยาบาลราชวิถี กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข อนุมัติให้ทำวิจัยเมื่อวันที่ 21 พฤษภาคม 2545 ในงานวิจัยนี้จะใช้เนื้อเยื่อที่จำเป็นต้องถูกตัดออกจากตัวผู้ป่วยเพื่อการรักษา โดยได้รับอนุญาตจากผู้ป่วยหรือผู้แทนโดยชอบธรรมของผู้ป่วย (กรณีผู้ป่วยเป็นผู้เยาว์หรือผู้ที่ไม่สามารถตัดสินใจด้วยตนเองได้) และได้ลงนามในใบยินยอมเข้าร่วมการวิจัย (ภาคผนวก ก) ข้อมูลที่ได้จากงานวิจัยจะเปิดเผยในลักษณะของผลการทดลอง แต่ไม่เปิดเผยชื่อและที่อยู่หรือช่องทางที่จะนำไปสู่ข้อมูลส่วนตัวของผู้ป่วย เช่น หมายเลขของผู้ป่วยที่ใช้ในโรงพยาบาล เป็นต้น ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงไม่มีปัญหาทางจริยธรรม

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการวิจัยเพิ่มเติม
2. ใช้เป็นข้อมูลส่วนหนึ่งในการศึกษาการแพร่กระจายของโรคมะเร็งสความัสเซลล์ช่องปาก
3. ใช้เป็นแนวทางส่วนหนึ่งในการพัฒนายาเพื่อลดหรือป้องกันการแพร่กระจายของโรคมะเร็งสความัส

เซลล์ช่องปาก

4. ใช้เป็นแนวทางส่วนหนึ่งในการพัฒนาการรักษาโรคมะเร็งสความัสเซลล์ช่องปากที่พบว่ามีการแพร่กระจายแล้ว

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย