

การสูญหายของโปรตีนพี16 กับระยะเวลาการมีชีวิตในผู้ป่วยมะเร็งตับ  
ชนิดเฮปาโตเซลล์ลูมาคาร์ซีโนมา

นาวาตรี นายแพทย์ จตุรงค์ ตันติมงคลสุข



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาอายุรศาสตร์ ภาควิชาอายุรศาสตร์

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2542

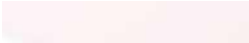
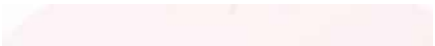
ISBN 974-334-653-8

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

LOSS OF p16 PROTEIN EXPRESSION AND SURVIVAL TIME IN PATIENTS WITH  
HEPATOCELLULAR CACINOMA



Lt.Cdr. Chaturong Tantimongkolsuk



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

Department of Medicine

Faculty of Medicine

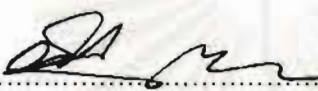
Chulalongkorn University

Academic Year 1999


ISBN 974-334-653-8

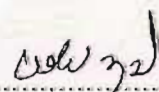
หัวข้อวิทยานิพนธ์      การสูญหายของโปรตีนพี16 กับระยะเวลาการมีชีวิตในผู้ป่วยมะเร็ง  
                                  ดับชนิดเยื่อปาโตเซลล์ลู่อาคารซิโนมา  
 โดย                                  นาวาตรี นายแพทย์ จตุรงค์ ตันติมงคลสุข  
 ภาควิชา                                  อายุรศาสตร์  
 อาจารย์ที่ปรึกษา                  รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ นรินทร์ วรุฒิ  
 อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม              รองศาสตราจารย์ แพทย์หญิง นวพรรณ จารุรักษ์


คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นักศึกษานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่ง  
 ของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

  
 .....      คนบดีคณะแพทยศาสตร์  
 (ศาสตราจารย์ นายแพทย์ ภิรมย์ กมลรัตนกุล)


คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

  
 .....      ประธานกรรมการ  
 (รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ พิnich กุลละวณิชย์)

  
 .....      อาจารย์ที่ปรึกษา  
 (รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ นรินทร์ วรุฒิ)

  
 .....      อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม  
 (รองศาสตราจารย์ แพทย์หญิง นวพรรณ จารุรักษ์)

ม.จ.ดร.ไชย ชลาประวรัตน์  
 .....      กรรมการ  
 (ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ มนต์ชัย ชลาประวรัตน์)

  
 .....      กรรมการ  
 (รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ อภิวัฒน์ มุทธิรางกูร)

จุดประสงค์ ต้นตมิงคผลสุข : การสูญหายของโปรตีนพี16 กับระยะเวลาการมีชีวิตในผู้ป่วยมะเร็งตับชนิด  
เฮปาโตเซลล์ลูคาร์ซิโนมา (LOSS OF P16 PROTEIN EXPRESSION AND SURVIVAL TIME IN  
PATIENTS WITH HEPATOCELLULAR CARCINOMA) อ. ที่ปรึกษา : รศ. นพ. นรินทร์ วรวิทย์,  
อ. ที่ปรึกษาร่วม : รศ. พญ. นวพรรณ จารุรักษ์ ; 106 หน้า. ISBN 974-334-653-8.

**วัตถุประสงค์** เพื่อศึกษาเปรียบเทียบระยะเวลาการมีชีวิตของผู้ป่วยมะเร็งตับชนิด hepatocellular carcinoma (HCC) ในระยะต่าง ๆ ที่มีและไม่มีคามผิดปกติของโปรตีน p16

**วิธีดำเนินการ** ประชากรที่ศึกษาคือ ผู้ป่วยโรคมะเร็งตับชนิด HCC ในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ที่ได้รับการวินิจฉัยด้วยการตรวจชิ้นเนื้อทางพยาธิวิทยา โดยนำชิ้นเนื้อมะเร็งที่เจาะจากตับผู้ป่วยเพื่อการวินิจฉัยมาย้อมหาโปรตีน p16 ซึ่งถ้ามีโปรตีน p16 ปรกติจะพบนิวเคลียสของเซลล์มะเร็งตับติดสีย้อมมากกว่าร้อยละ 80 จากนั้นแยกผู้ป่วยเป็นสองกลุ่มคือ กลุ่มที่มีโปรตีน p16 ปรกติ และ กลุ่มที่ไม่มีโปรตีน p16 ผิดปรกติ ใช้ขนาดตัวอย่างกลุ่มละอย่างน้อยจำนวน 20 ราย แล้วเปรียบเทียบข้อมูลทางคลินิกได้แก่ ปัจจัยเสี่ยง ระยะโรคมะเร็ง ผลตรวจเลือดทางห้องปฏิบัติการ วิธีการรักษา และระยะเวลาการมีชีวิตของผู้ป่วย นำมาคำนวณทางสถิติเพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างในผู้ป่วยทั้งสองกลุ่ม

**ผลการศึกษา** จากการย้อมโปรตีน p16 ในชิ้นเนื้อมะเร็งตับจากผู้ป่วยมะเร็งตับชนิด HCC จำนวน 55 ราย พบว่าไม่พบโปรตีน p16 จำนวน 16 ราย คิดเป็นร้อยละ 29.1 เมื่อแบ่งผู้ป่วยเป็นสองกลุ่มเปรียบเทียบปัจจัยทางคลินิกต่าง ๆ ดังกล่าวพบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ยกเว้นประวัติการดื่มสุราซึ่งพบในผู้ป่วยที่ตรวจพบโปรตีน p16 ( $p = 0.04$ ) ระยะเวลาการมีชีวิตในกลุ่มที่ตรวจพบโปรตีน p16 มีค่ามัธยฐานของระยะเวลามีชีวิตเท่ากับ 14.1 สัปดาห์ (95%CI 8.29 – 21.13) และในกลุ่มที่ตรวจไม่พบโปรตีน p16 มีค่าเท่ากับ 9.6 สัปดาห์ (95%CI 9.15 – 9.99) ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p = 0.73$ )

**สรุป** ระยะเวลาการมีชีวิตของผู้ป่วยมะเร็งตับชนิด HCC ที่ตรวจพบและไม่พบโปรตีน p16 ไม่มีความแตกต่างกัน

ภาควิชา .....อายุรศาสตร์.....  
สาขาวิชา .....อายุรศาสตร์ / โรคมะเร็ง.....  
ปีการศึกษา 2542.....

ลายมือชื่อนิติ .....  
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา .....  
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....

# # 417 52043 30 : MAJOR MEDICINE (ONCOLOGY)

KEY WORD : p16 PROTEIN / HEPATOCELLULAR CARCINOMA / SURVIVAL TIME

CHATURONG TANTIMONGKOLSUK : LOSS OF P16 PROTEIN EXPRESSION AND SURVIVAL TIME IN THE PATIENTS WITH HEPATOCELLULAR CARCINOMA. THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF. NARIN VORAVUD, M.D., THESIS COADVISOR : ASSOC. PROF. NAVAPUN CHARURUKS, M.D. 106 pp. ISBN 974 – 334-653-8.

Objective For comparative study between survival time and loss of p16 protein expression in the hepatocellular carcinoma patients

Methods The samples were selected from hepatocellular carcinoma patients who were diagnosed with liver biopsy in Chulalongkorn hospital. The patients were classified in two groups, normal p16 protein expression and loss of p16 protein expression, by immunohistochemistry method for p16 protein detection. The sample sizes required at least twenty patients in each groups. The clinical data, such as risk factors for hepatocellular carcinoma, staging, laboratory chemistry, method of treatment and survival time, was collected and analyzed for difference detection.

Results The fifty-five specimens were stained by p16 protein immunohistochemistry method. There were 16 specimens (29.1 %) which loss of p16 protein expression. When clinical data was analyzed, there was no any significant difference in these factors except history of alcoholic drinking. The median survival time was 14.1 weeks (95%CI 8.29 – 21.13) in the patients with positive p16 protein staining and 9.6 weeks (95%CI 9.15 – 9.99) in the patients with negative p16 protein staining but there was no significant statistical difference.

Summary There was no different in survival times between normal and loss of p16 protein expression in hepatocellular carcinoma. The prevalence of loss of p16 protein expression in Thai hepatocellular carcinoma patients was 29.1 percent.

ภาควิชา อายุรศาสตร์  
สาขาวิชา อายุรศาสตร์ / โรคมะเร็ง  
ปีการศึกษา 2542

ลายมือชื่อนิติ.....  
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....  
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....



## กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงจากความช่วยเหลือในการวิจัยเป็นอย่างดี และความร่วมมือระหว่าง  
สามภาควิชาซึ่งได้แก่ ภาควิชาอายุรศาสตร์ ภาควิชาพยาธิวิทยา และภาควิชาเวชศาสตร์ชั้นสูง ผู้วิจัยขอ  
ขอบพระคุณผู้มีรายนามดังต่อไปนี้ที่ได้ช่วยเหลือให้การวิจัยครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

รองศาสตราจารย์นายแพทย์วินทร์ วรรณิ และ รองศาสตราจารย์แพทย์หญิงนพพรณ จารุรักษ์  
อาจารย์ที่ปรึกษาและอาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ได้ให้คำแนะนำและข้อคิดเห็นในการวิจัยมาตลอด

รองศาสตราจารย์นายแพทย์พงษ์พีระ สุวรรณกุล และ อาจารย์แพทย์หญิง นฤมล วิเศษโสภาส  
อาจารย์ประจำภาควิชาพยาธิวิทยาที่ช่วยรวบรวมชิ้นเนื้อมะเร็งตับของผู้ป่วยและการอ่านผลการย้อมชิ้นเนื้อ

อาจารย์นายแพทย์พิสิฐ ตั้งกิจวานิชย์ ที่ช่วยในการเก็บรวบรวมข้อมูลทางด้านคลินิกของผู้ป่วย

รองศาสตราจารย์นายแพทย์อภิวัฒน์ มุทิรางกูร หน่วยพันธุศาสตร์ ภาควิชากายวิภาคศาสตร์  
คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และ นายวิชัย พรธนะเกษม นิสิตปริญญาเอก สาขาวิชา  
จุลชีววิทยาทางการแพทย์ ในความกรุณาให้ความรู้พื้นฐานและคำปรึกษาทางอนุชีววิทยาทางการแพทย์

นางสาวรัตนา ฉัตรศานติกุล ที่ช่วยในการตรวจย้อมโปรตีน p16

คุณทวีพร นทีสำเร็จ ผู้ช่วยฝ่ายวิจัย บริษัทอีโกลิสส์เอเซียอิงค์ สาขาประเทศไทย ที่ช่วยค้นหาและรวบรวม  
รวมเอกสารทางการแพทย์ที่นำมาใช้อ้างอิงในวิทยานิพนธ์นี้

แพทย์ทุกท่านที่มีส่วนร่วมในการดูแลและบันทึกข้อมูลผู้ป่วยในเวชระเบียนเพื่อให้ได้ข้อมูลทางคลินิก

รองศาสตราจารย์นายแพทย์ธานีรินทร์ อินทรกำธรชัย และคณะกรรมการบริหารหลักสูตร วท.ม.

อายุรศาสตร์ที่ช่วยกำกับดูแลและแก้ปัญหาในการวิจัย ทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย .....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ .....	จ
กิตติกรรมประกาศ .....	ข
สารบัญ .....	ช
สารบัญตาราง .....	ฅ
สารบัญรูปภาพ .....	ฉ
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ .....	ท
.	
บทที่	
1. บทนำ .....	1
2. แนวเหตุผล และ ทฤษฎี .....	7
2.1 ขั้นตอนของการเกิดมะเร็ง .....	7
2.2 วัฏจักรของเซลล์และการเกิดโรคมะเร็ง .....	8
2.3 ยีนต้านมะเร็ง .....	10
2.4 อนุชีววิทยาของมะเร็งตับชนิด HCC .....	21
2.5 ระบาดวิทยาของโรคมะเร็งตับชนิด HCC .....	23
2.6 อาการ .....	25
2.7 อาการแสดง .....	27
2.8 การแบ่งระยะของโรคมะเร็งตับ HCC .....	27
2.9 การตรวจทางคลินิก .....	29
2.10 การตรวจเลือด .....	29
2.11 การตรวจทางรังสี .....	30
2.12 การตรวจทางพยาธิวิทยา .....	30
2.13 การรักษามะเร็งตับ .....	31
2.14 ข้อมูลผู้ป่วยมะเร็งตับชนิด HCC ที่มารับการวินิจฉัยและ การรักษาในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ .....	37
2.15 การตรวจคัดกรองโรคมะเร็งตับ .....	39

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.16 การป้องกันโรคมะเร็งตับชนิด HCC .....	40
3 ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง .....	41
4 วิธีดำเนินการวิจัย .....	56
5 ผลการศึกษาและอภิปรายผล.....	62
5.1 ข้อมูลทั่วไปของผู้ป่วย .....	63
5.2 ระยะโรคมะเร็งตับ .....	71
5.3 ผลการตรวจเลือดทางห้องปฏิบัติการ .....	76
5.4 การรักษาโรคมะเร็งตับ .....	80
5.5 ระยะเวลาการมีชีวิตรของผู้ป่วย .....	85
6 สรุปผลการศึกษาวิจัยและข้อเสนอแนะ .....	86
รายการอ้างอิง .....	93
ภาคผนวก .....	104
ประวัติผู้วิจัย .....	106



## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 แสดงร้อยละของชนิดความผิดปกติของยีน p16 ที่พบในโรคมะเร็งชนิดต่าง ๆ .....	20
2.2 แสดงความผิดปกติของยีน P16 ที่พบในมะเร็งตับชนิด HCC .....	20
2.3 แสดงตำแหน่งที่พบ LOH มากกว่าร้อยละ 14 ในมะเร็งตับชนิด HCC .....	23
2.4 แสดงโรคและภาวะที่เกี่ยวข้องกับการเกิดมะเร็งตับ .....	26
2.5 แสดงการแบ่งระยะของของโรคมะเร็งตับชนิด HCC อาศัยการแบ่งตามระบบของ TNM .....	28
2.6 แสดงเกณฑ์ที่ใช้ในการแบ่งระยะโรคมะเร็งตับตามแบบ Okuda .....	29
2.7 แสดงอัตราการรอดชีวิตที่ 3 ปีในผู้ป่วยมะเร็งตับชนิด HCC ที่ได้รับการผ่าตัดตามระยะต่าง ๆ .....	32
2.8 อัตราการรอดชีวิตในผู้ป่วยมะเร็งตับชนิด HCC ที่รักษาด้วยการผ่าตัดเปลี่ยนตับ .....	34
3.1 เปรียบเทียบความผิดปกติของยีน P16 กับการย้อมโปรตีน p16 ด้วยวิธี immunohistochemistry .....	41
3.2 แสดงปัจจัยต่าง ๆ ทางคลินิกในผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดที่ไม่ใช่เซลล์เล็ก แยกตามการตรวจพบโปรตีน p16 ในเซลล์มะเร็ง .....	43
3.3 ความสัมพันธ์ระหว่าง LOH บนโครโมโซมคู่ที่ 9p21 กับปัจจัยทางคลินิก .....	45
3.4 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างการตรวจพบโปรตีน p16 กับโปรตีน cyclin D1 .....	48
3.5 เปรียบเทียบปัจจัยที่มีผลต่อการขาดหายไปของยีน p16 ในมะเร็งของศีรษะและคอ .....	49
3.6 แสดงการวิเคราะห์โปรตีน p16 ที่ย้อมด้วยวิธี immunohistochemistry ในรอยโรค ที่มีต้นกำเนิดมาจากเซลล์เมโลโนไซต์ .....	51
3.7 แสดงการพบโปรตีน p16 ในรอยโรคปฐมภูมิของมะเร็งไฝดำกับความหนา และระดับของก้อนมะเร็ง .....	51
3.8 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างโปรตีน p16 กับความผิดปกติของยีน P16 ในมะเร็ง ต่อมน้ำเหลืองชนิด Non-Hodgkin .....	52
3.9 แสดงร้อยละของการตรวจไม่พบโปรตีน p16 ในมะเร็งตับชนิด HCC .....	54
3.10 ลักษณะทางคลินิกของมะเร็งตับชนิดเฮปาโตเซลล์ลูคาร์ซีโนมาที่ตรวจพบและไม่พบ homozygous deletion ของยีน P16 .....	55
5.1 แสดงผลการย้อมโปรตีน p16 ในเซลล์มะเร็งตับชนิด HCC .....	62
5.2 แสดงข้อมูลทั่วไปของผู้ป่วยทั้งสองกลุ่ม .....	64

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
5.3 แสดงระยะโรคมะเร็งตับในผู้ป่วยทั้งสองกลุ่ม .....	71
5.4 แสดงผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการในผู้ป่วยที่พบและไม่พบโปรตีน p16 .....	76
5.5 แสดงการรักษาโรคมะเร็งตับในผู้ป่วยกลุ่มที่พบและไม่พบโปรตีน p16 .....	80

## สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1.1	แสดงอุบัติการณ์ของโรคมะเร็งตับชนิดปฐมภูมิในเพศชายทั่วโลก .....	2
1.2	แสดงอุบัติการณ์ของโรคมะเร็งตับชนิดปฐมภูมิในเพศหญิงทั่วโลก .....	2
1.3	แสดงอุบัติการณ์ของโรคมะเร็งตับปฐมภูมิในผู้ป่วยเพศชายและเพศหญิง แยกตามจังหวัดต่าง ๆ ในประเทศไทย .....	3
1.4	แสดงอุบัติการณ์ของโรคมะเร็งตับปฐมภูมิแยกตามจังหวัดต่าง ๆ ในประเทศไทย เทียบกับประเทศบราซิล .....	3
1.5	แสดงชนิดของมะเร็งตับปฐมภูมิแยกตามลักษณะทางพยาธิวิทยาของจังหวัดต่าง ๆ ในประเทศไทย .....	4
1.6	กราฟแสดงจำนวนผู้ป่วยมะเร็งตับปฐมภูมชนิด hepatocellular carcinoma (HCC) แยกตามเพศชายและหญิงที่ได้รับการวินิจฉัยที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ในแต่ละปี ตั้งแต่ พ.ศ. 2526 ถึง 2540 (เป็นระยะเวลา 15 ปี) .....	5
2.1	แสดงขั้นตอนการเกิดเซลล์มะเร็ง .....	7
2.2	แสดงวัฏจักรเซลล์ เริ่มจากระยะ G1 ผ่านเข้าสู่ระยะ S G2 และ M ตามลำดับ .....	9
2.3	แผนภาพแสดงขั้นตอนการทำงานของยีน P53 ในวัฏจักรเซลล์ .....	13
2.4	แสดงการทำงานของโปรตีน p53 .....	13
2.5	แสดงโครงสร้างของยีน P16 .....	14
2.6	แสดงการทำงานของวัฏจักรเซลล์ในระยะ G1 ต่อไปยังระยะ S โดยการทำงานประสานกัน ระหว่าง cyclin-D CDK4 E2F โปรตีน p16 และโปรตีน pRB .....	15
2.7	แสดงลักษณะทางพยาธิวิทยาของมะเร็งตับชนิด HCC .....	31
2.8	กราฟแสดงระยะเวลามีชีวิตของผู้ป่วยมะเร็งตับชนิด HCC ที่ให้การรักษาแบบ ประคับประคอง .....	37
2.9	กราฟแสดงระยะเวลามีชีวิตของผู้ป่วยมะเร็งตับชนิด HCC ที่ให้การรักษาแบบ ประคับประคองโดยแบ่งระยะตามระบบ TNM.....	38
2.10	กราฟแสดงระยะเวลามีชีวิตของผู้ป่วยมะเร็งตับชนิดเฮปาโทเซลล์ูล่าคาริโนมาที่ ให้การรักษาแบบประคับประคองโดยแบ่งระยะตามระบบ Okuda .....	38
3.1	แสดงกราฟระยะเวลามีชีวิตของผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดไม่ใช้เซลล์เล็กแยกตาม การตรวจพบและไม่พบโปรตีนพี16 ในเซลล์มะเร็ง .....	42

## สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
3.2 แสดงกราฟระยะเวลาที่มีชีวิตของผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิด adenocarcinoma แยกตามการตรวจพบและไม่พบโปรตีน p16 ในเซลล์มะเร็ง .....	44
3.3 แสดงระยะเวลาที่มีชีวิตของผู้ป่วยมะเร็งตับอ่อนที่ตรวจพบและไม่พบโปรตีน p16 และโปรตีน p53 .....	47
3.4 แสดงระยะเวลาที่มีชีวิตของผู้ป่วยมะเร็งหลอดอาหารชนิด squamous cell carcinoma ที่ตรวจพบและไม่พบโปรตีน p16 ในก้อนมะเร็ง .....	48
4.1. แสดงการย้อมเซลล์มะเร็งตับชนิด HCC ด้วย H&E (ก และ ข) และ ย้อมหาโปรตีน p16 (ค และ ง) .....	59
5.1 กราฟแสดงเพศของผู้ป่วยที่ตรวจพบและไม่พบโปรตีน p16 ในเซลล์มะเร็ง .....	65
5.2 กราฟแสดงช่วงอายุของผู้ป่วยที่ตรวจพบและไม่พบโปรตีน p16 ในเซลล์มะเร็ง .....	66
5.3 กราฟแสดงร้อยละของจำนวนผู้ป่วยที่มีประวัติดื่มสุราแยกเป็นกลุ่มที่พบและไม่พบโปรตีน p16 .....	67
5.4 กราฟแสดงร้อยละของจำนวนผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีแยกเป็นกลุ่มที่พบและไม่พบโปรตีน p16 .....	68
5.5 กราฟแสดงร้อยละของจำนวนผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีแยกเป็นกลุ่มที่พบและไม่พบโปรตีน p16 .....	69
5.6 กราฟแสดงร้อยละของจำนวนผู้ป่วยที่มีตับแข็งร่วมด้วยแยกเป็นกลุ่มที่พบและไม่พบโปรตีน p16 .....	70
5.7 กราฟแสดงจำนวนผู้ป่วย (ร้อยละ) ตามการแบ่งระยะโรคมะเร็งตับตาม Child classification โดยแยกตามการตรวจพบและไม่พบโปรตีน p16 .....	72
5.8 กราฟแสดงร้อยละของจำนวนผู้ป่วยตามการแบ่งระยะโรคมะเร็งตับตามระบบ TNM โดยแยกตามการตรวจพบและไม่พบโปรตีน p16 .....	73
5.9 กราฟแสดงร้อยละของจำนวนผู้ป่วยตามการแบ่งระยะโรคมะเร็งตับตามระบบ Okuda โดยแยกตามการตรวจพบและไม่พบโปรตีน p16 .....	74
5.10 กราฟแสดงร้อยละของจำนวนผู้ป่วยที่มาพบแพทย์ในระยะที่โรคมะเร็งตับมีการแพร่กระจายไปไกลแล้ว (TNM stage IVB) โดยแยกตามการตรวจพบและไม่พบโปรตีน p16 .....	75

## สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
5.11 กราฟแสดงร้อยละของจำนวนผู้ป่วยตามระดับ Alphafetoprotein ในเลือดโดยแยกตาม การตรวจพบและไม่พบโปรตีน p16 .....	77
5.12 กราฟแสดงร้อยละของจำนวนผู้ป่วยตามระดับ total bilirubin ในเลือดโดยแยกตาม การตรวจพบและไม่พบโปรตีน p16 .....	78
5.13 กราฟแสดงร้อยละของจำนวนผู้ป่วยตามระดับ Albumin ในเลือดโดยแยกตาม การตรวจพบและไม่พบโปรตีน p16 .....	79
5.14 กราฟแสดงร้อยละของจำนวนผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาด้วยการผ่าตัด โดยแยกตาม การตรวจพบและไม่พบโปรตีน p16 .....	81
5.15 กราฟแสดงร้อยละของจำนวนผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาด้วยการฉีดยาเคมีบำบัดเข้า ทางหลอดเลือดดำเฮปาทิก (Chemoembolization) โดยแยกตามการตรวจพบและ ไม่พบโปรตีน p16 .....	82
5.16 กราฟแสดงร้อยละของจำนวนผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาด้วยยาเคมีบำบัด โดยแยกตาม การตรวจพบและไม่พบโปรตีน p16 .....	83
5.17 กราฟแสดงร้อยละของจำนวนผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาแบบประคับประคอง โดยแยกตาม การตรวจพบและไม่พบโปรตีน p16 .....	84
5.18 กราฟแสดงระยะเวลาการมีชีวิตในกลุ่มที่ตรวจพบโปรตีน p16 กับกลุ่มผู้ป่วยที่ ตรวจไม่พบโปรตีน p16 .....	85

## คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

Anti-HCV	Antibody to hepatitis C virus
CT scan	Computer tomography scan
HBV	Hepatitis B virus
HBsAg	Hepatitis B surface antigen
HCC	Hepatocellular carcinoma
HCV	Hepatitis C virus
MRI	Magnetic resonance imaging
NSCLC	Non-small cell lung cancer
p53	Protein p53
p16	Protein p16
P53	P53 tumor suppressor gene
P16	P16 tumor suppressor gene
SCLC	Small cell lung cancer
TNM	TNM Tumor staging
TOCE	Transarterial oily chemoembolization





## ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

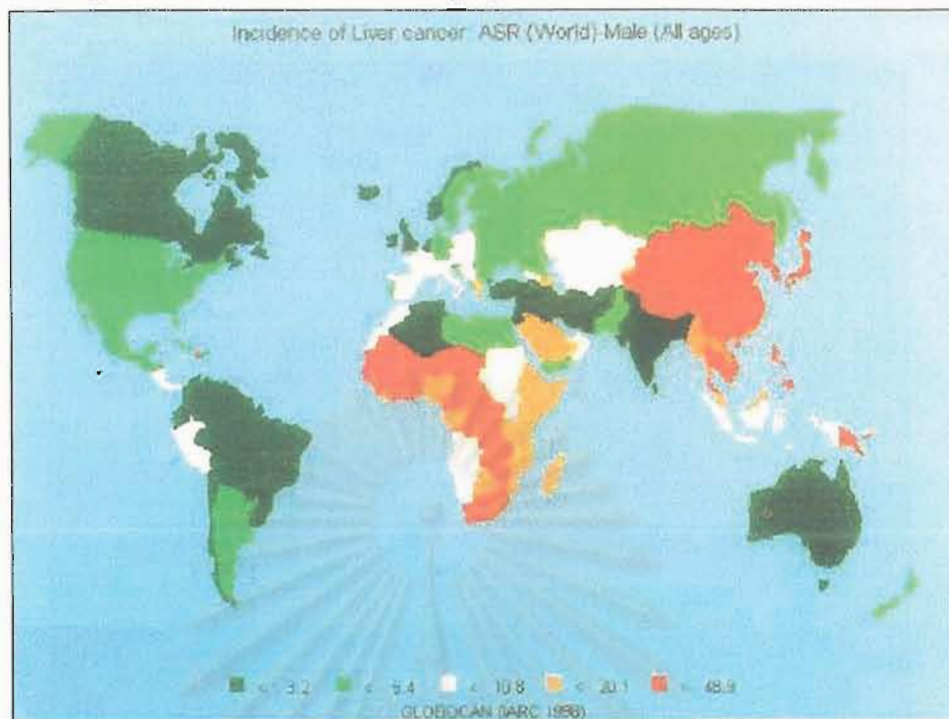
ในประเทศสหรัฐอเมริกาโรคมะเร็งเป็นโรคที่เป็นสาเหตุการตายเป็นอันดับที่สองรองจากโรคหัวใจ อัตราการตายจากโรคหัวใจลดลงเรื่อย ๆ ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2493 (ค.ศ.1950) แต่อัตราการตายจากโรคมะเร็งกลับเพิ่มสูงขึ้น และถ้าอัตราการตายจากโรคหัวใจลดลงเรื่อย ๆ ในที่สุดโรคมะเร็งจะเป็นสาเหตุการตายเป็นอันดับหนึ่งในสหรัฐอเมริกา ซึ่งคาดว่าเหตุการณ์นี้มีโอกาสเกิดขึ้นภายในต้นศตวรรษที่ 20 นี้<sup>1</sup> ส่วนในประเทศไทยโรคมะเร็งเป็นโรคที่เป็นสาเหตุการตายเป็นอันดับที่สามรองจากอุบัติเหตุและโรคหัวใจ

มะเร็งตับชนิดปฐมภูมิได้แก่ มะเร็งตับชนิด hepatocellular carcinoma (HCC) hepatoblastoma และ cholangiocarcinoma มะเร็งตับเป็นโรคมะเร็งที่พบบ่อยเป็นอันดับที่ 5 ของโลก ในปี พ.ศ. 2533 (ค.ศ. 1990) มีผู้ป่วยใหม่ที่ได้รับการวินิจฉัยทั่วโลกประมาณ 437,000 ราย หรือคิดเป็นร้อยละ 5.4 ของผู้ป่วยมะเร็งรายใหม่ทั้งหมด มีผู้ป่วยเสียชีวิตประมาณ 427,000 ราย หรือคิดเป็นร้อยละ 8.2 ของผู้ป่วยเสียชีวิตจากโรคมะเร็งทั้งหมด<sup>2</sup>

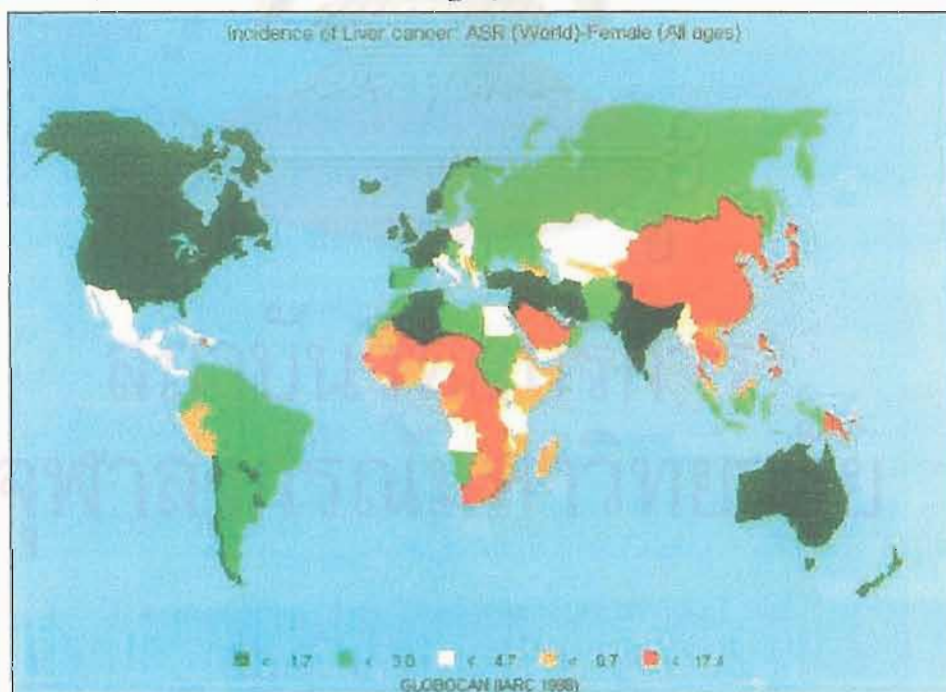
การกระจายของโรคมะเร็งตับตามสภาพทางภูมิศาสตร์ทั่วโลกมีความแตกต่างกันอย่างมาก (แสดงดังรูปที่ 1.1 และ 1.2) ซึ่งความแตกต่างนี้มีมากกว่ามะเร็งที่พบมากชนิดอื่น มะเร็งตับในประเทศที่พัฒนาแล้วพบได้น้อย แต่ในประเทศที่กำลังพัฒนามะเร็งชนิดนี้พบได้บ่อยมาก ผู้ป่วยมากกว่าร้อยละ 80 เป็นผู้ป่วยที่อาศัยอยู่ในแอฟริกา (บริเวณแถบใต้ทะเลทรายซาฮารา) เอเชียตะวันออกเฉียง และเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ โดยเฉพาะประเทศจีนเพียงประเทศเดียวก็มีผู้ป่วยมะเร็งตับถึงร้อยละ 55 ของผู้ป่วยทั้งหมดทั่วโลก เพศชายเป็นมะเร็งตับมากกว่าเพศหญิง (มากกว่าสองเท่า)<sup>2</sup>

ในประเทศไทยมะเร็งตับเป็นโรคมะเร็งที่พบบ่อยที่สุดเป็นอันดับหนึ่งในเพศชายและเป็นอันดับที่สามในเพศหญิง อุบัติการณ์ของโรคมะเร็งปฐมภูมิของตับในประเทศไทยอยู่ระหว่าง 6.4 ถึง 87.5 ต่อแสนคนในเพศชาย และ 1.4 ถึง 37.2 ต่อแสนคนในเพศหญิง (แสดงดังรูปที่ 1.3) ขอนแก่นเป็นจังหวัดที่มีอุบัติการณ์ของโรคมะเร็งตับปฐมภูมิสูงที่สุดในประเทศไทย (แสดงดังรูปที่ 1.4) ชนิดของมะเร็งตับที่พบแยกตามลักษณะทางพยาธิวิทยามีความแตกต่างกันในแต่ละพื้นที่ (แสดงดังรูปที่ 1.5)

รูปที่ 1.1 แสดงอุบัติการณ์ของโรคมะเร็งตับชนิดปฐมภูมิในเพศชายทั่วโลก<sup>2</sup>

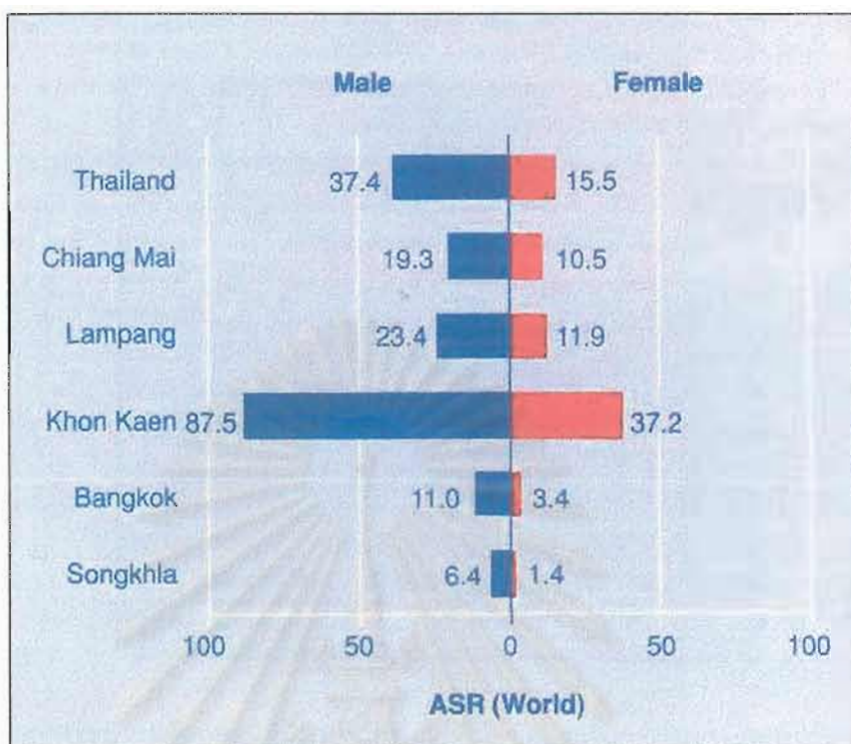


รูปที่ 1.2 แสดงอุบัติการณ์ของโรคมะเร็งตับชนิดปฐมภูมิในเพศหญิงทั่วโลก<sup>2</sup>

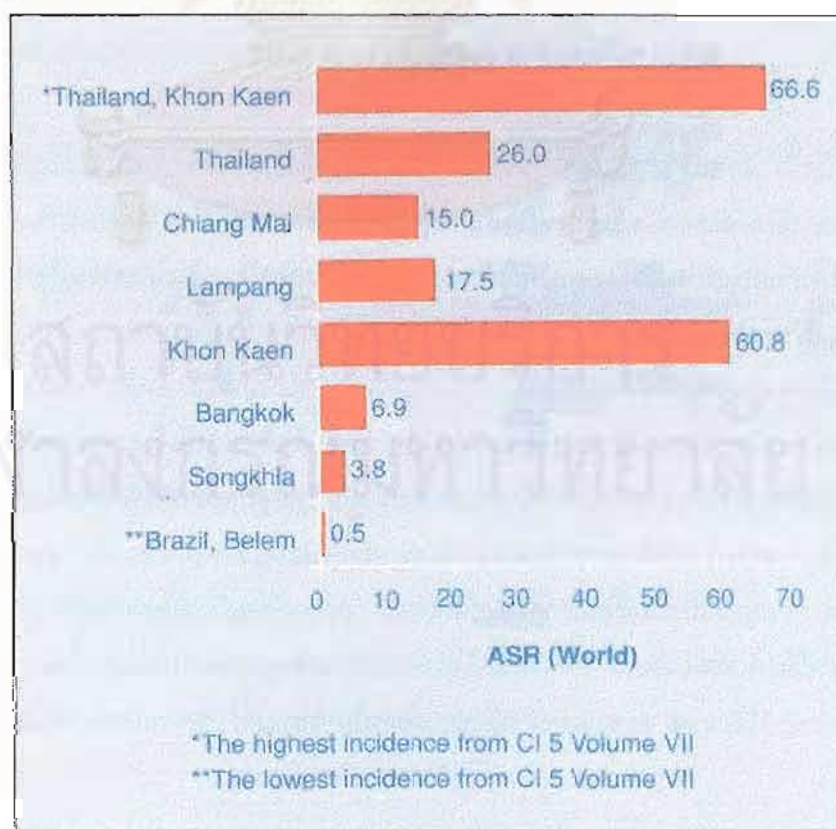




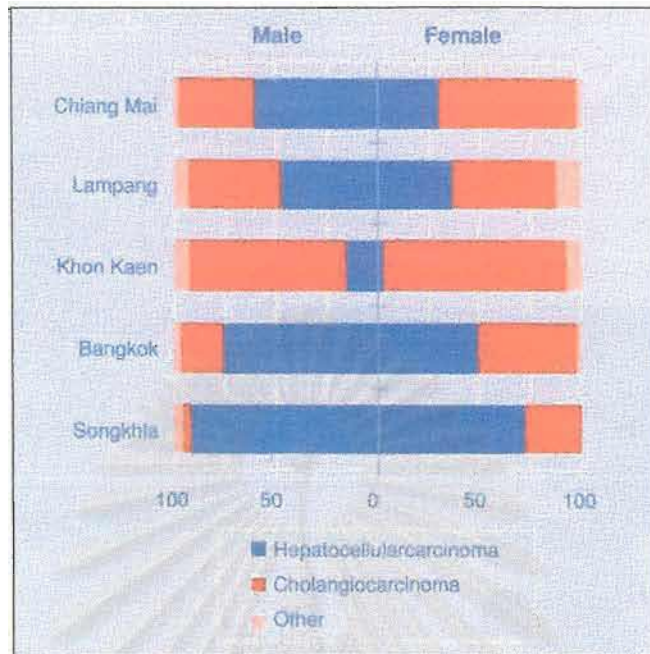
รูปที่ 1.3 แสดงอุบัติการณ์ของโรคมะเร็งตับปฐมภูมิในผู้ป่วยเพศชายและเพศหญิงแยกตามจังหวัดต่าง ๆ ในประเทศไทย<sup>2</sup>



รูปที่ 1.4 แสดงอุบัติการณ์ของโรคมะเร็งตับปฐมภูมิแยกตามจังหวัดต่าง ๆ ในประเทศไทยเทียบกับประเทศบราซิล<sup>2</sup>



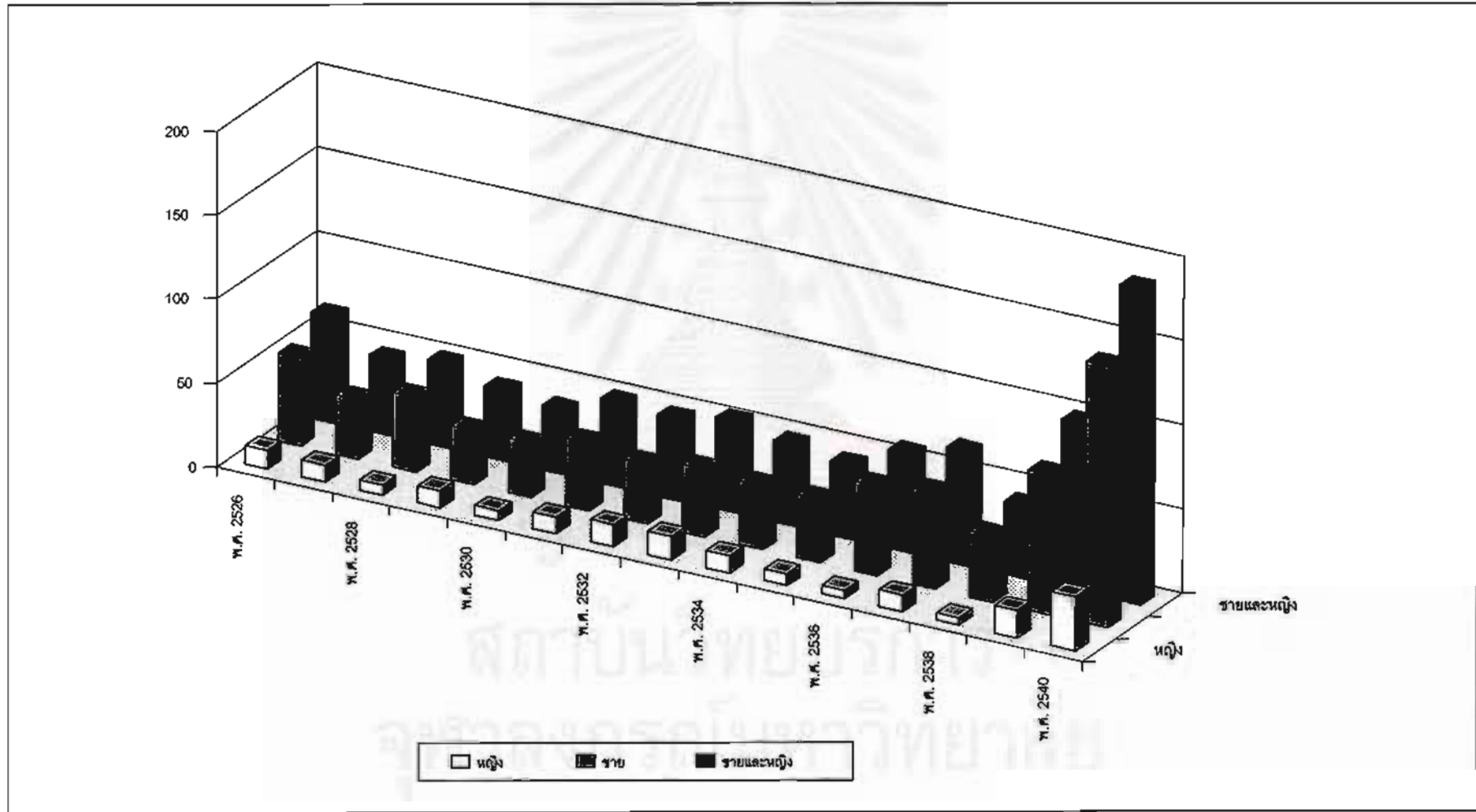
รูปที่ 1.5 แสดงชนิดของมะเร็งตับปฐมภูมิแยกตามลักษณะทางพยาธิวิทยาของจังหวัดต่าง ๆ ในประเทศไทย (หน่วยเป็นร้อยละ)<sup>2</sup>



จากการรวบรวมข้อมูลสถิติผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยและรับการรักษาที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ด้วยโรคมะเร็งตั้งแต่ปี พ.ศ. 2526 ถึง พ.ศ. 2540<sup>3-17</sup> พบว่าในช่วงระยะเวลา 15 ปีมีผู้ป่วยโรคมะเร็ง จำนวนทั้งสิ้น 33,712 ราย เป็นโรคมะเร็งตับชนิดปฐมภูมิ 1,539 รายหรือคิดเป็นร้อยละ 4.6 ซึ่งเป็นโรคมะเร็งที่พบบ่อยเป็นอันดับที่ 6 ถ้าแยกตามลักษณะทางพยาธิวิทยาแล้วพบว่าเป็นโรคมะเร็งตับชนิด HCC จำนวน 936 ราย เป็นเพศชาย 772 รายและเพศหญิง 164 ราย แสดงดังรูปที่ 1.6

โรคมะเร็งเป็นโรคทางพันธุกรรมโดยมีการเกิดโรคเป็นขั้นตอนหลายขั้นตอน เมื่อมีความก้าวหน้าทางอณูชีววิทยามากขึ้นทำให้เราทราบถึงการเปลี่ยนแปลงในระดับโมเลกุลของเปลี่ยนแปลงจากเซลล์ปกติจนกลายเป็นเซลล์มะเร็ง ปัจจัยที่เกี่ยวข้องในการเกิดโรคมะเร็งมีหลายประการตั้งแต่การเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรม ระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย และสิ่งแวดล้อมซึ่งรวมทั้งสารก่อมะเร็งและการติดเชื้อโรคบางชนิด ดังนั้นการศึกษาถึงอณูชีววิทยาทำให้เราทราบถึงกลไกการเกิดโรคมะเร็ง อันมีผลให้ สามารถคิดค้นหาวิธีการรักษาโรคมะเร็งที่มีประสิทธิภาพมากขึ้นและลดผลแทรกซ้อนจากการรักษาให้น้อยลงกว่าในปัจจุบัน สำหรับโรคมะเร็งตับชนิดปฐมภูมินั้นยังไม่ทราบพยาธิกำเนิดและกลไกความผิดปกติทางอณูชีววิทยาอย่างชัดเจน เนื่องจากโรคมะเร็งชนิดนี้มีอุบัติการณ์ไม่สูงในชนชาติยุโรปและสหรัฐซึ่งมีศักยภาพในการศึกษาวิจัยทางวิทยาศาสตร์เป็นอย่างมาก แต่กลับมีอุบัติการณ์สูงและเป็นปัญหาทางสาธารณสุขในประเทศไทย รวมทั้งประเทศในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงและแอฟริกา ในอนาคตหากได้มีการศึกษาวิจัยในโรคมะเร็งชนิดนี้อาจทำให้เราทราบถึงกลไกการเกิดโรคและสามารถหาวิธีการรักษาโรคมะเร็งชนิดนี้ให้หายขาดได้

รูปที่ 1.6 กราฟแสดงจำนวนผู้ป่วยมะเร็งตับปฐมภูมิชนิด hepatocellular carcinoma (HCC) แยกตามเพศชายและหญิงที่ได้รับการวินิจฉัยที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ในแต่ละปีตั้งแต่ พ.ศ. 2526 ถึง 2540 (เป็นระยะเวลา 15 ปี)



### วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อศึกษาเปรียบเทียบระยะเวลาการมีชีวิตรอดของผู้ป่วยมะเร็งตับชนิด hepatocellular carcinoma (HCC) ในระยะต่าง ๆ ที่มีและไม่มี ความผิดปกติของโปรตีน p16 ว่าแตกต่างกันหรือไม่

### ผลประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย

1. ทราบผลของความผิดปกติของโปรตีน p16 ในผู้ป่วยมะเร็งตับชนิด HCC ต่อระยะเวลาการมีชีวิตรอดของผู้ป่วย (survival time)
2. ทราบความชุกของความผิดปกติของโปรตีน p16 ในผู้ป่วยมะเร็งตับชนิด HCC ระยะต่าง ๆ ในคนไทย



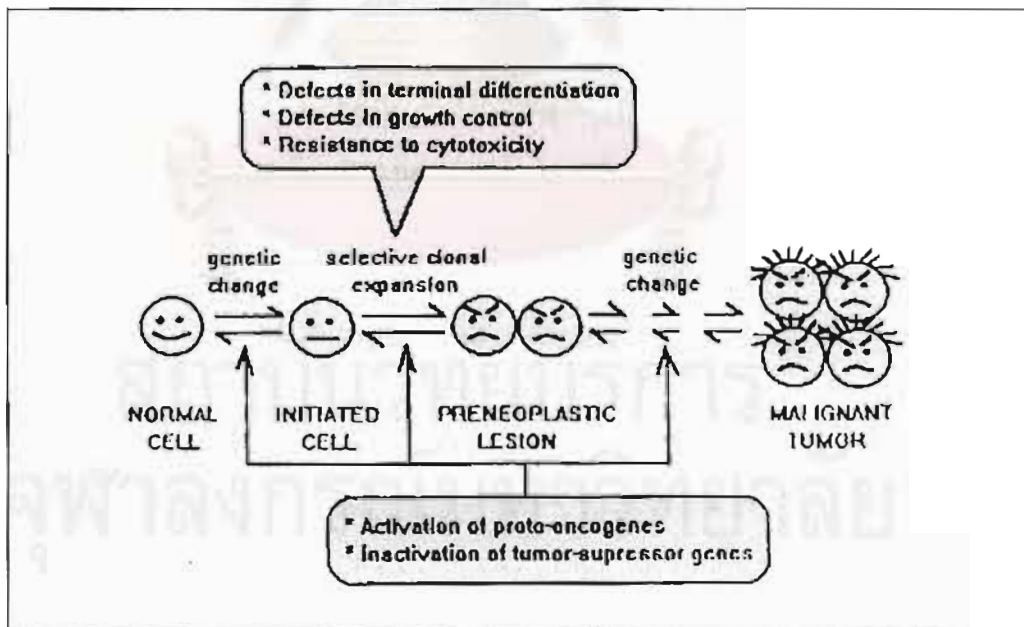


แนวเหตุผล และทฤษฎี

2.1 ขั้นตอนของการเกิดมะเร็ง

การเกิดมะเร็งเป็นการเปลี่ยนแปลงที่เป็นขั้นเป็นตอน โดยเริ่มจากการเปลี่ยนแปลงในระดับพันธุกรรม มีการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างและจำนวนของโครโมโซม เกิดการเปลี่ยนแปลงของดีเอ็นเอ (DNA) การกระตุ้นยีนก่อมะเร็ง และการยับยั้งการทำหน้าที่ของยีนต้านมะเร็ง การเปลี่ยนแปลงในระดับพันธุกรรมดังกล่าวจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีหลายขั้นตอน จนทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางรูปร่างและคุณสมบัติของเซลล์จากเซลล์ปกติเปลี่ยนไปเป็นเซลล์ก่อนเป็นมะเร็ง (pre-malignant cell) และกลายเป็นเซลล์มะเร็ง (malignant cell) ในที่สุด<sup>18</sup> แสดงดังรูปที่ 2.1 ยีนก่อมะเร็ง (oncogenes) คือยีนซึ่งเมื่อมีความผิดปกติเกิดขึ้นจะทำให้มีการเปลี่ยนแปลงไปสู่การเป็นมะเร็ง ยีนก่อมะเร็งอาจเกิดมาจากการเปลี่ยนแปลงของยีนปกติที่เรียกว่า proto-oncogene สำหรับยีนต้านมะเร็งจะกล่าวในหัวข้อถัดไป

รูปที่ 2.1 แสดงขั้นตอนการเกิดเซลล์มะเร็ง<sup>19</sup>



การเปลี่ยนแปลงในโครงสร้างและจำนวนของโครโมโซมมีส่วนสัมพันธ์อย่างใกล้ชิดกับการเกิดโรคมะเร็ง ความผิดปกติของโครโมโซมในผู้ป่วยโรคมะเร็งเกิดได้ทั้งจากการเพิ่มจำนวนของโครโมโซมมากขึ้นผิดปกติเช่น การเพิ่มของโครโมโซมคู่ที่ 7 และ 17 ในการเกิดมะเร็งของศีรษะและคอ การเพิ่มแขน

ของโครโมโซม การสับเปลี่ยนตำแหน่งของโครโมโซม (chromosome translocation) ซึ่งทำให้ยีนสองยีนจากโครโมโซมต่างคู่กันมาอยู่ใกล้กัน มีผลให้การควบคุมการทำงานของยีนนั้นผิดปกติไป และเป็นสาเหตุของการเกิดมะเร็งเช่น การสับเปลี่ยนตำแหน่งของโครโมโซมคู่ที่ 9 และ 22 ทำให้เกิด Philadelphia chromosome ทำให้ยีน *BCR* และ *ABL* จากโครโมโซมดังกล่าวมาต่อกันเกิดเป็นยีนใหม่และเป็นสาเหตุของมะเร็งเม็ดโลหิตขาวชนิด chronic myelogenous leukemia (CML)

## 2.2 วัฏจักรของเซลล์และการเกิดโรคมะเร็ง<sup>20,21</sup>

โรคมะเร็งเป็นโรคที่มีความผิดปกติเนื่องมาจากการเพิ่มจำนวนเซลล์ที่ผิดปกติโดยที่ร่างกายไม่สามารถควบคุมได้ ขบวนการสำคัญที่นำไปสู่การเพิ่มจำนวนเซลล์คือวัฏจักรของเซลล์ (cell cycle) วัฏจักรของเซลล์แบ่งได้เป็น 4 ระยะได้แก่ ระยะ G1 (pre-synthetic phase) เป็นระยะที่เซลล์เริ่มมีการเตรียมการสร้างดีเอ็นเอและสารต่าง ๆ ที่จำเป็นสำหรับการแบ่งเซลล์ ระยะ S (DNA synthetic phase) เป็นระยะที่มีการสร้างดีเอ็นเอและสารต่าง ๆ ที่จำเป็นสำหรับการแบ่งเซลล์ ระยะ G2 (pre-mitotic phase) เป็นระยะก่อนที่จะเข้าสู่ระยะแบ่งเซลล์ และระยะ M (mitotic phase) เป็นระยะที่มีการแบ่งเซลล์ ในเซลล์ปกติการเพิ่มจำนวนเซลล์จะเริ่มเป็นขั้นตอนทุกระยะตามลำดับตั้งแต่ระยะ G1 จนถึงที่สุดที่ระยะ M อย่างสมบูรณ์โดยไม่มี ความผิดปกติเกิดขึ้น

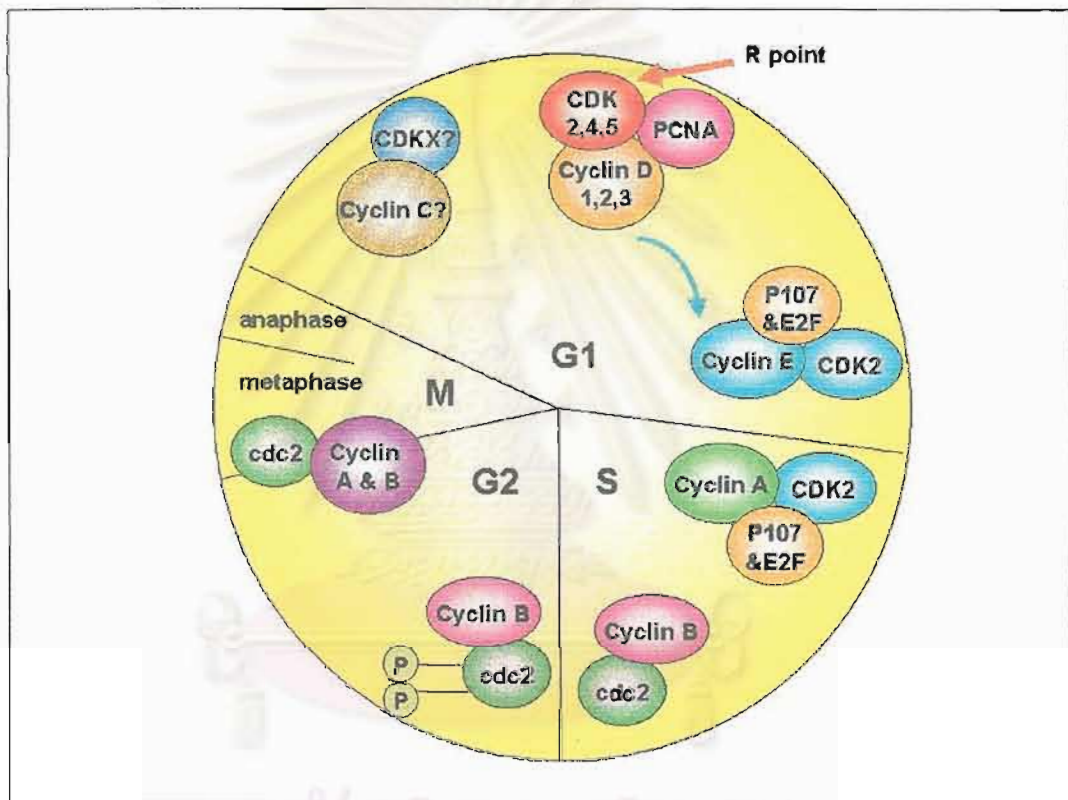
การทำงานของวัฏจักรของเซลล์เกิดจากการทำงานร่วมกันของโปรตีนสองประเภทคือโปรตีน cyclin และ โปรตีน cyclin dependent kinase (CDK) โดยที่โปรตีนทั้งสองประเภทนี้จะรวมกันเป็นสารประกอบไปกระตุ้นขั้นตอนต่าง ๆ ที่จะได้กล่าวต่อไปจนท้ายที่สุดที่มีการปลดปล่อย E2F ทำให้เซลล์เปลี่ยนจากระยะ G1 เข้าสู่ระยะ S โปรตีน CDK มีคุณสมบัติเป็นเอนไซม์ ปัจจุบันนี้พบว่า CDK มี 6 ชนิดได้แก่ CDK1 CDK2 CDK3 CDK4 CDK5 และ CDK6 ส่วน cyclin มี 9 ชนิดได้แก่ cyclin-A cyclin-B cyclin-C cyclin-D1 cyclin-D2 cyclin-D3 cyclin-E cyclin-F และ cyclin-G

ในปัจจุบันเชื่อว่าวัฏจักรเซลล์ในระยะ G1 เริ่มต้นจากการทำงานของ cyclin C จับกับ CDKX (ยังไม่ทราบว่า CDKX เป็น CDK ชนิดใด) จนกระทั่งเข้าสู่จุด R (restriction point หรือ R point) ซึ่งเป็นจุดที่วัฏจักรเซลล์ไม่ถูกควบคุมด้วย growth factors ต่าง ๆ ในน้ำเหลืองอีกต่อไป ที่จุด R นี้ cyclin-D1 cyclin-D2 และ cyclin-D3 จับกับ CDK2 CDK4 และ CDK5 และกระตุ้น proliferating-cell nuclear antigen (PCNA) ซึ่งเป็นส่วนสำคัญของ DNA polymerase S และมีความจำเป็นต่อการเกิด DNA replication จากนั้น cyclin E และ CDK2 จะร่วมกันทำงานตรงรอยต่อระหว่างระยะ G1 และระยะ S โดย cyclin E เมื่อรวมตัวกับ CDK2 จะกระตุ้นให้เกิด phosphorylation กับโปรตีนที่มีลักษณะโมเลกุลคล้ายโปรตีน pRb เช่น โปรตีน pRb โปรตีน p107 และโปรตีน p130 ทำให้โปรตีนเหล่านี้ปลดปล่อย

transcription factors คือ E2F ซึ่งไปทำหน้าที่กระตุ้นการทำงานของสารพันธุกรรมที่มีความจำเป็นต่อการออกจากระยะ G1 เข้าสู่ระยะ S

ในระยะ S cyclin-E ซึ่งทำหน้าที่เช่นเดียวกับ cyclin-E จะรวมตัวกับ CDK2 เพื่อให้ได้ E2F จนเซลล์เข้าสู่ระยะต่อระหว่างระยะ S กับระยะ G2 ที่ระยะตอนนี้ cyclin-B จะจับกับ CDC2 และกระตุ้นเซลล์เข้าสู่ระยะ G2 เพื่อเตรียมพร้อมที่จะดำเนินต่อไปจนเข้าสู่ระยะ M แล้ว cyclin-B จะถูกทำลายไปในระยะ M ในระยะ M นี้ cyclin A จะจับกับ CDC2 จนกระทั่งเซลล์สิ้นสุดการแบ่งตัว แสดงดังรูปที่ 2.2

รูปที่ 2.2 แสดงวัฏจักรเซลล์ เริ่มจากระยะ G1 ผ่านเข้าสู่ระยะ S, G2 และ M ตามลำดับ<sup>20,21</sup>



การที่เซลล์เข้าสู่วัฏจักรเซลล์และดำเนินไปจนครบวงจรจำเป็นต้องมีขบวนการตรวจสอบ เพื่อป้องกันและกำจัดเซลล์ที่เกิดความผิดปกติของสารพันธุกรรมไม่ให้เข้าสู่วัฏจักรเซลล์และแบ่งตัวเพิ่มจำนวนขึ้น เรียกว่าการตรวจสอบนี้ว่าการควบคุมวัฏจักรเซลล์ (cell-cycle control หรือ checkpoints) เซลล์ที่ผิดปกติจะถูกหยุดไว้ที่ระยะใดระยะหนึ่งของวัฏจักรเซลล์และได้รับการแก้ไขซ่อมแซมสารพันธุกรรมที่ผิดปกติก่อนที่จะแบ่งตัวต่อไป หรือหากไม่สามารถแก้ไขซ่อมแซมได้ก็จะถูกบังคับให้เข้าสู่ภาวะ apoptosis ต่อไป การควบคุมวัฏจักรเซลล์ส่วนใหญ่เกิดขึ้นที่บริเวณระยะต่อของแต่ละระยะเช่น รอยต่อระยะ G1/S รอยต่อระยะ G2/M เป็นต้น ปัจจุบันรอยต่อระยะ G1/S ได้รับการศึกษาอย่างกว้างขวางและเข้าใจกลไกที่เกิดขึ้นค่อนข้างสมบูรณ์ ทำให้ทราบว่าโปรตีน p53 ซึ่งเป็นโปรตีนที่เป็นผลผลิตของยีนต้านมะเร็ง P53 ทำหน้าที่ในตำแหน่งรอยต่อนี้



### 2.3 ยีนต้านมะเร็ง (tumor suppressor genes)<sup>22</sup>

ยีนต้านมะเร็งเป็นยีนที่มีความเกี่ยวข้องกับการป้องกันการเกิดมะเร็ง การกลายพันธุ์ของยีนต้านมะเร็งมีผลให้ยีนนี้ไม่สามารถทำงานได้และอาจมีการถ่ายทอดยีนที่ผิดปกติไปสู่ลูกหลานต่อไป ดังนั้นการกลายพันธุ์ของยีนต้านมะเร็งจึงเกี่ยวข้องกับการเกิดมะเร็งทั้งที่เป็นกรรมพันธุ์และ sporadic

ยีนต้านมะเร็งได้รับการค้นพบครั้งแรกจากการศึกษาเซลล์โซมาติกและโรคมะเร็งที่ถ่ายทอดทางพันธุกรรม เมื่อนำเซลล์มะเร็งมาผสมรวมกับเซลล์ปกติจะได้เซลล์ลูกหลานที่ไม่มีคุณสมบัติเป็นเซลล์มะเร็ง แต่เมื่อใดก็ตามเมื่อสูญเสียยีนต้านมะเร็งที่ปกติไปเซลล์ลูกหลานถัดมาก็สามารถแสดงคุณสมบัติของเซลล์มะเร็งได้อีกครั้งหนึ่ง แสดงให้เห็นว่ามะเร็งมีพฤติกรรมการถ่ายทอดแบบยีนด้อย

จากการวิเคราะห์ทางพันธุศาสตร์ของเซลล์มะเร็งพบว่าผู้ป่วยที่เป็นมะเร็งชนิดที่มีการถ่ายทอดทางพันธุกรรมเช่น retinoblastoma และ Wilms' tumor แสดงให้เห็นว่ามีการขาดหายไปของโครโมโซมเฉพาะที่เกี่ยวข้องชนิดของโรคมะเร็ง โดยเฉพาะการขาดหายไปของโครโมโซมคู่ที่ 13q14 เกี่ยวข้องกับการเกิดมะเร็ง retinoblastoma และการขาดหายไปของโครโมโซมคู่ที่ 11p13 เกี่ยวข้องกับ Wilms' tumor จากข้อมูลเหล่านี้สรุปได้ว่าการเกิดมะเร็งแต่ละชนิดต้องมีการขาดหายไปของดีเอ็นเอบนโครโมโซมที่จำเพาะในแต่ละโรค ทำให้โครโมโซมของทั้งสองตำแหน่งมีชื่อเรียกเฉพาะว่าเป็นตำแหน่งของยีนต้านมะเร็งชนิด retinoblastoma (RB1) และ Wilms' tumor (WT-1)

จากการวิเคราะห์ของ Knudson ในโรคมะเร็งชนิด retinoblastoma ในกลุ่มผู้ป่วยที่มะเร็งเป็นชนิดที่มีการถ่ายทอดทางพันธุกรรมซึ่งมักเป็นโรคมะเร็งชนิดนี้ตั้งแต่วัยเด็กและในกลุ่มผู้ป่วยที่มะเร็งเป็นชนิด sporadic หรือไม่มีการถ่ายทอดทางพันธุกรรม ทำให้เขาสันนิษฐานว่าการเกิดมะเร็งต้องอาศัยการกลายพันธุ์สองครั้งเพื่อให้เกิดความผิดปกติของทั้งสอง alleles ของยีนต้านมะเร็งและผลของการกลายพันธุ์ทำให้ยีนเสียการทำงานที่ไป ในมะเร็ง retinoblastoma ที่ถ่ายทอดทางพันธุกรรมการกลายพันธุ์ครั้งแรกเกิดในเซลล์ germline และครั้งที่สองเกิดในเซลล์โซมาติก ส่วนในมะเร็ง retinoblastoma ที่เป็น sporadic การกลายพันธุ์ทั้งสองครั้งเกิดในเซลล์โซมาติก ความผิดปกติของยีนนี้สามารถเห็นได้จากการศึกษาทางพันธุศาสตร์ของเซลล์ แต่โดยปกติแล้วโรคมะเร็งที่ถ่ายทอดทางพันธุกรรมไม่สามารถเห็นความผิดปกติจากการศึกษาทางพันธุศาสตร์ของเซลล์เพราะความผิดปกตินั้นเกิดเพียงเล็กน้อยเช่น การขาดหายไปของยีนเพียงเล็กน้อย หรือเกิดการกลายพันธุ์ชนิด point mutation

ในหัวข้อของยีนต้านมะเร็งนี้จะขงกล่าวรายละเอียดเฉพาะยีน P53 ซึ่งเป็นยีนต้านมะเร็งที่ได้รับการศึกษาและความสนใจมากที่สุด และยีน P16 ซึ่งเกี่ยวข้องกับการศึกษาวิจัยนี้



### 2.3.1 ยีน P53<sup>22, 23</sup>

ยีน P53 อยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 17p13.1 ยีน p53 ของมนุษย์มีความยาว 20 กิโลเบส ประกอบด้วย 11 exon ทำหน้าที่ในการสร้างโปรตีนที่ประกอบด้วย 393 กรดอะมิโน มีน้ำหนักโมเลกุล 53 กิโลดาลตันซึ่งทำหน้าที่เป็น transcription factor ชนิดหนึ่ง เมื่อดีเอ็นเอถูกทำลายโปรตีน p53 จะเพิ่มปริมาณขึ้นเพื่อยับยั้งการทำงานของวัฏจักรเซลล์ในระยะท้ายของ G1 และสามารถชักนำให้เซลล์เข้าสู่โปรแกรมการตายหรือ apoptosis ยีนที่ 53 ที่ปกติเรียกว่า wild-type p53 (wt-p53) ทำหน้าที่สร้างโปรตีน p53 ที่ปกติซึ่งมีอายุสั้น (half-life 5 ถึง 20 นาที) เมื่อเปรียบเทียบกับโปรตีน p53 ที่ผิดปกติซึ่งมีอายุยืนยาวกว่ามาก (half-life 4 ถึง 20 ชั่วโมง) ในหนูทดลองที่ได้รับการกำจัดยีน P53 หนูสามารถเติบโตมีโครงสร้างปกติแต่เกิดมะเร็งตั้งแต่อายุยังน้อย พบว่าหนูที่เป็น heterozygous เกิดเป็นมะเร็งช้ากว่าและอัตราการเกิดเป็นมะเร็งน้อยกว่าหนูที่เป็น homozygous<sup>23</sup>

โปรตีน p53 มีการทำงานหลายอย่าง ดังต่อไปนี้ (แสดงดังรูปที่ 2.3)

2.3.1.1. กระตุ้นการสร้างโปรตีน p21<sup>waf-1/cip-1</sup> ซึ่งจะจับและหยุดยั้งการทำงานของสารประกอบ G1-cyclin/CDK และ proliferating cell nuclear antigen (PCNA) โดยปกติโปรตีน p53 ชนิด wide type จับกับบริเวณ promoter ของยีน p21 ซึ่งเป็น CDK inhibitor ชนิดหนึ่ง ทำหน้าที่ยับยั้งไม่ให้ cyclin จับกับ CDK ทำให้ไม่เกิดสารประกอบระหว่าง CDK และ cyclin ส่งผลให้โปรตีน RB ไม่ปลดปล่อย E2F ทำให้วัฏจักรเซลล์หยุดชะงักก่อนเข้าสู่ระยะ S ยีน p21 (p21<sup>waf1</sup>) สามารถยับยั้งการสังเคราะห์ดีเอ็นเอโดยไม่ผ่านกลไกของยีน p53 โดยจับกับ PCNA ซึ่งมีส่วนสำคัญในการสังเคราะห์ดีเอ็นเอ

2.3.1.2. กระตุ้น GADD45 (Growth Arrest and DNA Damage 45) และทำให้วัฏจักรเซลล์เกิดการหยุดชะงักที่ระยะ G1 กลไกการทำงานของ GADD45 ยังไม่เป็นที่ทราบกันในปัจจุบัน เชื่อว่ายีน P53 อาจยับยั้งการสังเคราะห์ดีเอ็นเอโดยเพิ่มการสร้าง GADD45 ซึ่งเป็นโปรตีนที่ทำลายดีเอ็นเอ นอกจากนี้ GADD45 อาจจับกับ PCNA และยับยั้งการสังเคราะห์ดีเอ็นเอ

2.3.1.3. จับกับ TATA-box binding protein (TBP) เป็นผลให้เกิดการหยุดยั้งการเกิด DNA replication

2.3.1.4. กระตุ้นการสร้างโปรตีน BAX และกดการสร้างโปรตีน BCL-2 ทำให้เกิด apoptosis ยีน P53 ชักนำให้เซลล์เกิด apoptosis เพื่อเป็นการตอบสนองต่อดีเอ็นเอที่ถูกทำลาย โดยอาศัยกลไกการเพิ่มปริมาณ BAX และลดปริมาณ BCL-2 ในเซลล์ปกติโปรตีน BCL-2 และ BAX ทำงานตรงข้ามกันอย่างสมดุล ถ้ายีนถูกทำลายเช่น จากรังสี ระดับของโปรตีน p53 จะเพิ่มขึ้นและจับกับ BAX promoter เพิ่มปริมาณของ BAX และผลักดันให้เซลล์เข้าสู่การเกิด apoptosis แสดงดังรูปที่ 2.4

2.3.1.5. กระตุ้นการสร้างโปรตีน mdm-2 ซึ่งทำหน้าที่ควบคุมโปรตีน p53 อีกทีหนึ่ง โดยโปรตีน mdm2 ที่สูงกว่าปกตินี้จะย้อนกลับมาจับกับโปรตีน p53 ทำให้โปรตีน p53 ไม่สามารถทำหน้าที่ตามปกติต่อไปได้ (negative feedback control) เชื่อว่าเมื่อยีนในร่างกายมนุษย์เกิดความผิดปกติจะ

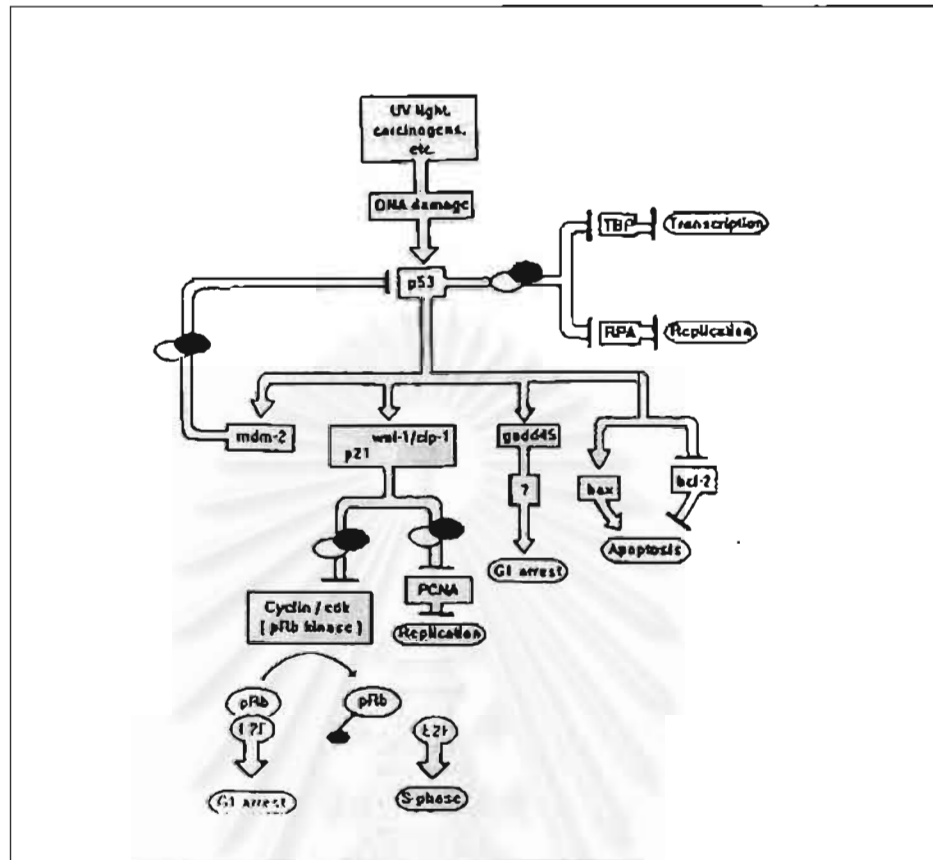
ได้รับการซ่อมแซมแก้ไขในขณะที่เซลล์ถูกหยุดไว้ที่ระยะ G1 เสร็จลงแล้ว โปรตีน mdm2 ที่สูงขึ้นก็จะหยุดการทำงานของโปรตีน p53 ทำให้เซลล์ดำเนินไปตามวัฏจักรของมันต่อไป

เฉพาะหน้าที่ในข้อ 5 เป็นการควบคุมโปรตีน p53 เอง ซึ่งจัดเป็น autoregulation loop ในขณะที่หน้าที่ในข้อ 1 ถึง 4 นั้นล้วนช่วยให้โปรตีน p53 ทำหน้าที่ควบคุมวัฏจักรของเซลล์ในระยะ G1/S โปรตีน p53 จึงได้รับการเรียกว่าเป็น genome guardian หรือ checkpoint control

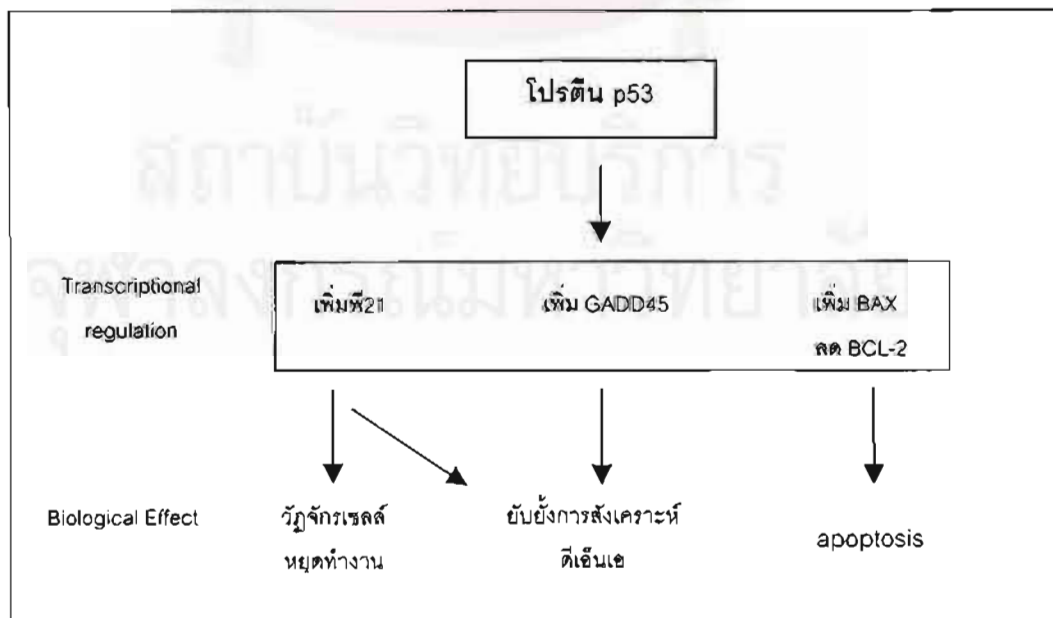
ในเซลล์ปกติการเกิด apoptosis อาจไม่จำเป็นต้องอาศัยยีน P53 (non-p53-dependent apoptosis) ดังนั้นการฟื้นคืนการทำงานของยีน P53 ชนิด wide type อาจทำให้เซลล์มะเร็งมีความไวต่อรังสีรักษาและยาเคมีบำบัดมากขึ้น

การเปลี่ยนแปลงของยีนที่พบได้บ่อยที่สุดในโรคมะเร็งคือการกลายพันธุ์ของยีน P53 โดยพบความผิดปกติที่ exon 5 ถึง 8 ได้บ่อยที่สุด (มากกว่าร้อยละ 90) ชนิดของการกลายพันธุ์ของยีน P53 ที่พบที่สุดคือชนิด point mutation ทำให้ยีน P53 สร้างโปรตีนที่ผิดปกติ เป็นสาเหตุให้สูญเสียการทำงานที่เป็นยีนต้านมะเร็งคือสูญเสียการทำงานที่ยับยั้งการเติบโตของเซลล์และการเกิด apoptosis โปรตีนที่ผลิตจากยีน P53 ที่กลายพันธุ์บางชนิดอาจมีคุณสมบัติเปลี่ยนไปโดยจับและยับยั้งการทำงานของโปรตีน p53 ชนิด wide type กลุ่มอาการ Li-Fraumeni cancer syndrome เป็นกลุ่มอาการที่มีสาเหตุมาจากการกลายพันธุ์ของยีน P53 ใน germline cell โดยถ่ายทอดทางพันธุกรรม มีผลให้เกิดมะเร็งหลายชนิด เช่น มะเร็งสมอง มะเร็งเต้านม มะเร็งเนื้อเยื่ออ่อน (sarcoma) มะเร็งเม็ดโลหิตขาว และบางชนิดของมะเร็งปอด ตั้งแต่อายุน้อย<sup>22</sup> ลักษณะการกลายพันธุ์ของยีน P53 ที่ถ่ายทอดทางพันธุกรรมได้แก่ การขาดหายไปของยีน (deletion) การกลายพันธุ์ชนิด point mutation และการแสดงออกของยีนมากเกินไป (overexpression)

รูปที่ 2.3 แผนภาพแสดงขั้นตอนการทำงานของยีน P53 ในวัฏจักรเซลล์<sup>19</sup>



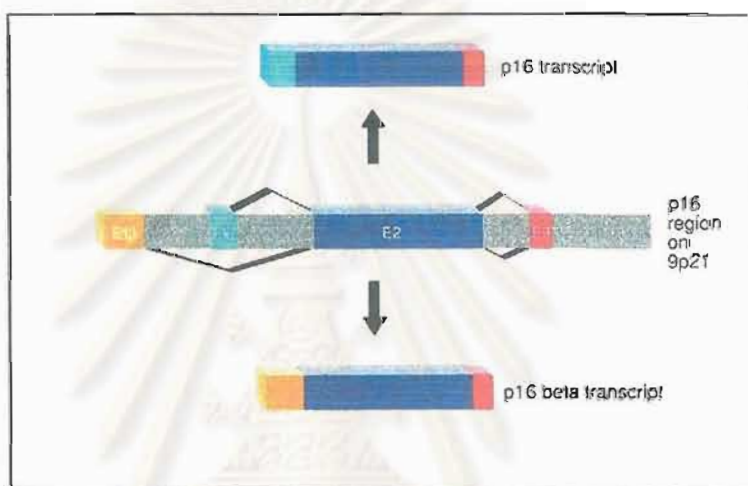
รูปที่ 2.4 แสดงการทำงานของโปรตีน p53<sup>23</sup>



### 2.3.2 ยีน P16<sup>24</sup>

p16 เป็นยีนต้านมะเร็งชนิดหนึ่งถูกค้นพบในปี พ.ศ. 2536 (ค.ศ. 1993) มีชื่อเรียกหลายชื่อได้แก่ major tumor suppressor 1 (MTS-1) หรือ inhibitor of cyclin-dependent kinase 4a (INK 4a) หรือ cyclin-dependent kinase inhibitor 2A (CDKN2A) มีตำแหน่งของยีนอยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 9p21 ซึ่งตำแหน่งนี้เป็นตำแหน่งที่พบความผิดปกติได้บ่อยในมะเร็งหลายชนิดที่เกิดกับมนุษย์ ยีน P16 ประกอบด้วย 3 exon แสดงดังรูปที่ 2.5 ซึ่งประกอบขึ้นด้วยกรดอะมิโน 156 ชนิด มีน้ำหนัก 15.8 kD<sup>24</sup>

รูปที่ 2.5 แสดงโครงสร้างของยีน P16<sup>24</sup>



ยีน P16 ผลิตโปรตีน p16 ซึ่งโปรตีนนี้ทำหน้าที่เป็นตัวยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ cyclin-dependent kinase (cyclin-dependent kinase inhibitor หรือ CDKI) ชนิดหนึ่ง โดยโปรตีน p16 จับกับ CDK4 หรือ CDK6 ซึ่งทำให้ cyclin จับกับ cyclin-dependent kinase (CDK) ไม่ได้ จึงไม่เกิดสารประกอบ cyclin-CDK ทำให้โปรตีน pRb ไม่ปลดปล่อย E2F (แสดงดังรูปที่ 2.6) ดังนั้นโปรตีน p16 จึงเป็นโปรตีนที่สำคัญชนิดหนึ่งในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์ในระยะ G1 (G1 phase หรือ pre-synthetic phase) ไม่ให้เซลล์เข้าสู่ระยะ S (S phase หรือ DNA synthetic phase)

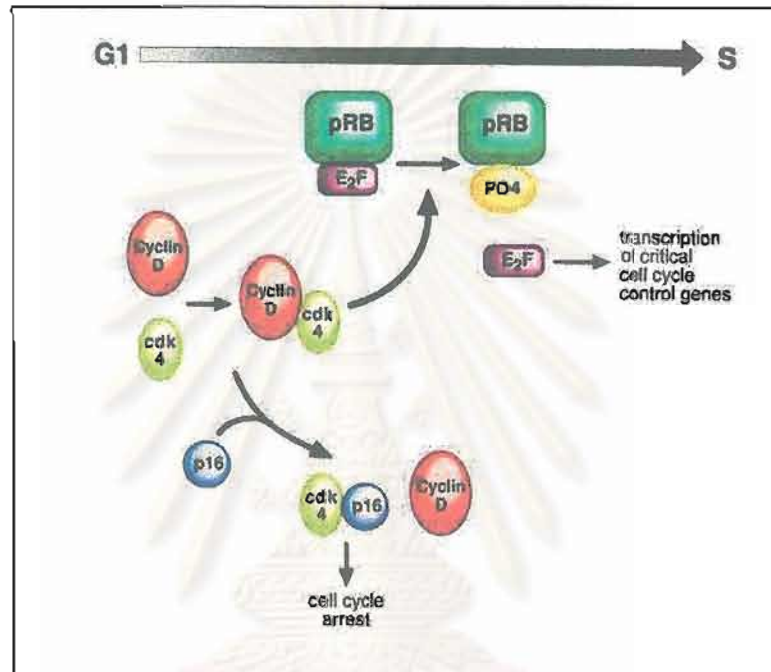
#### กลไกยับยั้งการทำงานของยีน P16

ในอดีตสันนิษฐานว่าการยับยั้งการทำงานของยีน P16 เกิดเฉพาะเมื่อเซลล์ในหลอดทดลองหรือเซลล์ในก้อนมะเร็งปฐมภูมิมีการแบ่งตัวอย่างรวดเร็วเพราะพบ homozygous deletion หรือการกลายพันธุ์ภายใน (intragenic mutation) ยีน P16 ได้น้อยในมะเร็งปฐมภูมิที่มี LOH ที่ตำแหน่ง 9p21 แต่ข้อสันนิษฐานนี้ล้าสมัยไปเมื่อมีการพบว่าการขาดหายไของยีน P16 ทั้งสองตำแหน่ง (p16 alleles) นั้นเป็นเพียงบริเวณเล็กที่มีความยาวน้อยกว่า 200 กิโลเบสโดยการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค microsatellite ซึ่งต่างไปจากยีนต้านมะเร็งชนิดอื่นที่ความผิดปกติของยีนเป็นชนิด point mutation ในขณะที่ยีน P16 มักเป็น



ชนิด small homozygous deletion ตัวอย่างของโรคมะเร็งที่มีความผิดปกติของยีน *P16* ชนิดนี้ได้แก่ มะเร็งกระเพาะปัสสาวะ มะเร็งต่อมลูกหมากชนิด adenocarcinoma มะเร็งรังไข่ชนิด adenocarcinoma มะเร็งไต มะเร็งเม็ดโลหิตขาวชนิด T-cell ALL มะเร็ง mesothelioma มะเร็งเนื้อเยื่ออ่อน และเนื้องอกในสมองชนิด glioma

รูปที่ 2.6 แสดงการทำงานของวัฏจักรเซลล์ในระยะ G1 ต่อไปยังระยะ S โดยการทำงานประสานกันระหว่าง cyclin-D CDK4 E2F โปรตีน p16 และโปรตีน pRB<sup>24</sup>



ยีน *P16* ให้กำเนิดสำเนาที่ได้รับชื่อว่ายีน *P16* เมต้า (*p16 $\beta$* ) ซึ่งประกอบด้วย exon 1 $\beta$  exon 2 และ exon 3 แสดงดังรูปที่ 2.5 ยีนนี้สร้างโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุล 13.8 กิโลดาลตันซึ่งโปรตีนชนิดนี้ไม่มีความสัมพันธ์กับโปรตีน p16 หลักฐานทางพันธุกรรมพบว่ายีนนี้มีความสำคัญน้อยเพราะจากการวิเคราะห์ก่อนมะเร็งปฐมภูมิจำนวน 50 ตัวอย่างที่มียีน *P16* พบว่าไม่พบว่ามี การเปลี่ยนแปลงของ exon1 $\beta$  เลย ทำให้เชื่อว่ายีน *P16 $\beta$*  ไม่ได้เป็นเป้าหมายแรกในการเกิดมะเร็ง แต่ยีนนี้กลับมีการขาดหายไปเมื่อเกิดความผิดปกติของยีน *P16* ด้วย จึงคาดคะเนว่าน่าจะเกิดทฤษฎี double-hit คือเมื่อเกิดการกลายพันธุ์แบบ silent หรือ missense ของยีน *P16* อาจมีผลอย่างรุนแรงต่อการอ่านรหัสของยีน *P16 $\beta$*  แต่จากการศึกษาก็ไม่ยืนยันทฤษฎีนี้เพราะได้มีการทดลองสอดใส่ยีน *P16* ที่เกิดการกลายพันธุ์แบบ point mutation ที่ exon 2 เพื่อหวังผลให้มีเกิดการเปลี่ยนแปลงในการถอดรหัสของยีน *P16 $\beta$*  เข้าไปในหลอดทดลอง ปรากฏว่าเซลล์ยังคงสามารถยับยั้งการทำงานของวัฏจักรเซลล์ได้ เมื่อไม่นานมานี้มีการศึกษาในเซลล์เนื้องอกชนิด glioma ที่เกิดขึ้นในมนุษย์พบว่าแม้ว่าจะมีการกลายพันธุ์ของยีน *P16 $\beta$*  ก็ตามก็จะไม่ส่งผลให้คุณสมบัติในการยับยั้งการทำงานของวัฏจักรเซลล์เสียไป แสดงให้เห็นว่าการเกิด

การกลายพันธุ์แบบ silent หรือ missense ใน exon2 ของยีน *P16* จะไม่มีผลต่อการทำงานของยีน *P16 $\beta$*  นอกเหนือจากการเกิด homozygous deletion และ point mutation แล้วอาจมี methylation ในบริเวณ promotor ของ *P16* เกิดขึ้น ซึ่งอาจเป็นเป้าหมายสำคัญในการเกิดมะเร็งของมนุษย์

การทำงานของยีน *P16*

เซลล์ที่อยู่ในระยะพักหรืออยู่ในระยะ G0 เมื่อเซลล์เข้าสู่วัฏจักรเซลล์จะมีการสังเคราะห์ cyclin D และ E ในระหว่างที่เซลล์อยู่ในระยะ G1 ทั้ง cyclin D และ E มีความสำคัญในการเข้าสู่ระยะ S ของเซลล์ cyclin D ซึ่งแบ่งได้เป็น cyclin D1 cyclin D2 และ cyclin D3 เมื่อรวมตัวกับ CDK4 หรือ CDK6 มีผลให้เกิดปฏิกิริยา phosphorylation และยับยั้งการทำงานของ pRB ทำให้ E2F ถูกปลดปล่อยเป็นอิสระ E2F เป็นกุญแจสำคัญที่เปิดให้เซลล์เข้าสู่ระยะ S ได้ (แสดงดังรูป 2.6) โปรตีน p16 พบครั้งแรกว่าเป็นตัวยับยั้ง cyclin-dependent kinase ชนิดหนึ่ง ยีน *P16* มีหน้าที่ในการสร้างโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุล 15,845 ดาลตัน โปรตีน p16 รวมตัวกับ CDK4 หรือ CDK6 เกิดเป็นสารประกอบที่ขาดคุณสมบัติการเป็นเอนไซม์ kinase มีผลขัดขวางการรวมตัวของ CDK4 และ CDK6 กับ cyclin D

หลักฐานทางชีวเคมีพบว่ายีน *P16* อาจเป็นตัวยับยั้งที่สำคัญในการทำงานของวัฏจักรเซลล์ และมีบทบาทเป็นยีนต้านมะเร็งชนิดหนึ่ง จากการศึกษาโดยการเติมยีน *P16* เข้าไปในเซลล์มะเร็งของมนุษย์หลายชนิดโดยไม่คำนึงถึงว่าเซลล์นั้นจะมีหรือไม่มีคุณสมบัติของยีน *P16* พบว่าสามารถชักนำให้เซลล์มะเร็งหยุดการแบ่งตัวได้ในระยะ G1/S การทำงานของยีน *P16* ขึ้นกับยีน pRB โดยพบว่าถ้าเซลล์ไม่มีการทำงานของยีน pRB แม้ว่าจะเติมยีน *P16* เข้าไปในเซลล์ก็ไม่สามารถยับยั้งการเติบโตของเซลล์ได้

ยีน *p16 $\beta$*  เป็นยีนที่คล้ายกับเป็นสำเนาของยีน *P16* โดยมีส่วนประกอบเป็น E1 $\beta$  และ E2 ซึ่งเป็นส่วนประกอบหนึ่งของยีน *P16* ในมนุษย์พบว่ายีน *P16* เบต้าผลิตโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุล 13.8 กิโลดาลตัน ซึ่งโปรตีนอาจมีบทบาทในการยับยั้งการเติบโตของเซลล์ เมื่อสอดใส่ยีนนี้เข้าไปในเซลล์มะเร็งศีรษะและคอชนิด squamous cell carcinoma และเซลล์ HeLa พบว่าสามารถยับยั้งการเติบโตของเซลล์มะเร็งและมีสัดส่วนของเซลล์มะเร็งเพิ่มขึ้นในระยะ G1 แสดงว่าเซลล์หยุดการเติบโตในระยะ G0/G1 ต่อมาเมื่อมีการพบ polyclonal antibody ต่อยีน *p16 $\beta$*  ทำให้ยืนยันแน่ชัดว่าวัฏจักรเซลล์หยุดการทำงานเนื่องจากยีนชนิดนี้ผลิตโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุล 15.8 กิโลดาลตันไปยับยั้งการเติบโตของเซลล์ นอกจากนี้ยังพบว่าในเซลล์ที่ขาดการทำงานของ pRB ยีน *p16 $\beta$*  สามารถทำงานยับยั้งการเติบโตของเซลล์ได้ ดังนั้นการทำงานของยีน *p16 $\beta$*  จึงเป็นอิสระไม่ขึ้นกับยีน *p16* และ pRB ข้อมูลในปัจจุบันนี้ดูเหมือนว่ายีน *p16 $\beta$*  ทำหน้าที่เป็นยีนต้านมะเร็งชนิดหนึ่ง โดยมีวิถีทางขนานไปกับวิถีทางของยีน *p16* อาจเป็นไปได้ว่ายีน *p16 $\beta$*  ทำหน้าที่เป็นตัวยับยั้งการเติบโตของเซลล์อีกชนิดหนึ่ง

วิถีทางของยีน *p16 cyclin D1* และโปรตีน RB (*p16/cyclin D1/pRB pathway*)

วิถีทางของยีน *p16 cyclin D1* และโปรตีน pRB มีบทบาทสำคัญในการเกิดมะเร็งในมนุษย์หลายชนิด จากหลักฐานทางพันธุกรรมพบว่ายีน *p16 CDK4 CDK6 cyclin D1* และโปรตีน pRB มีส่วนเกี่ยวข้องในการเกิดมะเร็ง ยีน *pRB* เป็นยีนควบคุมการเกิดมะเร็งชนิด retinoblastoma และมะเร็งปอดชนิดเซลล์เล็ก (small cell lung cancer) *cyclin D1* บนโครโมโซมคู่ที่ 11q13 มีการเพิ่มจำนวนและการแสดงออกในมะเร็งหลายชนิดเช่น มะเร็งศีรษะและคอ มะเร็งกระเพาะปัสสาวะ มะเร็งปอดชนิดเซลล์เล็ก มะเร็งหลอดอาหาร มะเร็งเต้านมและมะเร็งตับชนิดเฮปาโตเซลล์ลูคาร์ซิโนมา *cyclin D1* ก็มีส่วนในการเกิดมะเร็ง จากข้อมูลในหนูทดลองที่ดัดแปลงพันธุกรรมให้มีการแสดงออกของ *cyclin D1* อย่างมาก พบว่าเกิดการเพิ่มจำนวนของเซลล์บุท่อน้ำนมและมะเร็งเต้านม ในทางตรงข้ามถ้ากำจัด *cyclin D1* ในหนูทดลองพบว่าการเติบโตของเต้านมผิดปกติไป การเพิ่มจำนวนของ CDK4 และ CDK6 อาจมีบทบาทสำคัญในการเกิดมะเร็งก็เป็นได้ CDK4 อยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 12q13 จากหลักฐานที่พบว่าเมื่อมีการกลายพันธุ์ทำให้เกิดมะเร็งชนิด glioma ที่มีการถ่ายทอดทางพันธุกรรมได้และมีการเพิ่มจำนวนของ CDK4 ในมะเร็งชนิด sarcoma และ glioma ทำให้เชื่อว่า CDK4 อาจมีบทบาทในการเกิดมะเร็ง

ยีน *P16* เป็นยีนที่มีบทบาทสำคัญในการยับยั้งการเกิดมะเร็ง การสูญเสียของยีน *P16* หรือโปรตีน RB มีผลให้ไม่สามารถควบคุมการแบ่งตัวของเซลล์ได้ ในทางตรงข้ามการเพิ่มจำนวนของ *cyclin D1* หรือ CDK ทำให้มีการกระตุ้นการทำงานของ pRB และยับยั้งการทำงานของยีน *P16* บางทีวิถีทางของยีน *P16 cyclin D1* และโปรตีน pRB อาจเทียบเท่าวิถีทางของยีน *P53* ในมะเร็ง ในมะเร็งของทางเดินอาหารและทางเดินหายใจเช่น มะเร็งปอด มะเร็งหลอดอาหาร มะเร็งศีรษะและคอ พบว่าเกือบร้อยละ 100 ที่ก้อนมะเร็งปฐมภูมิมีความผิดปกติไม่สมบูรณ์ใดก็ส่วนหนึ่งของวิถีทางของยีน *P16 cyclin D1* และโปรตีน pRB ในเซลล์ปรกตินั้นความสัมพันธ์ระหว่าง pRB และยีน *P53* พบว่าถ้าเซลล์ถูกขวางกั้นในส่วนใดส่วนหนึ่งของวิถีทางของยีน *p16 cyclin D1* และโปรตีน pRB มีผลให้เซลล์หยุดการเติบโตแล้วชักนำให้เกิดการตายของเซลล์โดยผ่านทางกลไกของยีน *P53* แต่ถ้าเซลล์ขาดการทำงานของยีน *P53* พบว่าเซลล์ไม่สามารถควบคุมการเติบโตของเซลล์ต่อไปได้

บทบาททางชีววิทยาของยีน *P16*

แบบจำลองการเติบโตของเซลล์มะเร็งมีประโยชน์ในการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการเปลี่ยนแปลงของยีนและพยาธิวิทยาของการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง จากการศึกษาเบื้องต้นของแบบจำลองการเติบโตของเซลล์มะเร็งของศีรษะและคอ และมะเร็งกระเพาะปัสสาวะพบว่าการสูญเสียของโครโมโซมคู่ที่ 9p21 ตั้งแต่เริ่มแรกของการเกิดมะเร็ง นอกจากนี้ยังพบได้บ่อยว่ารอยโรคก่อนเกิดมะเร็ง (pre-malignant lesions) ก็มีการสูญเสียการทำงานของยีน *P16* ด้วย ดังนั้นถ้ายีน *P16* ทำหน้าที่เป็นยีนต้านมะเร็งเสียการทำงานไปจะมีผลให้เกิดเซลล์มะเร็งตามมา ยีน *P16* จึงอาจมีบทบาทเป็นยามเฝ้าประตู (gate keeper) เพื่อป้องกันการเกิดเซลล์มะเร็งเช่นเดียวกับยีน adenomatous polyposis coli ซึ่ง



เป็นยีนต้านมะเร็งชนิดหนึ่งเมื่อเกิดการสูญเสียการทำงานร่วมกับมีการกระตุ้นยีนก่อมะเร็ง (oncogene) ก็จะทำให้เกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่ แต่ความเป็นจริงแล้วปัจจุบันนี้ความเข้าใจในการทำงานของยีน P16 ยังไม่เป็นที่เข้าใจอย่างชัดเจน จากการศึกษาเซลล์มะเร็งในหลอดทดลองทำให้เชื่อว่ายีน P16 อาจเป็นส่วนหนึ่งในการควบคุมการทำงานของเซลล์ การเพาะเลี้ยงเซลล์ fibroblast ของมนุษย์ในหลอดทดลองพบว่าเมื่อเซลล์แบ่งตัวเพิ่มจำนวนสักระยะหนึ่งเซลล์จะหยุดการเติบโต ตรวจพบว่าระดับอาร์เอ็นเอและโปรตีนของยีน P16 และระดับ cyclin D1 สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ในเซลล์มะเร็งเมื่อมีการสูญเสียการทำงานของยีน P16 อาจนำไปสู่การเป็นอมตะของเซลล์ (immortalization) ซึ่งมีข้อมูลยืนยันจากการเพาะเลี้ยงเซลล์มะเร็งของระบบทางเดินปัสสาวะมนุษย์พบว่าเมื่อเซลล์หยุดแบ่งตัวจะมีระดับโปรตีน p16 สูงขึ้น แต่เมื่อเซลล์สูญเสียการทำงานของยีน P16 เซลล์เหล่านี้จะเป็นอมตะและมีการแบ่งเซลล์ต่อไปเรื่อย ๆ จากการศึกษาเซลล์สืบพันธุ์ของหนูทดลองก็ให้ผลเช่นเดียวกัน เมื่อกำจัดยีน p16 ในเซลล์สืบพันธุ์ของหนูทดลองพบว่าหนูสามารถเจริญเติบโตโดยปกติและไม่มี ความพิการ ทำให้ยืนยันว่ายีน p16 ไม่มีความจำเป็นในการเติบโตและการพัฒนาของอวัยวะของหนูทดลอง แต่เมื่อเลี้ยงหนูต่อมาพบว่าหนูเหล่านี้เกิดมะเร็งตั้งแต่อายุน้อยและมีความไวสูงในการเกิดมะเร็งเมื่อได้รับสารก่อมะเร็งเช่น dimethylbenz[ $\alpha$ ]anthracene (DMBA) หรือแสงอุลตราไวโอเลตชนิดบี

ทำไมมะเร็งหลายชนิดจึงสูญเสียการทำงานของยีน P16 ข้อมูลปัจจุบันนี้สนับสนุนบทบาทของยีน P16 ในการชะลอการทำงานของวัฏจักรเซลล์ ภายหลังจากเกิดมะเร็งแล้วอาจมีปัจจัยบางอย่างเป็นตัวกระตุ้นให้มีการแสดงออกของยีน P16 และโปรตีน p16 เริ่มมีการสะสมภายในเซลล์แต่ก็ยังไม่ทราบว่ามีปัจจัยนี้คืออะไร สันนิษฐานว่าการทำงานของยีน P16 เริ่มต้นจากมีปัจจัยที่ทำอันตรายต่อดีเอ็นเอไม่รุนแรงเช่น การสัมผัสสารก่อมะเร็ง หรือการได้รับแสงอุลตราไวโอเลตชนิดบี แล้วมีการทำงานของโปรตีน p16 ทำให้เซลล์หยุดการเติบโตในระยะ G1 เพื่อซ่อมแซมความผิดปกติของดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นหรือถ้าความเสียหายที่เกิดขึ้นต่อดีเอ็นเอมีมากก็อาจชักนำให้เซลล์ตายไป (apoptosis) การทำงานของยีน P53 มีความแตกต่างจากยีน P16 ตรงที่ยีน P53 ตอบสนองต่ออันตรายที่เกิดขึ้นกับดีเอ็นเออย่างรุนแรง จากข้อมูลทางระบาดวิทยาพบว่ามะเร็งที่สูญเสียการทำงานของยีน P16 มักเป็นมะเร็งที่เกิดขึ้นจากการสัมผัสสารก่อมะเร็งยาวนานเช่น มะเร็งปอด มะเร็งหลอดอาหาร มะเร็งศีรษะและคอ มะเร็งตับอ่อน และมะเร็งกระเพาะปัสสาวะ ดังนั้นมะเร็งเกิดขึ้นเมื่อเซลล์ไม่สามารถหยุดยั้งการเจริญเติบโตและแบ่งเซลล์ได้

จากข้อมูลต่าง ๆ ได้แสดงให้เห็นว่ายีน P16 เป็นยีนต้านมะเร็งชนิดหนึ่งที่มีบทบาทในมะเร็งหลายชนิด คำถามสำคัญที่ยังไม่มีคำตอบในขณะนี้คือการสูญเสียการทำงานของยีน P16 เกี่ยวข้องกับการเกิดรอยโรคก่อนมะเร็ง (pre-malignant lesion) หรือไม่ และมีปัจจัยอะไรที่ควบคุมการแสดงออกและควบคุมการทำงานของยีน P16 นอกจากนี้ยีน P16 $\beta$  มีบทบาทในการเกิดมะเร็งหรือไม่ ในอนาคตถ้ามนุษย์ทราบการทำงานของยีน P16 นี้มากขึ้นก็อาจเป็นไปได้ว่ามนุษย์อาจมีวิธีการรักษามะเร็งด้วยวิธีใหม่เพิ่มขึ้น



ความผิดปกติของยีน *P16* ที่พบในโรคมะเร็งชนิดต่าง ๆ

การสูญเสียการทำงานของยีน *P16* อาจนำไปสู่การเกิดมะเร็งเนื่องมาจากไม่สามารถควบคุมการเพิ่มจำนวนของเซลล์ที่ผิดปกติได้ ปัจจุบันพบความผิดปกติของยีน *p16* และโปรตีน *p16* ในมะเร็งที่เกิดในมนุษย์หลายชนิด ความผิดปกติของยีน *P16* ที่พบได้แก่ homozygous deletion, point mutation และ methylation อุบัติการณ์ของความผิดปกติของยีน *P16* ที่พบในมะเร็งชนิดต่าง ๆ แสดงดังตารางที่ 2.1 ความผิดปกติของยีน *P16* ที่พบในมะเร็งตับชนิด HCC มีรายละเอียดดังตารางที่ 2.2 อุบัติการณ์ของความผิดปกติของโปรตีน *p16* มีสองการศึกษาที่ทำในประเทศญี่ปุ่นและเกาหลีใต้ได้แก่ Hui AM และคณะทำการศึกษาในประเทศญี่ปุ่นโดยทำการตรวจหาโปรตีน *p16* ในก้อนมะเร็งจากตับจำนวน 32 ก้อน ผลการศึกษาไม่พบโปรตีน *p16* เป็นจำนวน 11 ก้อนหรือคิดเป็นร้อยละ 34<sup>25</sup> และจากการศึกษาของ Piao Z และคณะทำการศึกษาในประเทศเกาหลีใต้ โดยทำการตรวจหาโปรตีน *p16* ในก้อนมะเร็งจากตับจำนวน 9 ตัวอย่าง ผลการศึกษาไม่พบโปรตีน *p16* เป็นจำนวน 5 ตัวอย่าง (ร้อยละ 55.6)<sup>31</sup>

ความผิดปกติของยีน *P16* นั้นมีรายงานจากการศึกษาในโรคมะเร็งหลายชนิดในมนุษย์ แต่รายงานการศึกษาความผิดปกติของยีน *P16* และการตรวจไม่พบโปรตีน *p16* ร่วมกับความสัมพันธ์ทางคลินิกหรือพยากรณ์โรคมะเร็งยังมีไม่มากนัก ตัวอย่างของการศึกษาเหล่านี้ได้แก่ในโรคมะเร็งปอดชนิดที่ไม่ใช่เซลล์เล็ก (NSCLC) พบว่าผู้ป่วยที่ตรวจไม่พบโปรตีน *p16* ในก้อนมะเร็งในปอดมักมีอัตราการมีชีวิตสั้นกว่า<sup>26,27</sup> ในมะเร็งเต้านมและมะเร็งหลอดอาหาร(ชนิด Squamous cell carcinoma) พบว่าโอกาสที่จะมีการกระจายไปยังต่อมน้ำเหลืองมากกว่าในกลุ่มที่ไม่พบโปรตีน *p16* ในก้อนมะเร็ง<sup>28,29</sup> มะเร็งบริเวณศีรษะและคอพบว่าการแพร่กระจายและการกลับเป็นซ้ำสูงกว่าเช่นเดียวกัน<sup>25</sup> ส่วนการศึกษาโปรตีน *p16* ในมะเร็งตับชนิด HCC ยังไม่มีรายงานการศึกษาถึงความสัมพันธ์ทางคลินิก

การตรวจหาความผิดปกติของยีน *P16* ใช้วิธีการตรวจเช่นเดียวกับการตรวจหาความผิดปกติในยีนโดยทั่วไป เทคนิคที่มีที่ใช้ ได้แก่ Southern blott, Fluorescence in situ hybridization (FISH), Allele-specific oligonucleotide (ASO) เป็นต้น<sup>34</sup> Gazeri S และคณะ<sup>35</sup> ตรวจหาความผิดปกติของยีน *P16* และโปรตีน *p16* ในผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดไม่ใช่เซลล์เล็ก (NSCLC) การตรวจหาความผิดปกติของยีน *P16* ใช้วิธี PCR พบว่ามีความผิดปกติของยีน *P16* แบบ mutation จำนวน 3 ราย (ร้อยละ 14), methylation 7 ราย (ร้อยละ 33) และ homozygous deletion 10 ราย (ร้อยละ 48) ส่วนการตรวจโปรตีน *p16* ใช้การย้อมด้วยวิธี immunohistochemistry พบว่าการย้อมโปรตีน *p16* ให้ผลลบจำนวน 21 รายใน 43 ราย (ร้อยละ 49) ร้อยละ 95 ของผู้ป่วยที่ให้ผลลบจากการย้อมโปรตีน *p16* จะมีความผิดปกติของยีน *P16* อย่างใดอย่างหนึ่งในสามแบบข้างต้น จากการศึกษาชี้แสดงถึงความสามารถในการใช้การตรวจโปรตีน *p16* ด้วยวิธี immunohistochemistry ตรวจหาความผิดปกติของยีน *P16* ได้รวดเร็ววิธีหนึ่ง

ตารางที่ 2.1 แสดงร้อยละของชนิดความผิดปกติของยีน P16 ที่พบในโรคมะเร็งชนิดต่าง ๆ <sup>24</sup>

ชนิดของมะเร็ง	Homozygous deletion		Mutation		Methylation		รวม
	ร้อยละ	พิสัย	ร้อยละ	พิสัย	ร้อยละ	พิสัย	
Glioma	60	33-85	< 5	0-14	24	-	85
ศีรษะและคอ	50	25-66	10	5-11	20	-	80
หลอดอาหาร	20	0-16	30	2-52	20	-	70
ตับอ่อน	30	10-37	30	15-40	-	-	60
กระเพาะปัสสาวะ	45	10-45	< 5	0-2	< 5	3-67	55
Mesothelioma	50	21-70	< 5	-	-	-	55
ALL, T-cell	50	11-70	< 5	0-5	-	-	55
เต้านม	10	-	-	-	30	-	40
NSCLC	20	7-20	15	0-29	-	-	35
ลำไส้ใหญ่	0	0	-	-	30	-	30
ไผ่ดำ	25	5-25	< 5	0-4	-	-	30
รังไข่	10	3-14	< 5	0-3	10	0-18	25
ต่อมลูกหมาก	20	-	-	-	-	-	20
ไต	15	-	-	-	-	-	15
Pituitary	15	-	0	-	-	-	15
เนื้อเยื่ออ่อน	10	8-25	< 5	0-2	-	-	10
กระเพาะอาหาร	10	5/55	0	-	-	-	10
SCLC	5	-	-	-	-	-	5

NSCLC = non-small cell lung cancer  
SCLC = small cell lung cancer  
ALL = acute lymphoblastic leukemia

ตารางที่ 2.2 แสดงความผิดปกติของยีน P16 ที่พบในมะเร็งตับชนิด HCC

ผู้ศึกษา	จำนวนตัวอย่าง ก้อนมะเร็งที่ตัดที่ศึกษา	รูปแบบความผิดปกติของยีน P16		ความผิดปกติของ โปรตีน p16
		HD (ร้อยละ)	Mutation (ร้อยละ)	
Hui AM และคณะ <sup>28</sup>	32	0/32 ( 0.0)	0/32 ( 0.0)	11/32 (34.0)
Piao Z และคณะ <sup>31</sup>	41	25/41 (61.0)	0/41 ( 0.0)	5/9 (55.6)
Sheu JC <sup>32</sup>	34	1/34 ( 3.0)	0/34 ( 0.0)	-
Kita R และคณะ <sup>33</sup>	62	0/62 ( 0.0)	3/62 ( 4.8)	-

HD = Homozygous deletion

## 2.4 อณูชีววิทยาของมะเร็งระดับชนิด HCC

การเกิดโรคมะเร็งระดับชนิด HCC มีขั้นตอนในการเกิดโรคหลายขั้นตอนและจากสาเหตุต่าง ๆ หลายประการ เชื่อว่าเริ่มจากความผิดปกติที่เกิดขึ้นกับสายดีเอ็นเอของเซลล์ตับ การกระตุ้นยีนก่อมะเร็งเป็นกลไกในการเกิดมะเร็งที่พบได้น้อยมากในมะเร็งระดับชนิด HCC<sup>36</sup> ในขณะที่มีรายงานการกลายพันธุ์ที่เกิดขึ้นกับยีนต้านมะเร็งซึ่งพบบ่อยกว่าเช่น ยีน *P53* และ *Rb* หรือการเกิด LOH ของโครโมโซมคู่ที่ 4q 8p 13q 16q และ 17p<sup>25</sup>

### บทบาทของสาร Aflatoxin

สาร aflatoxin B1 ซึ่งเชื่อว่าเป็นสารก่อมะเร็งชนิดหนึ่งในมะเร็งตับ ผลิตจากเชื้อรา *Aspergillus* ซึ่งพบเชื้อราชนิดนี้และสาร aflatoxin ในเมล็ดพืชหลายชนิดที่เก็บไว้ในสถานที่ที่ร้อนและชื้นเป็นเวลานาน เมื่อมนุษย์บริโภคสาร aflatoxin ที่ปนเปื้อนอยู่ในอาหารเข้าไป ตับจะเปลี่ยนแปลงสาร aflatoxin ให้กลายเป็นสารก่อมะเร็งซึ่งมีประจวบกับไปจับกับสายดีเอ็นเอที่มีประจุลบส่งผลให้เกิดการกลายพันธุ์ของสายดีเอ็นเอ โดยตำแหน่งที่พบบ่อยคือที่ codon 249 ของยีน *P53* ทำให้การทำงานของยีน *P53* ซึ่งเป็นยีนต้านมะเร็งชนิดหนึ่งเสียการทำงานไป ทำให้เซลล์เกิดการเปลี่ยนแปลงไปและถ้ามีปัจจัยที่สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตและการแบ่งตัวของเซลล์ ทำให้เซลล์ที่มีการกลายพันธุ์เกิดการเจริญเติบโตและแบ่งเซลล์เพิ่มจำนวนผิดปกติแล้วกลายเป็นเซลล์มะเร็งในที่สุด

### บทบาทของไวรัสตับอักเสบบีและซี

เป็นที่ทราบกันเป็นอย่างดีแล้วว่าการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเป็นปัจจัยที่สำคัญในการเกิดมะเร็งระดับชนิด HCC สำหรับไวรัสตับอักเสบบีจะเป็นปัจจัยสำคัญในการเกิดมะเร็งตับในพื้นที่ที่พบว่ามีความชุกของการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีต่ำ กลไกของไวรัสตับอักเสบบีและซีในการก่อมะเร็งยังไม่ทราบชัดเจน แต่พบว่ากลไกการเกิดมะเร็งตับของไวรัสทั้งสองชนิดมีความแตกต่างกันคือ ไวรัสตับอักเสบบีสอดแทรกสายดีเอ็นเอของมันเข้าไปในดีเอ็นเอเซลล์ตับของมนุษย์อย่างไม่จำเพาะเจาะจง มีผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของดีเอ็นเอของเซลล์ตับมนุษย์ ในขณะที่ไวรัสตับอักเสบบีไม่มีการรวมของยีนเกิดขึ้น เมื่อไวรัสเข้าสู่เซลล์จะก่อให้เกิดการทำลายเซลล์ตับแล้วมีการซ่อมแซมตามมาหลาย ๆ ครั้งซึ่งอาจเกิดการกลายพันธุ์ขึ้นทำให้เกิดมะเร็งตับตามมา

### การกลายพันธุ์ของยีน *P53* ในมะเร็งระดับชนิด HCC

การเกิดมะเร็งได้นั้นต้องมีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นหลายขั้นตอนและการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นเกี่ยวข้องกับยีนหลายชนิด ยีน *P53* ซึ่งเป็นยีนต้านมะเร็งที่มีความสำคัญชนิดหนึ่งและได้รับการศึกษาเป็นอย่างมาก การกลายพันธุ์ของยีนชนิดนี้พบได้ในมะเร็งหลายชนิด ตำแหน่งของการกลายพันธุ์สามารถเกิดได้ที่ตำแหน่งต่าง ๆ ของยีนนี้แต่แนวโน้มมักจะเกิดที่ exon 5 ถึง 8 เกือบร้อยละ 50 ของมะเร็งระดับชนิด

HCC ที่พบในประเทศจีนและแอฟริกาใต้ซึ่งมีการปนเปื้อนของสาร aflatoxin B1 พบว่ามีตำแหน่งที่เกิดการกลายพันธุ์ที่ codon 249 ของยีน P53 โดยมีการเปลี่ยนแปลงเบสจาก G ไปเป็น T จากการศึกษาในประเทศไต้หวันโดย Sheu JC <sup>32</sup> ก็ให้ผลเช่นเดียวกันคือพบว่ามีกรกลายพันธุ์ของยีน P53 ร้อยละ 36.6 (15 ใน 41 ราย) ในผู้ป่วยที่ให้ผลลบต่อการตรวจ HBsAg และร้อยละ 25.0 (5 ใน 20 ราย) ในผู้ป่วยที่ให้ผลลบต่อการตรวจ HBsAg ในขณะที่เซลล์ตับปกติไม่มีการกลายพันธุ์เกิดขึ้น การกลายพันธุ์เกิดเป็นบริเวณกว้างของ exon 5 ถึง 8 มีผู้ป่วยเพียง 4 รายในกลุ่มผู้ป่วยที่มีผลลบต่อการตรวจ HBsAg (ร้อยละ 6.6) ที่พบการกลายพันธุ์เกิดขึ้นที่บริเวณ codon 249 โดยมีการเปลี่ยนแปลงของเบสจาก G ไปเป็น T

#### การเปลี่ยนแปลงของยีน P16

การศึกษาจากประเทศไต้หวันโดย Sheu JC <sup>32</sup> ในก้อนมะเร็งตับชนิด HCC จำนวน 34 ตัวอย่างจากผู้ป่วย 30 ราย โดยใช้เทคนิคการตรวจ automated fluorescence-based DNA sequencing analysis เพื่อตรวจ exon 1 และ 2 ของยีน P16 พบว่ามี homozygous deletion ของยีน P16 ที่ exon 1 เพียง 1 ใน 34 ก้อนมะเร็ง (ร้อยละ 3) และไม่พบการกลายพันธุ์ชนิดอื่นของยีน P16 เลย ซึ่งข้อมูลนี้มีความแตกต่างออกไป ทำให้สรุปว่ายีน P16 มีบทบาทน้อยในมะเร็งตับชนิด HCC ของผู้ป่วยในประเทศไต้หวัน

#### การศึกษา clonality ของมะเร็งตับ

จากการตรวจคัดกรองเพื่อหามะเร็งตับในผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีและซีที่ไม่ปรากฏอาการพบว่ามีผู้ป่วยบางรายที่เกิดก้อนมะเร็งขนาดเล็กหลายก้อนในตับตั้งแต่แรกวินิจฉัย ทำให้เกิดปัญหาว่าก้อนมะเร็งที่เกิดขึ้นมาจากเซลล์ต้นกำเนิดเดียวกันหรือไม่ จากการศึกษาในไต้หวันโดย Sheu JC โดยการวิเคราะห์ดีเอ็นเอของเซลล์มะเร็งจากผู้ป่วยจำนวน 18 รายที่มีก้อนมะเร็งขนาดเล็กและหลายก้อนในตับ <sup>32</sup> พบว่าผู้ป่วยจำนวน 8 ใน 9 รายที่มีผลลบต่อการตรวจ HBsAg เซลล์มะเร็งกำเนิดมาจากเซลล์ตั้งต้นคนละชนิดกัน ผู้ป่วยจำนวน 9 รายที่มีผลลบต่อการตรวจ HBsAg มีเซลล์ต้นกำเนิดมาจากเซลล์ต่างชนิดกันจำนวน 4 ราย สรุปได้ว่าผู้ป่วยที่มีก้อนมะเร็งตับขนาดเล็กหลายก้อนนั้นเซลล์มะเร็งมีต้นกำเนิดมาจากเซลล์ตั้งต้นต่างชนิดกัน

#### การกลายพันธุ์ชนิด loss of heterozygosity ในมะเร็งตับ

การศึกษากการกลายพันธุ์ชนิด loss of heterozygosity (LOH) ที่เกิดขึ้นในยีนโดยใช้วิธี restriction fragment length polymorphism (RFLP) เป็นวิธีที่ใช้ดีเอ็นเอจำนวนมากจากตัวอย่างที่ตรวจด้วยวิธี microsatellite ซึ่งอาศัยเทคนิค PCR ในการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอที่ต้องการศึกษาทำให้ต้องการปริมาณดีเอ็นเอจากตัวอย่างที่ศึกษาน้อยและตรวจดีเอ็นเอได้ในเวลารวดเร็ว มีผลให้การศึกษา LOH ทำได้ง่ายขึ้น Sheu JC <sup>32</sup> ศึกษา LOH ในมะเร็งตับด้วยวิธี microsatellite ในก้อนมะเร็งตับจำนวน 34 ก้อนจากผู้ป่วย 30 รายซึ่งก้อนมะเร็งที่ตรวจส่วนใหญ่มีขนาดเล็ก ใช้ microsatellite markers จำนวน 232

primer ตรวจโครโมโซมคู่ที่ 1 ถึง 22 และโครโมโซม X ค่าเฉลี่ยของ microsatellite markers ที่ทำการตรวจในแต่ละโครโมโซมเท่ากับ 10 (พิสัย 6 ถึง 24) พบ LOH ในมะเร็งตับตั้งแต่วัยละ 0 ถึง 47.1 โดย LOH ที่พบบ่อยมากกว่าร้อยละ 14 แสดงดังตารางที่ 2.3 บริเวณที่พบ LOH บ่อยคือ 16q12.1-12.2 16q24.1 13q12.1-12.2 17p13 11p15 และ 11q23-24 ผู้ป่วยจำนวน 18 รายจาก 30 รายพบว่ามี LOH เกิดที่โครโมโซมแตกต่างกัน ผู้ป่วยจำนวน 2 รายที่มีก้อนมะเร็งในตับหลายก้อนและขนาดของก้อนน้อยกว่า 3 เซนติเมตรพบ LOH ที่ตำแหน่งแตกต่างกันไป แสดงว่าก้อนมะเร็งมีต้นกำเนิดแตกต่างกัน

ตารางที่ 2.3 แสดงตำแหน่งที่พบ LOH มากกว่าร้อยละ 14 ในมะเร็งตับชนิด HCC

ตำแหน่ง LOH	จำนวนที่พบ (ร้อยละ)
16q	41.2
13q	32.4
17p	32.4
5q	26.5
11p	23.5
9p	20.6
4q	17.6
8q	17.6
11q	14.7
14q	14.7

## 2.5 ระบาดวิทยาของโรคมะเร็งตับชนิด HCC

มะเร็งตับชนิด HCC พบมากในแถบเอเชียและแอฟริกาเนื่องจากมีพาหะของโรคไวรัสตับอักเสบบีมากและสารพิษจากเชื้อราที่ปนเปื้อนในอาหารและน้ำดื่ม เชื้อชาติก็เป็นปัจจัยที่สำคัญในการเกิดโรคนี้โดยมีข้อมูลจากชาวฮิว, ญี่ปุ่นและจีนที่อพยพเข้าอาศัยในสหรัฐอเมริกาเมื่อตราการเป็นโรคมะเร็งตับสูงกว่าคนสหรัฐอเมริกา

ในประเทศไทยมะเร็งตับชนิด HCC (hepatocellular carcinoma หรือ HCC) เป็นโรคมะเร็งที่พบบ่อยเป็นอันดับหนึ่งในผู้ชายและพบเป็นอันดับสองในผู้หญิง โดยมีอุบัติการณ์โดยรวมประมาณ 40.5 คนต่อแสนต่อปี ในผู้ชายไทยมีอัตรา 6.8 ต่อแสนคนปี<sup>37</sup> ปัจจัยเสี่ยงในการเกิดมะเร็งชนิดนี้ได้แก่ ตับแข็ง ตับอักเสบเรื้อรังจากการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบนิตบีและซี ในประเทศไทยพบว่าผู้ป่วยมะเร็งตับชนิด HCC มีการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบนิตบีร่วมด้วยร้อยละ 80 ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบนิตซีร้อยละ 10 ส่วน

ที่เหลืออีกร้อยละ 10 เป็นผู้ป่วยตับแข็งและติดเชื้อไวรัสทั้งสองชนิด ผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบนชนิดบีและซีแบบเรื้อรังคือมีการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบรวมกับมีการเพิ่มขึ้นของระดับ SGOT และ SGPT ในเลือดจะมีโอกาสเสี่ยงในการเกิดมะเร็งตับมากกว่าผู้ติดเชื้อแต่ไม่มีการเพิ่มของระดับเอนไซม์ดังกล่าว จากการศึกษาในประเทศได้หวั่นพบว่าผู้ติดเชื้อตับอักเสบนชนิดบีแบบเรื้อรังมีโอกาสเกิดมะเร็งตับมากกว่าประชากรปกติถึง 400 เท่า

สาเหตุของมะเร็งตับมีการศึกษาทั้งในความสัมพันธ์ทางคลินิกและในสัตว์ทดลองซึ่งได้แก่

- 2.5.1 สาร aflatoxin B1 ผลิตจากเชื้อรา *Aspergillus* พบเชื้อราชนิดนี้และสาร aflatoxin ในเมล็ดพืชหลายชนิดที่เก็บไว้ในสถานที่ที่ร้อนและชื้นเป็นเวลานาน<sup>38</sup> ปัจจัยเสี่ยงของการเกิดโรคมะเร็งตับชนิด HCC มีรายงานการศึกษาในประเทศไทยตรวจพบว่ามีปริมาณสาร aflatoxin ในขนาดสูงปนเปื้อนในอาหาร แต่จากรายงานการศึกษาในปี พ.ศ. 2534 (ค.ศ. 1991) โดย Srivatanakul และคณะพบว่าผู้ป่วยมะเร็งตับชนิด HCC เพียงหนึ่งรายจากหนึ่งโรงพยาบาลที่ตรวจพบสัดส่วนของปริมาณสาร aflatoxin ที่จับกับอัลบูมินในเลือดมีค่าตั้งแต่ 3 พิโคกรัม aflatoxin-lysine ต่อ มิลลิกรัม อัลบูมิน ( $\geq 3$  pgAF-lysine/mg albumin) Hollstein ตรวจการกลายพันธุ์ของยีน P53 ในมะเร็งตับชนิด HCC จากประเทศไทยพบว่าความชุกของการกลายพันธุ์ของยีน P53 ที่ตำแหน่ง codon 249 ต่ำกว่าในประเทศอื่นที่มีอุบัติการณ์ของโรคมะเร็งตับชนิด HCC สูง จากข้อมูลนี้อาจสะท้อนให้เห็นว่าการได้รับสาร aflatoxin ในประเทศไทยต่ำกว่าในบริเวณอื่นที่มีอุบัติการณ์ของโรคมะเร็งตับชนิด HCC สูง เช่น จีน และ Gambia<sup>2</sup>
- 2.5.2 ไวรัสตับอักเสบน มีการศึกษาอย่างชัดเจนแล้วว่าตับอักเสบเรื้อรังจากไวรัสตับอักเสบนบีเพิ่มอุบัติการณ์ของโรคมะเร็งตับ ในได้หวั่นมีโอกาสเกิดถึง 200 เท่าของคนปกติ<sup>39</sup> ในญี่ปุ่นในช่วง 30 ปีมานี้อัตถุบัติการของมะเร็งตับสูงขึ้นเนื่องมาจากไวรัสตับอักเสบนซี<sup>40</sup> การติดเชื้อไวรัสตับอักเสบนบีก็พบได้บ่อยในประเทศไทย ความชุกของผู้เป็นพาหะของโรคไวรัสตับอักเสบนบีโดยอาศัยการตรวจหา HBsAg มีรายงานแตกต่างกันซึ่งได้แก่ ร้อยละ 8.4 ร้อยละ 9.4 และร้อยละ 10 ในผู้ป่วยมะเร็งตับชนิด HCC ร้อยละ 61 ถึง 63.8 ตรวจพบ HBsAg สูงกว่าการตรวจพบ HBsAg ในเลือดที่ได้รับบริจาค (พบร้อยละ 5.28) องค์การอนามัยโลกได้แจกจ่ายวัคซีนไวรัสตับอักเสบนบีให้กับประเทศในเอเชียซึ่งพบว่าประชากรร้อยละ 10 ถึง 15 เกิดตับอักเสบเรื้อรังจากไวรัสบี ส่วนใหญ่ทารกจะได้รับ การติดเชื้อจากมารดาขณะคลอดผ่านทางช่องคลอด อย่างไรก็ตามกว่าจะเกิดผลลดอัตราการผลิตมะเร็งตับก็ใช้เวลามากกว่า 40 ปี ไวรัสตับอักเสบนชนิดซีก็เป็นปัจจัยเสี่ยงในการเกิดโรคมะเร็งตับชนิด HCC อีกปัจจัยหนึ่ง แต่ดูเหมือนว่าความชุกที่ตรวจพบแอนติบอดีต่อไวรัสตับอักเสบนซี (anti-HCV) ค่อนข้างต่ำในประเทศไทยคือร้อยละ 11.1 ถึง 11.3 ในผู้ป่วยมะเร็งตับชนิด HCC ที่ตรวจไม่พบ HBsAg ทำให้สันนิษฐานว่าไวรัสตับอักเสบนซีน่าจะมีบทบาทในการเกิดมะเร็งตับชนิด HCC ในผู้ที่ตรวจไม่พบ HBsAg กลไกของไวรัสตับอักเสบนบีและซีในการก่อมะเร็งยังไม่ทราบชัดเจน แต่



พบว่ากลไกการเกิดมะเร็งตับของไวรัสทั้งสองชนิดมีความแตกต่างกันคือ genome ของไวรัสตับอักเสบบีต้องรวมเข้ากับยีนของมนุษย์ในขณะที่ไวรัสตับอักเสบบีไม่มีการรวมของยีนเกิดขึ้น เมื่อไวรัสเข้าสู่เซลล์จะก่อให้เกิดการทำลายเซลล์ตับแล้วมีการซ่อมแซมตามมาหลาย ๆ ครั้งซึ่งอาจเกิดการกลายพันธุ์ขึ้นทำให้เกิดมะเร็งตับตามมา ระยะเวลาการเกิดมะเร็งตับมีการศึกษาการได้รับเชื้อไวรัสตับอักเสบบีหรือซีจากมารดาประมาณ 52 และ 62 ปีตามลำดับ ส่วนการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีหรือซีจากการได้รับเลือดที่มีเชื้อพบว่ามีระยะเวลา 40 - 50 และ 30 ปีตามลำดับ ความแตกต่างอีกประการหนึ่งคือการเกิดตับแข็งร่วมด้วยเกือบทุกรายในผู้ที่มีไวรัสตับอักเสบบี ในขณะที่พบในไวรัสตับอักเสบบีประมาณร้อยละ 50 โดยผู้ป่วยที่เหลืองจะพบเป็นตับอักเสบริ่งร้อยละ 60 - 80 ของมะเร็งตับเกี่ยวข้องกับโรคตับแข็งที่มีอยู่เดิม<sup>42,42</sup> แต่ก็ยังไม่ทราบชัดว่ามะเร็งตับเกิดจากตับแข็งหรือโรคที่เป็นสาเหตุของตับแข็ง ตัวอย่างของความสัมพันธ์ของโรคที่เกี่ยวข้องกับมะเร็งตับดังตารางที่ 2.4

ชนิดของตับแข็งที่เกิดมะเร็งตับก็มีความแตกต่างกันเช่น ในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้เป็นแบบ macronodular แต่ในสหรัฐอเมริกาและยุโรปเป็นแบบ micronodular

## 2.6 อาการ

ในระยะแรกเมื่อก่อนมะเร็งมีขนาดเล็กมักไม่ปรากฏอาการ เมื่อผู้ป่วยเริ่มมีอาการซึ่งได้แก่ ตับโต น้ำหนักลด ก็มักจะเป็นระยะสุดท้ายของโรคแล้วไม่สามารถรักษาให้หายขาดได้ อาการที่พบบ่อยในมะเร็งตับ HCC ได้แก่ ปวดท้อง (ร้อยละ 91) ท้องโต (ร้อยละ 43) น้ำหนักลด (ร้อยละ 35) อ่อนเพลีย (ร้อยละ 31) แน่นท้องและเบื่ออาหาร (ร้อยละ 27) อาเจียน (ร้อยละ 8) และดีซ่าน (ร้อยละ 7) อาการต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นในโรคมะเร็งตับมักสัมพันธ์กับก้อนมะเร็งที่มีขนาดเกินกว่า 2 ซม. ในประเทศญี่ปุ่นซึ่งมีการตรวจคัดกรองโรคมะเร็งตับจึงไม่ค่อยพบอาการของโรค ดีซ่านพบไม่บ่อยในมะเร็งตับแต่ถ้าพบอาการนี้ส่วนใหญ่มักเป็นจากโรคตับที่เป็นอยู่เดิม มีเพียงร้อยละ 10 ที่เกิดจากการอุดตันของทางเดินน้ำดีและตำแหน่งที่เกิดมักเป็นบริเวณ porta hepatis อาเจียนเป็นเลือดอาจเกิดจากการแตกของเส้นเลือดในหลอดอาหารในผู้ป่วยที่มีความดันในหลอดเลือด portal สูง อาการปวดกระดูกพบได้ร้อยละ 3 - 12 แต่จากการตรวจศพพบที่มีการกระจายของมะเร็งไปยังกระดูกถึงร้อยละ 20 ผู้ป่วยที่มาด้วยอาการทางระบบทางเดินหายใจพบได้ยากมาก สาเหตุที่เกิดมักเป็นจากตับโตมากแล้วไปกดดันกระบังลมทำให้หายใจลำบากหรืออาการปวดเนื่องมาจากการแพร่กระจายของมะเร็งไปยังกระดูกซี่โครง อาจพบน้ำในช่องปอดได้แต่ผู้ป่วยที่มีอาการเนื่องมาจากการแพร่กระจายไปยังเนื้อปอดพบได้ยากมาก

ตารางที่ 2.4 แสดงโรคและภาวะที่เกี่ยวข้องกับการเกิดมะเร็งตับ<sup>43</sup>

condition	ความเสี่ยง
Cirrhosis <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ ไวรัสตับอักเสบบี</li> <li>▪ แอลกอฮอล์</li> <li>▪ autoimmune chronic active hepatitis</li> <li>▪ ดับแข็งที่ไม่ทราบสาเหตุ</li> <li>▪ ไวรัสตับอักเสบบีที่ไม่ใช่เอและบี</li> <li>▪ primary biliary cirrhosis</li> </ul>	สูง สูง สูง ปานกลาง ปานกลาง ต่ำ
Metabolic diseases <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Genetic hemochromatosis</li> <li>▪ Hereditary tyrosinemia</li> <li>▪ <math>\alpha</math>1-Antitrypsin deficiency</li> <li>▪ Ataxia telangiectasia</li> <li>▪ Type 1 and 3 glycogen storage disease</li> <li>▪ Galactosemia</li> <li>▪ Citrullinemia</li> <li>▪ Hereditary hemorrhagic telangiectasia</li> <li>▪ Porphyria cutanea tarda</li> <li>▪ Wilson's disease</li> <li>▪ Orotic aciduria</li> <li>▪ Alagille's syndrome</li> </ul>	สูง สูง ปานกลาง ปานกลาง ปานกลาง ปานกลาง ปานกลาง ปานกลาง ปานกลาง ต่ำ ปานกลาง ปานกลาง
Environment <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Thorotrast</li> <li>▪ Androgenic steroids</li> <li>▪ Cigarette smoking</li> <li>▪ Aflatoxin</li> <li>▪ Pyrrolizidine alkaloids</li> <li>▪ Cycasin</li> <li>▪ N-Nitrosylated compounds</li> </ul>	ปานกลาง ปานกลาง ไม่มีการตรวจสอบในมนุษย์ ไม่มีการตรวจสอบในมนุษย์ ไม่มีการตรวจสอบในมนุษย์ ไม่มีการตรวจสอบในมนุษย์ ไม่มีการตรวจสอบในมนุษย์



## 2.7 อาการแสดง

อาการแสดงที่พบบ่อยที่สุดคือตับโต ซึ่งพบได้ร้อยละ 50 -90 และขนาดของตับมักโตมากถ้าผู้ป่วยมาจากบริเวณที่มีอุบัติการณ์ของโรคนี้สูง ร้อยละ 6 - 25 อาจฟังได้เสียงฟูเนื่องมาจากมีหลอดเลือดในก้อนมะเร็งมาก ภาวะน้ำในช่องท้องพบได้ร้อยละ 30 - 60 มักเกิดในผู้ป่วยที่มีโรคตับอยู่เดิม บางครั้งอาจเกิดจากการมีเลือดออกในช่องท้องได้ ควรเจาะน้ำในช่องท้องเพื่อตรวจหาเซลล์มะเร็งเนื่องจากมีผลต่อการพยากรณ์โรค ม้ามโตก็พบได้บ่อยเนื่องจากความดันในหลอดเลือดดำ portal สูงจากโรคตับเดิม อาจพบม้ามโตเฉียบพลันถ้ามีการอุดตันของหลอดเลือดดำ portal จากก้อนมะเร็ง น้ำหนักลดและกล้ามเนื้อลีบพบได้บ่อยในผู้ป่วยที่ก้อนมะเร็งมีขนาดใหญ่หรือโตเร็ว ไข้พบได้ร้อยละ 10 - 50 สาเหตุยังไม่ทราบชัดเจนอาจเกี่ยวข้องกับการที่ก้อนมะเร็งสลายตัว(tumor necrosis) อาการแสดงอื่นที่พบได้แก่ อาการของโรคตับเรื้อรัง (ดีซ่าน หลอดเลือดดำที่ผนังหน้าท้องขยายตัว ผ่ามือแดง เต้านมโต อัณฑะฝ่อ และภาวะบวม) Budd-Chiari syndrome เกิดจากมะเร็งลุกลามเข้าหลอดเลือดดำ portal และหลอดเลือดดำ hepatic ผู้ป่วยจะมีน้ำในช่องท้องและตับโตมาก ต่อม่าน้ำเหลืองบริเวณเหนือต่อกระดูกไหปลาร้าโต และก้อนมะเร็งกระจายตามผิวหนัง พบเป็นตุ่มเล็ก ๆ สีน้ำเงินแดง

พบกลุ่มอาการที่เกี่ยวข้องกับมะเร็งได้หลายอย่าง (Paraneoplastic syndrome) ในมะเร็งตับได้แก่ ภาวะน้ำตาลในเลือดต่ำ จำนวนเม็ดเลือดแดงมากขึ้น ระดับแคลเซียมในเลือดสูง ระดับไขมันในเลือด ชนิดคลอเลสเทอรอลสูง ไฟโบรเจนในเลือดผิดปกติ กลุ่มอาการคาร์ซินอยด์ porphyria cutanea tarda และการเปลี่ยนแปลงทางเพศซึ่งได้แก่ เต้านมโต อัณฑะฝ่อและเป็นหนุ่มสาวก่อนวัย

## 2.8 การแบ่งระยะของโรคมะเร็งตับ HCC

การแบ่งระยะของโรคมะเร็งตับแบ่งได้เป็น 2 แบบคือ

1. การแบ่งตามระบบ TNM (TNM staging system) “ รายละเอียดแสดงดังตารางที่ 2.5
2. Okuda staging system รายละเอียดแสดงดังตารางที่ 2.6 อาศัยปัจจัยดังต่อไปนี้
  - 2.1 ขนาดของก้อนมะเร็งโตกว่าร้อยละ 50 ของตับ
  - 2.2 มีน้ำในช่องท้อง
  - 2.3 ภาวะอัลบูมินในเลือดต่ำกว่า 3 กรัมต่อเดซิลิตร
  - 2.4 ระดับบิลิรูบินในเลือดสูงกว่า 3 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร

ตารางที่ 2.5 แสดงการแบ่งระยะของของโรคมะเร็งตับชนิด HCC อาศัยการแบ่งตามระบบของ TNM. <sup>44</sup>

ก้อนมะเร็งปฐมภูมิ	
TX	ก้อนมะเร็งปฐมภูมิไม่สามารถวัดได้
T0	ไม่พบก้อนมะเร็งปฐมภูมิ
T1	ขนาดก้อนไม่เกิน 2 ซม. และไม่มีการลุกลามหลอดเลือด
T2	ขนาดก้อนไม่เกิน 2 ซม. แต่มีการลุกลามหลอดเลือด ขนาดก้อนเกิน 2 ซม. และไม่มีการลุกลามหลอดเลือด มีหลายก้อนแต่ก้อนใหญ่ที่สุดมีขนาดไม่เกิน 2 ซม. เป็นที่ตบกลับเดียวและไม่มีการลุกลามหลอดเลือด
T3	ขนาดก้อนเกิน 2 ซม. และมีการลุกลามหลอดเลือด มีหลายก้อนแต่ก้อนใหญ่ที่สุดมีขนาดไม่เกิน 2 ซม. เป็นที่ตบกลับเดียวแต่มีการลุกลามหลอดเลือด มีหลายก้อนแต่ก้อนใหญ่ที่สุดมีขนาดเกิน 2 ซม. เป็นที่ตบกลับเดียว อาจมีหรือไม่มีการลุกลามหลอดเลือด
T4	มีหลายก้อนและมากกว่า 1 กลีบ ลุกลามแขนงใหญ่ของหลอดเลือดดำ portal หรือ hepatic ลุกลามอวัยวะข้างเคียงที่ไม่ใช่ถุงน้ำดี ทะลุ visceral peritoneum

ต่อมน้ำเหลืองข้างเคียง	
NX	ไม่ทราบลักษณะของต่อมน้ำเหลืองข้างเคียง
N0	ไม่มีการกระจายไปต่อมน้ำเหลืองข้างเคียง
N1	มีการกระจายไปต่อมน้ำเหลืองข้างเคียง

การแพร่กระจาย	
MX	ไม่ทราบการแพร่กระจาย
M0	ไม่มีการแพร่กระจาย
M1	มีการแพร่กระจาย

## ระยะโรคมะเร็งตับ

ระยะโรค	ก้อนมะเร็งปฐมภูมิ	ต่อมน้ำเหลืองข้างเคียง	การแพร่กระจาย
I	T1	N0	M0
II	T2	N0	M0
IIIA	T3	N0	M0
IIIB	T1-3	N1	M0
IVA	T4	Any N	M0
IVB	Any T	Any N	M1

ตารางที่ 2.6 แสดงเกณฑ์ที่ใช้ในการแบ่งระยะโรคมะเร็งตับตามแบบ Okuda

Okuda	เกณฑ์ที่ใช้
1	ไม่พบปัจจัยดังกล่าวเลย
2	พบปัจจัยดังกล่าว 1 หรือ 2 ข้อ
3	พบปัจจัยดังกล่าว 3 หรือ 4 ข้อ

## 2.9 การตรวจทางคลินิก

ต้องสอบถามประวัติที่เกี่ยวข้องกับปัจจัยเสี่ยงได้แก่ ประวัติตับอักเสบหรือดีซ่าน การได้รับเลือด ฉีดยาเสพติดเข้าเส้น การสัก(tattoo) บุคคลในครอบครัวเป็นมะเร็งตับหรือตับอักเสบ หรือประวัติการทำงานที่ต้องสัมผัสกับสารก่อมะเร็ง การตรวจร่างกายต้องพยายามหาว่าผู้ป่วยมีโรคตับเดิมอยู่หรือไม่ (ตรวจพบดีซ่าน น้ำในช่องท้อง บวม ฝ่ามือแดง spider nevi และน้ำหนักลด) การตรวจตับต้องสังเกตขนาด ลักษณะของเนื้อตับ ก้อน และบริเวณกตเจ็บ นอกจากนี้ต้องตรวจว่ามีม้ามโตด้วยหรือไม่ การวินิจฉัยโรคมะเร็งตับชนิด HCC. ต้องอาศัยการตรวจทางพยาธิวิทยาแนะนำให้ใช้วิธี core biopsy จะได้ผลดีกว่าการทำวิธี FNA. (fine needle aspiration)

## 2.10 การตรวจเลือด

ในกรณีที่ผู้ป่วยมาด้วยอาการก่อนในท้องหรืออาการที่บ่งว่าการทำงานของตับเลวลงการตรวจหา CEA, BI12, AAP หรือ PIVKA-2 เป็นมาตรฐานในการทดสอบการทำงานของตับ นอกเหนือจากการตรวจหา PT, PTT, albumin และ LFT. ที่ทำเป็นปรกติอยู่แล้ว การตรวจ CBC ถ้าพบเกล็ดเลือดและเม็ดเลือดขาวต่ำลงอาจแสดงถึงภาวะ portal hypertension และ hypersplenism ตรวจหาไวรัสตับอักเสบนชนิดเอ, บี, ซี และดี ถ้าพบว่ามีไวรัสตับอักเสบบีควรตรวจหาปริมาณดีเอ็นเอและอาร์เอ็นเอของไวรัสต่อไป การตรวจทางน้ำเหลืองเพื่อตรวจหามะเร็งตับและใช้ในการติดตามโรคมะเร็ง 2 ชนิดคือ

$\alpha$ -fetoprotein (AFP) และ des- $\gamma$ -carboxyprothrombin protein induced by vitamin K abnormality (PIVKA-2) AFP.เพิ่มสูงขึ้นในผู้ป่วยมะเร็งตับ HCC. ในชาวตะวันออกมากกว่าในสหรัฐอเมริกาและยุโรป โดยที่ผู้ป่วยเอเชียพบระดับ AFP สูงขึ้นร้อยละ 80 – 90 ส่วนผู้ป่วยชาวอเมริกันและยุโรปพบค่า AFP สูง ร้อยละ 60 – 70<sup>45</sup> การใช้ AFP ร่วมกับอัลตราซาวด์ตับสามารถใช้ตรวจหามะเร็งตับระยะแรกได้ PIVKA-2 พบในผู้ป่วยมะเร็งตับ HCC ประมาณ ร้อยละ 91 นอกจากนี้ยังพบเพิ่มขึ้นในผู้ที่ขาดวิตามินเค ตับอักเสบเรื้อรัง และมะเร็งที่แพร่กระจายมายังตับ<sup>46-49</sup> ดังนั้นการเพิ่มขึ้นของ AFP และ PIVKA-2 ในผู้ป่วยตับอักเสบริ่งและผู้ป่วยตับแข็งบางรายอาจแปลผลได้ยาก แม้ว่าจะมีการทดสอบชนิดอื่นก็ไม่ให้ผลที่มีความไวและความจำเพาะดีไปกว่าการตรวจหา AFP และ PIVKA-2

## 2.11 การตรวจทางรังสี

การตรวจอุลตราซาวด์ตับเป็นการตรวจคัดกรองที่ดีที่สุดวิธีหนึ่ง แต่ถ้าต้องการวัดขนาดหรือดูการลุกลามของก้อนเนื้ออกนั้นควรใช้ CT scan ธรรมดาหรือ CT portography (โดยการฉีดสารทึบรังสีผ่านเส้นเลือด superior mesenteric artery เข้าไปยังระบบ portal ในรายที่มีความดันในระบบ portal ไม่สูงมาก ทำให้สามารถมองเห็นก้อนเนื้ออกแยกจากเนื้อตับปกติได้ชัดเจน) ในรายที่มีความดันในระบบ portal สูงการทำ CT arteriography หรือ MRI อาจให้ข้อมูลได้ดียิ่งขึ้น ในรายที่ก้อนเนื้ออกมีขนาดเล็ก การฉีด ethiodol (lipiodol) ปริมาณ 5 – 15 ซีซี ผ่านทางเส้นเลือดแดง hepatic ล่วงหน้าหนึ่งสัปดาห์ แล้วนำผู้ป่วยมาทำการเจาะตับโดยอาศัย CT นำ สามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการเจาะและเพิ่มความแม่นยำในการตรวจชิ้นเนื้อทางพยาธิวิทยาเนื่องจากพบสาร lipiodol ในชิ้นเนื้อที่เจาะมา ทำให้แน่ใจได้ว่าได้ชิ้นเนื้อจากก้อนเนื้ออกโดยตรง

การศึกษาชนิด Prospective ในผู้ป่วยที่มีปัจจัยเสี่ยงของโรคมะเร็งตับสูงพบว่า การตรวจอุลตราซาวด์ให้ผลไวกว่าการตรวจหา AFP เนื่องจากพบว่าผู้ป่วยไม่เกินร้อยละ 50 ที่ระดับ AFP มีค่าสูงในก้อนมะเร็งขนาดเล็ก<sup>50</sup> และยังสามารถอาศัยอุลตราซาวด์ในการเจาะตับจึงทำให้มีการใช้อุลตราซาวด์อย่างแพร่หลายในการตรวจเฝ้าระวังมะเร็งตับในผู้ป่วยที่มีตับอักเสบเรื้อรัง นอกจากนี้อุลตราซาวด์สามารถตรวจพบ portal venous thrombosis และแยกมะเร็งตับออกจากมะเร็งที่แพร่กระจายมายังตับโดยอาศัยการตรวจพบ ring sign ในก้อนมะเร็งตับชนิด HCC ที่มีขนาดเล็กกว่า 2 เซนติเมตร

## 2.12 การตรวจทางพยาธิวิทยา

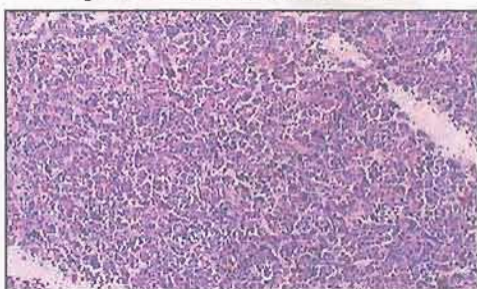
การเจาะชิ้นเนื้อจากตับเพื่อตรวจทางพยาธิวิทยาอาจก่อให้เกิดการตกเลือดภายหลังการทำโดยเฉพาในกรณี que ผู้ป่วยมีเกล็ดเลือดต่ำหรือก้อนมะเร็งมีหลอดเลือดมาเลี้ยงมาก การใช้การเจาะตับโดย core biopsy ให้ผลดีกว่าการทำ FNA. เพราะสามารถแยก HCC ออกจาก adenocarcinoma ที่แพร่กระจายมายังตับและมีชิ้นเนื้อเพียงพอในการย้อมพิเศษ ลักษณะทางพยาธิวิทยาของเซลล์มะเร็งตับแสดงดังรูปที่ 2.7.1 ถึง 2.7.4 การย้อมพิเศษในมะเร็งตับจะให้ผลบวกเมื่อย้อม AFP, polyclonal CEA แต่ให้ผลลบเมื่อย้อมหา reticulin นอกจากนี้ยังมีการวิเคราะห์ DNA โดยวิธี flow cytometry ซึ่งพบว่า HCC เป็น aneuploid ร้อยละ 78 เป็น diploid ร้อยละ 22 ในรายที่มีระดับ AFP สูงมักจะเป็น aneuploid<sup>51</sup> แต่ก็ไม่一定有ผลต่อการอยู่รอดเหมือนกับมะเร็งของทางเดินอาหารชนิดอื่น การเพิ่มจำนวนเซลล์อย่างรวดเร็วในมะเร็งตับที่พบจากการตรวจ BUDr, PCNA และ Ki67 ก็สามารถพยากรณ์โรคได้เช่น การศึกษาในผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาด้วยการผ่าตัดถ้าตรวจพบการสังเคราะห์ดีเอ็นเออยู่ในระดับต่ำมักจะมีอัตราการอยู่รอดที่ 2 ปีสูงกว่าและมีการแพร่กระจายภายในตับน้อยกว่าผู้ที่มีการสังเคราะห์ดีเอ็นเอในระดับสูงเหมือนกับผู้ป่วยมะเร็งเต้านม<sup>52</sup>



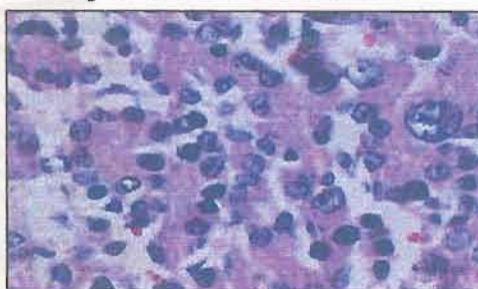
ลักษณะเฉพาะในมะเร็งตับ HCC ได้แก่การลุกลามหลอดเลือดดำ portal และ hepatic พบได้ร้อยละ 20 ในมะเร็งตับที่มีขนาดเล็กกว่า 1 ซม. และพบได้ร้อยละ 90 ในก้อนที่ขนาดที่โตกว่า 5 ซม. การลุกลามเข้าหลอดเลือดนี้เป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้ไม่สามารถทำการผ่าตัดหรือการเปลี่ยนตับได้ นอกจากนี้ยังมีข้อพิสูจน์ว่าในรายที่มีการเกิดลิ่มเลือดในหลอดเลือดดำ portal แล้วใช้เข็มเจาะเพื่อดูดลิ่มเลือดออกมาตรวจทางพยาธิวิทยาก็พบว่ามีเซลล์มะเร็งตับลุกลามไปแล้ว<sup>53,54</sup> ทำให้เป็นข้อห้ามการเปลี่ยนตับ

รูปที่ 2.7.1 ถึง 2.7.4 แสดงลักษณะทางพยาธิวิทยาของมะเร็งตับชนิด HCC

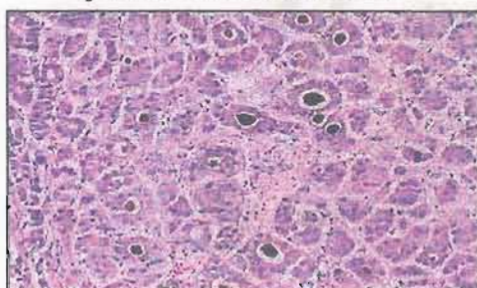
รูปที่ 2.7.1 การย้อมด้วยวิธี H&E



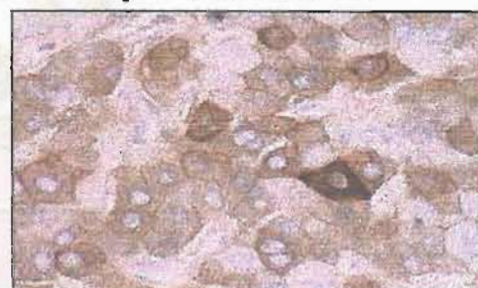
รูปที่ 2.7.2 การย้อมด้วยวิธี H&E



รูปที่ 2.7.3 การย้อมด้วยวิธี H&E



รูปที่ 2.7.4 การย้อมพิเศษ



## 2.13 การรักษามะเร็งตับ

### 2.13.1 การผ่าตัดตับ

โดยอาศัยการคลำก้อนมะเร็งภายในตับของศัลยแพทย์และการใช้อัลตราซาวด์ตรวจดูขอบเขตของก้อนมะเร็งจากผิวตับในระหว่างการผ่าตัด ทำให้สามารถตรวจพบขอบเขตของก้อนมะเร็ง, การอุดตันของหลอดเลือดดำ portal จากมะเร็ง และตรวจก้อนมะเร็งขนาดเล็กได้ชัดเจนยิ่งขึ้น ความยากลำบากประการหนึ่งที่พบได้บ่อยในการผ่าตัดก็คือการแยก regenerating nodules จากก้อนมะเร็งตับ ผลแทรกซ้อนจากการผ่าตัดที่พบได้บ่อยได้แก่ การตกเลือดและการได้รับเลือดจำนวนมาก, การติดเชื้อหลังการผ่าตัด และติชานซึ่งเกิดจากการผ่าตัดพลาดไปถูก hepatic duct หรือตับที่เหลือจากการผ่าตัดทำงานไม่



เพียงพอ<sup>55-59</sup> เนื่องจากการเกิดขึ้นของมะเร็งตับภายหลังการผ่าตัดได้บ่อยทำให้มีการพยายามหาวิธีลดการเกิดซ้ำอันได้แก่ การใช้ยาเคมีบำบัดหรือการฉายรังสี ชนิดของการผ่าตัดตับที่ทำบ่อย ๆ ได้แก่

1. right hepatectomy
2. left hepatectomy
3. right lobectomy
4. left lobectomy

การผ่าตัดก้อนมะเร็งตับขนาดใหญ่ในปัจจุันที่มีผลต่อการพยากรณ์โรคไม่ได้แก่ ลูกกลมไปต่อมน้ำเหลืองหรือหลอดเลือด กระจายไปทั่วตับ ไม่มีเปลือกหุ้มก้อนมะเร็ง ก้อนมีขนาดโตกว่า 5 ซม. และเป็นหลาย ๆ ก้อน<sup>60,61</sup> อัตรารอดชีวิตที่ 3 ปีเป็นดังตารางที่ 2.7 อัตราการรอดชีวิตของผู้ป่วยถ้าอยู่ในระยะเดียวกันนั้นพบว่าผู้ป่วยที่ไม่มีภาวะตับแข็งจะมีอัตราการรอดชีวิตดีกว่าผู้ป่วยที่มีภาวะตับแข็งร่วมด้วย

ตารางที่ 2.7 แสดงอัตราการรอดชีวิตที่ 3 ปีในผู้ป่วยมะเร็งตับชนิด HCC ที่ได้รับการผ่าตัดตามระยะต่าง ๆ<sup>60-65</sup>

ระยะที่	อัตราการรอดชีวิตที่ 3 ปี	
	สหรัฐอเมริกาและเยอรมัน	ญี่ปุ่น
I	-	ร้อยละ 50
II	ร้อยละ 75	ร้อยละ 25
III	ร้อยละ 50	-
IVA	ร้อยละ 10 - 20	-

มะเร็งตับที่เกิดในผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีและซีก็พบว่าไม่แตกต่างจากผู้ป่วยที่ไม่มีการติดเชื้อแม้ว่าพยาธิสภาพที่เกิดขึ้นในตับจะแตกต่างกัน<sup>66</sup> ผู้ป่วยชาวจีนที่เกิดมะเร็งตับร่วมกับการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีไม่พบความสัมพันธ์กับภาวะตับแข็ง แต่ในชาวญี่ปุ่นที่มีมะเร็งตับร่วมกับการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีพบว่ามีอุบัติการณ์การเกิดภาวะตับแข็งเพิ่มขึ้น จากหลายการศึกษาพบว่าการใช้ยาเคมีบำบัดเป็นการรักษาเสริมโดยฉีดเข้าตับทางหลอดเลือดแดงมีทั้งให้ผลการรักษาที่ดีและไม่ดี แต่โดยสรุปก็ไม่พบว่ามีประโยชน์ในการเพิ่มอัตราการรอดชีวิตของผู้ป่วยอย่างชัดเจน ดังนั้นในเวชปฏิบัติทั่วไปไม่แนะนำให้ใช้ยาเคมีบำบัดฉีดเข้าตับร่วมกับการผ่าตัด<sup>67</sup>

สาเหตุของการเป็นซ้ำหลังการผ่าตัดตับส่วนใหญ่การเกิดเป็นซ้ำมักเกิดขึ้นภายในตับ มีทั้งที่เกิดเป็นซ้ำจริงเนื่องมาจากการหลงเหลือของเซลล์มะเร็งอยู่หรือเกิดเป็นมะเร็งตับชนิดปฐมภูมิจากเนื้อตับที่เหลืออยู่ การเกิดเป็นซ้ำจากเซลล์มะเร็งที่เหลืออยู่แม้ว่าจะตรวจไม่พบทางพยาธิวิทยาแต่ในสัต์ว์ทดลองพบว่ามีการตรวจพบความผิดปกติของเอนไซม์เมื่อตรวจทางเคมี นอกจากนี้การมีการลูกกลมของหลอดเลือดดำ portal ยังแสดงถึงการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งไปทั่วทั้งตับแล้ว ผู้ป่วยที่เกิดเป็นซ้ำบางรายอาจได้ประโยชน์จากการผ่าตัดซ้ำก็

ได้<sup>69-70</sup> มีรายงานจากประเทศญี่ปุ่นว่าผู้ป่วยมะเร็งตับจำนวน 62 รายที่ได้รับการผ่าตัดตับมีการเกิดเป็นซ้ำจำนวน 41 ราย ในผู้ป่วยที่กลับเป็นซ้ำประมาณร้อยละ 93 พบว่าเกิดซ้ำในเนื้อตับที่เหลืออยู่และยังพบในปอดและกระดูกด้วย และยังพบว่าผู้ป่วยที่ได้รับการผ่าตัดเฉพาะก้อนออกไป (local excision) 19 รายมีการเกิดเป็นซ้ำในตับกลับย่อยหรือบริเวณที่ติดกันของเนื้อตับที่เหลืออยู่ถึง 18 ราย จึงแนะนำให้ทำการผ่าตัดเอาเนื้อตับรอบๆ ก้อนออกให้มาก (hepatectomy หรือ lobectomy) เพื่อลดอัตราการเป็นซ้ำ

### 2.13.2 การผ่าตัดเปลี่ยนตับ

จากการพัฒนาการผ่าตัดเปลี่ยนตับและความสำเร็จในการใช้ยา cyclosporin-A และ FK506 เพื่อป้องกันการปฏิเสธเนื้อเยื่อ<sup>71</sup> ทำให้ผู้ป่วยที่เป็นโรคตับที่ไม่ใช่มะเร็งของตับมีชีวิตยืนยาวเกินกว่า 5 ปีถึงร้อยละ 80- 90 และตับที่ใช้ในการเปลี่ยนต้องการเพียงกลุ่มเลือดเอบีโอของผู้บริจาคและผู้รับตรงกันเท่านั้นทำให้มีการพยายามที่จะเปลี่ยนตับในผู้ป่วยมะเร็งตับ พบว่าผู้ป่วยมะเร็งตับระยะที่ 1 และ 2 การเปลี่ยนตับให้ผลการรักษาที่ดีเทียบเท่าหรือดีกว่าผู้ป่วยที่ได้รับการผ่าตัดตับโดยเฉพาะถ้ามีภาวะตับแข็งร่วมด้วย(ดังตารางที่ 2.8) การเปลี่ยนตับทำได้เฉพาะผู้ป่วยมะเร็งตับที่ยังไม่แพร่กระจาย (ระยะที่ 1 – 4A) ปัจจุบันที่มีผลต่ออัตราการอยู่รอดในการเปลี่ยนตับได้แก่ ก้อนมะเร็งมีขนาดเกินกว่า 5 ซม. มีหลายก้อนเป็นสองกลีบ เป็นแบบ diffuse tumor type และมีการลุกลามหลอดเลือด ในบางสถาบันไม่ทำการเปลี่ยนตับในผู้ป่วยที่พบก้อนมะเร็งลุกลามหลอดเลือดที่พบจาก CT, เป็นที่ตับทั้งสองกลีบ (ระยะที่ 4) และผู้ป่วยที่ไวรัสตับอักเสบบีที่รุนแรง มีการศึกษาเพื่อหาวิธีเพิ่มอัตราการอยู่รอดในผู้ป่วยระยะที่ IVA หลังการเปลี่ยนตับโดยใช้ยาเคมีบำบัด (cisplatin และ doxorubicin) ฉีดเข้าตับพบว่าสามารถเพิ่มอัตราการอยู่รอดได้ แต่ก็ไม่ปลอดภัยถ้าใช้ยาเคมีบำบัดขนาดเต็มที่ในผู้ป่วยที่มีตับแข็งร่วมด้วยดังนั้นการให้ยาเคมีบำบัดเสริมหลังการเปลี่ยนตับคงต้องพิจารณาในผู้ป่วยแต่ละราย

การเกิดเป็นซ้ำของมะเร็งตับในผู้ป่วยที่ได้รับการเปลี่ยนตับมักเกิดในผู้ป่วยระยะที่ III และ IVA เนื่องมาจากมีการแพร่กระจายของโรคมะเร็งออกนอกตับก่อนการผ่าตัด หลักฐานที่ยืนยันสมมุติฐานนี้ได้แก่ การตรวจพบ human albumin mRNA ซึ่งจำเพาะต่อเซลล์ตับหรือการพบ AFP mRNA ในเลือดของผู้ป่วยระยะดังกล่าวก่อนการเปลี่ยนตับซึ่งเกิดจากการลุกลามหลอดเลือดดำ portal แล้วแพร่กระจายทางเลือดไปทั่วร่างกาย นอกจากนี้ยังพบว่ามีสารกระตุ้นการเติบโตของเซลล์มะเร็ง HCC ที่แพร่กระจายไปทำให้เซลล์มะเร็งเติบโตรวดเร็วขึ้น สารเหล่านี้ได้แก่ hepatotrophic factors ที่ปล่อยออกจากเซลล์ที่กำลังเจริญเติบโตของตับที่เปลี่ยนเข้าไป และยา cyclosporin A และ FK506 ที่มีคุณสมบัติกระตุ้นการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งด้วย<sup>72-74</sup>

ตารางที่ 2.8 อัตราการรอดชีวิตในผู้ป่วยมะเร็งตับชนิด HCC ที่รักษาด้วยการผ่าตัดเปลี่ยนตับ<sup>43</sup>

ระยะ	อัตราการรอดชีวิต (ร้อยละ)			
	1 ปี	2 ปี	3 ปี	4 ปี
I	75	75	75	75
II	80	70	60	60
III	60	40	40	40
IVA	50	30	15	10

### 2.13.3 การรักษาแบบประคับประคอง

ผู้ป่วยที่ไม่สามารถผ่าตัดได้การรักษามุ่งหวังเพื่อจะลดอาการบางอย่างที่เกิดขึ้นเช่น การแก้ไขท่อทางเดินน้ำดีอุดตัน ลดความดันในหลอดเลือด portal หรือลดขนาดของก้อนมะเร็งในรายที่มีก้อนขนาดใหญ่มากซึ่งเป็นการรักษาแบบประคับประคอง การแก้ไขท่อทางเดินน้ำดีอุดตันอาจทำได้โดยการใช้ท่อระบายน้ำดีผ่านออกมาทางผิวหนังหรือการใส่ stent โดยอาศัยกล้อง endoscope วิธีการใช้ stent มีข้อดีกว่าคือสามารถกำจัดอาการเจ็บปวดบริเวณหน้าท้องหรือซีโครงที่อาจเกิดขึ้นในกับการใส่ท่อระบายน้ำดีออกสู่ภายนอกและไม่จำเป็นต้องเปลี่ยนสายทุก 3 – 4 เดือน<sup>75-78</sup> การลดขนาดของก้อนมะเร็งอาจทำได้โดยการใช้ การฉายรังสีระหว่างผ่าตัด การฉีดแอลกอฮอล์เข้าไปในก้อนมะเร็งหรือการทำลายก้อนมะเร็งโดยใช้แสงเลเซอร์<sup>79,80</sup>

### 2.13.4 การรักษาด้วยยาเคมีบำบัด

การใช้ยาเคมีบำบัดฉีดเข้าทางหลอดเลือดดำเพียงชนิดเดียวในมะเร็งตับจะได้ผลในการลดขนาดของก้อนมะเร็งไม่เกินร้อยละ 25 และพบว่ามีอัตราการรอดชีวิตไม่ได้ดีไปกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับการรักษา ยาเคมีบำบัดที่พิสูจน์แล้วว่าไม่มีผลในการรักษาเมื่อให้เพียงชนิดเดียวได้แก่ 5-FU, doxorubicin, cisplatin, VP16 และ neocarzinostatin มีการศึกษาการใช้ interferon และ interleukin-2 ในการรักษาโรคมะเร็งตับก็ให้ผลการรักษาไม่ดี<sup>81-84</sup> และการรักษาด้วยยาเคมีบำบัดในปัจจุบันยังไม่สามารถเพิ่มระยะเวลาการมีชีวิตของผู้ป่วยได้ ดังนั้นการรักษาด้วยยาเคมีบำบัดในปัจจุบันจึงอยู่ในระหว่างการศึกษาวิจัยเพื่อหาตัวยาใหม่และวิธีการให้ยาเคมีบำบัดที่มีประสิทธิภาพ

### 2.13.5 การรักษาด้วยการฉีดยาเคมีบำบัดเข้าทางหลอดเลือดแดงเฮปาทิค

การให้ยาเคมีบำบัดผ่านทางเส้นเลือดแดงเข้าสู่ก้อนมะเร็ง (regional chemotherapy) ใช้เทคนิคการฉีดแบบ bolus ชนิดของยาเคมีบำบัดที่ได้ผลได้แก่ doxorubicin, cisplatin, mitomycin C และ neocarzinostatin นอกจากนี้อาจฉีดสารเพื่ออุดกั้นหลอดเลือดเช่น lipiodol, gelfoam, starch, microspheres หรือการผูกเส้นเลือดหลังฉีดยาเคมีบำบัดทำให้ผลการตอบสนองดีกว่าการให้ยาเคมีบำบัดแบบ systemic วิธีนี้มีการศึกษาอย่างมากในประเทศแถบตะวันออกแต่ก็ไม่มีการแบ่งระยะของ

มะเร็งตับอย่างชัดเจนทำให้ไม่สามารถหาข้อตรวจการอยู่รอดได้และยากที่จะพยากรณ์โรคแต่ก็เป็นวิธีที่นิยมใช้อย่างแพร่หลาย อย่างไรก็ตามจากการศึกษาแบบสุ่มเปรียบเทียบวิธีการรักษาด้วยยาเคมีบำบัดฉีดเข้าทางหลอดเลือดแดงเฮปาทิค (hepatic artery) เทียบกับการรักษาแบบประคับประคองจำนวน 3 การศึกษาพบว่าระยะเวลาชีวิตของผู้ป่วยทั้งสองกลุ่มไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ผลแทรกซ้อนที่พบได้แก่ไข้สูง (มากกว่าร้อยละ 95) ปวดท้อง (มากกว่าร้อยละ 60) เบื่ออาหาร (มากกว่าร้อยละ 60) มีน้ำในช่องท้องหรือมีเอนไซม์ transaminases สูงขึ้นชั่วคราว (มากกว่าร้อยละ 20) และการเกร็งตัวของหลอดเลือดแดง cystic หรือถุงน้ำดีอักเสบ

มีการศึกษาในยุโรปหลายการศึกษาโดยใช้ยาเคมีบำบัด (doxorubicin หรือ cisplatin) ฉีดเข้าก่อนมะเร็งโดยผ่านทางเส้นเลือดแดงเปรียบเทียบระหว่างการใช้ lipiodol หรือ gelfoam เทียบกับกลุ่มที่ไม่ใช้การอุดกั้นหลอดเลือดหลังการฉีดยาเคมีบำบัดพบว่าไม่มีการศึกษาใดที่ให้ผลตอบสนองเกินกว่าร้อยละ 50 หรือมีผลต่ออัตราการรอดชีวิตของผู้ป่วย<sup>85-86</sup>

#### 2.13.6 การรักษาด้วยการฉีดยาเข้าบริเวณก้อนมะเร็ง (local injection therapy)

มีการใช้สารหลายชนิดในฉีดเข้าที่ก้อนมะเร็งตับ เช่นการใช้เอทิลแอลกอฮอล์ฉีดเข้าในก้อนมะเร็งที่มีขนาดไม่เกิน 3 ซม. การใช้วิธีนี้มีข้อดีคือทำลายก้อนมะเร็งได้ดีและรวดเร็ว รวมทั้งค่าใช้จ่ายในการรักษาถูกกว่าวิธีอื่น อย่างไรก็ตามในผู้ป่วยที่มีตับแข็งร่วมด้วยพบว่าผู้ป่วยส่วนใหญ่เกิดก้อนมะเร็งตับใหม่ภายใน 3 ปี ผลข้างเคียงพบได้น้อยและส่วนใหญ่เนื่องจากก้อนมะเร็งขนาดใหญ่ต้องฉีดเอทิลแอลกอฮอล์ปริมาณมาก ผลข้างเคียงที่พบได้แก่ tumor seeding เป็นฝัในตับและเสียชีวิต<sup>89-91</sup> นอกจากนี้เอทิลแอลกอฮอล์แล้วยังมีการใช้น้ำเกลือที่ร้อนหรือกรดอะซิติกแทน<sup>92,93</sup> และยังมีผู้ใช้คลื่นไมโครเวฟ แสงเลเซอร์ คลื่นวิทยุ หรือการใช้ฮูลตราซาวด์<sup>94-97</sup>

#### 2.13.7 การรักษามะเร็งตับด้วยวิธีอื่น

การรักษามะเร็งตับด้วยการฉายรังสีได้ผลเพียงแค่ว่าประคับประคองเท่านั้นเนื่องจากข้อจำกัดของเซลล์ต้นปกติที่ไม่สามารถทนทานต่อรังสีถ้าได้รับการฉายทั้งตับเกินกว่า 25 Gy ใน 10 ครั้งหรือ 21 Gy ใน 7 ครั้ง อาจมีผลทำให้เกิดตับอักเสบได้ ในระยะสุดท้ายจะเกิดพังผืดในบริเวณ central lobule และ periportal แล้วกลายเป็นตับแข็งในที่สุด<sup>98,100,101</sup>

อาศัยคุณสมบัติการจับ ethiodol ของเซลล์มะเร็งตับ เมื่อนำ ethiodol ติดฉลากด้วยสารกัมมันตภาพรังสี I-131 แล้วฉีดเข้าทางหลอดเลือดแดงของตับทำให้รังสีจาก I-131 สามารถทำลายเซลล์มะเร็งเฉพาะที่บริเวณตับได้ ให้ผลตอบแทนของร้อยละ 40 – 52 และระดับ AFP ลดลงเกินกว่าร้อยละ 50 เป็นจำนวนร้อยละ 50 – 66 ของผู้ป่วย<sup>101, 104</sup> Raoul และคณะได้รายงานการรักษาด้วยวิธีนี้เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมจำนวนผู้ป่วยทั้งหมด 27 ราย พบว่าอัตราการอยู่รอดในกลุ่มที่รักษาดีกว่ากลุ่มควบคุม

อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.01$ ) อัตราการอยู่รอดที่ 3,6,9 เดือนของผู้ป่วยที่ฉีด ethiodol 14 รายคือ ร้อยละ 71, 48 และ 7 ตามลำดับ ในขณะที่กลุ่มควบคุมเป็นร้อยละ 10, 0 และ 0 ตามลำดับ<sup>103</sup>

เนื่องมาจากการพบ hormonal receptors บนผิวของเซลล์ของมะเร็งตับทำให้มีการศึกษาถึงผลของฮอร์โมนต่อการเติบโตของเซลล์มะเร็ง มีการใช้ยา tamoxifen หรือ ketoconazole ในการรักษามะเร็งตับก็ไม่พบว่าีผลต่อก้อนมะเร็ง และกำลังอยู่ในระหว่างการศึกษาค้นคว้าของยา Anadron และ Zoladex

เมื่อไม่นานมานี้พบว่าไวตามินเคขนาดสูงสามารถยับยั้งการเติบโตของเซลล์มะเร็งตับได้ ความคิดนี้ได้มาจากการพบระดับของ PIVKA-2 สูงในเลือดของผู้ป่วยมะเร็งตับเนื่องมาจากความผิดปกติในการทำงานของ prothrombin carboxylase ซึ่งเป็น vitamin K-dependent enzyme<sup>105</sup>

#### สรุปการรักษามะเร็งตับแบ่งตามระยะต่าง ๆ

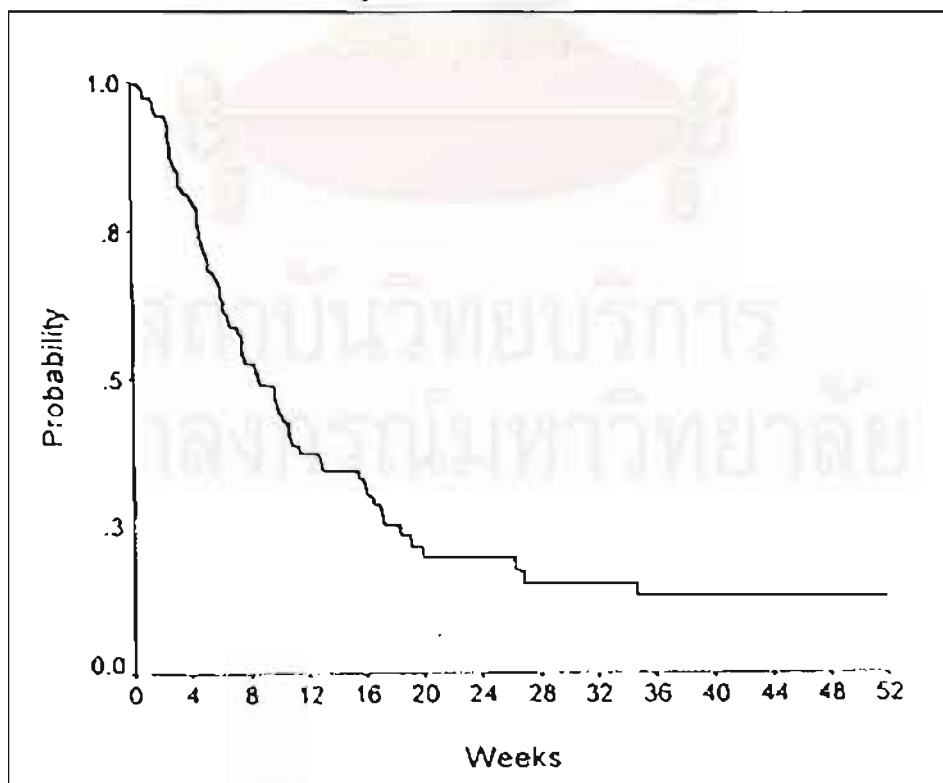
1. ระยะที่ 1 (TNM stage I) ก้อนมะเร็งตับมีขนาดไม่เกิน 2 ซม. การรักษาด้วยการผ่าตัดตัดตับหรือการฉีดเอทิลแอลกอฮอล์ (PEI) ให้ผลการรักษาในระยะยาวใกล้เคียงกัน ในรายที่มีตับแข็งร่วมด้วยการผ่าตัดเปลี่ยนตับก็ให้พยากรณ์โรคดีมากหรือในรายที่ผ่าตัดซ้ำได้มีอัตราการอยู่รอดที่ 5 ปีถึงร้อยละ 70
2. ระยะที่ 2 (TNM stage II) ก้อนมะเร็งตับมีขนาดเกินกว่า 2 ซม. และไม่มีอาการลุกลามหลอดเลือด การรักษาคัล้ายกับระยะที่ 1 แต่ให้พยากรณ์โรคแตกต่างกัน ปัจจัยที่สำคัญคือการมีตับแข็ง การรักษาด้วยการเปลี่ยนตับให้ผลใกล้เคียงกับการผ่าตัดตับ อัตราการรอดชีวิตที่ 3 ปีในผู้ที่ไม่มิตับแข็งเท่ากับร้อยละ 40 - 65 ในขณะที่ผู้มีตับแข็งเท่ากับร้อยละ 40 - 50 การฉีดเอทิลแอลกอฮอล์ในก้อนมะเร็งที่มีขนาดเกินกว่า 5 ซม. ให้ผลดีน้อยกว่าก้อนที่มีขนาดไม่เกิน 3 ซม. อย่างไรก็ตามการเปลี่ยนตับในระยะที่ 1 และ 2 (ก้อนเดี่ยวขนาดโตก็ตามแต่ต้องไม่มีการลุกลามหลอดเลือด)ก็อาจมีโอกาสนายขาดได้
3. ระยะที่ 3 (TNM stage III) ก้อนมะเร็งหลายก้อนแต่อยู่ในกึ่งเดียวอาจลุกลามหลอดเลือดหรือไม่ก็ได้และก้อนเดี่ยวแต่ลุกลามหลอดเลือด การรักษาด้วยการผ่าตัดเปลี่ยนตับให้การรักษาที่ดีกว่าการผ่าตัดตับ<sup>106,107</sup> (อัตราการอยู่รอดที่ 3 ปีในรายที่เปลี่ยนตับเท่ากับร้อยละ 40-60 ในรายที่ผ่าตัดตับเท่ากับร้อยละ 20-40) ในบางสถาบันมีการให้ยาเคมีบำบัด cisplatin หรือ cisplatin และ doxorubicin ฉีดเข้าทางก้อนมะเร็งผ่านทางหลอดเลือดแดงก่อนการผ่าตัดหรือการเปลี่ยนตับอย่างน้อย 3 ชุด
4. ระยะที่ 4A (TNM stage IVA) ก้อนมะเร็งทั้งสองกลีบหรือมีการลุกลามเข้าสู่หลอดเลือด main portal vein การให้ยาเคมีบำบัดก่อนแล้วดูผลการตอบสนอง ถ้าพบว่ามี partial response การผ่าตัดเปลี่ยนตับให้ผลการรักษาดีกว่า
5. ระยะที่ 4B (TNM stage IVB) ก้อนมะเร็งลุกลามออกนอกตับ ยังไม่พบวิธีการรักษาที่ได้ผล



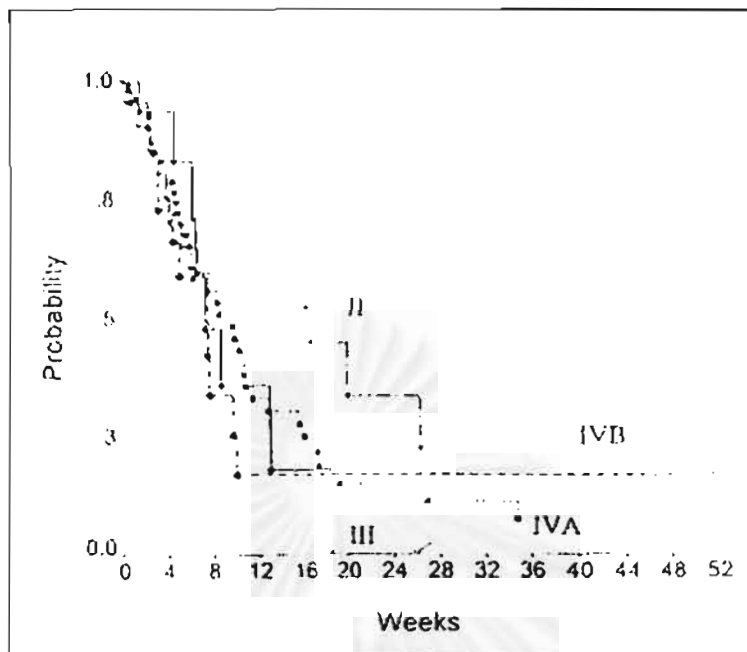
## 2.14 ข้อมูลผู้ป่วยมะเร็งตับชนิด HCC ที่มารับการวินิจฉัยและการรักษาในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

จากการศึกษาย้อนหลังในผู้ป่วยมะเร็งตับชนิด HCC ที่ได้รับการรักษาแบบประคับประคอง (supportive care) ในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์<sup>106</sup> จำนวน 157 ราย เป็นเพศชาย 129 ราย เพศหญิง 28 ราย (อัตราส่วนระหว่างเพศชายต่อเพศหญิงเท่ากับ 4.6 ต่อ 1) มัธยฐานของอายุเท่ากับ 50.9 ปี (พิสัย 14.1 ถึง 85.3 ปี) อาการและอาการแสดงที่พบบ่อยได้แก่ น้ำหนักลด (ร้อยละ 68.2) แน่นท้อง (ร้อยละ 62.5) ปวดท้อง (ร้อยละ 51.6) ตับโต (ร้อยละ 73.7) ท้องมาน (ร้อยละ 45.2) และดีซ่าน (ร้อยละ 40.6) ผู้ป่วยร้อยละ 18 พบว่าโรคมะเร็งตับอยู่ในระยะแพร่กระจาย โดยปอดเป็นอวัยวะที่มะเร็งแพร่กระจายไปมากที่สุด มีการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี ร่วมด้วยร้อยละ 70 ค่ามัธยฐานของระยะเวลาที่มีชีวิตโดยรวมเท่ากับ 8.7 สัปดาห์ภายหลังจากได้รับการวินิจฉัย แสดงดังรูปที่ 2.8 ถ้าแยกตามระยะโรคตามระบบ TNM พบว่า ระยะที่ 2 3 4A และ 4B มีค่ามัธยฐานของระยะเวลาที่มีชีวิตเท่ากับ 16.6, 7.3, 9.7 และ 7.3 สัปดาห์ตามลำดับ แสดงดังรูปที่ 2.9 หรือถ้าแยกตามระบบของ Okuda พบว่า Okuda 2 เท่ากับ 10.7 สัปดาห์ และ Okuda 3 เท่ากับ 7.3 สัปดาห์ แสดงดังรูปที่ 2.10 จากการวิเคราะห์ ปัจจัยต่าง ๆ โดยวิธี multivariate analysis พบว่า ระดับ total bilirubin และ albumin ในเลือดเป็นปัจจัยที่มีผลต่อระยะเวลาการมีชีวิตของผู้ป่วย สาเหตุของการเสียชีวิตในผู้ป่วยมะเร็งตับคือ เลือดออกในทางเดินอาหารส่วนบน (ร้อยละ 34.1) จากโรคมะเร็งและอาการที่เกี่ยวข้องกับโรคมะเร็งเช่น ภาวะ cachexia มีการตกเลือดจากก้อนมะเร็งแตก และมะเร็งแพร่กระจายไปอวัยวะอื่น (ร้อยละ 31.8) และเกิดภาวะตับวาย (ร้อยละ 25)

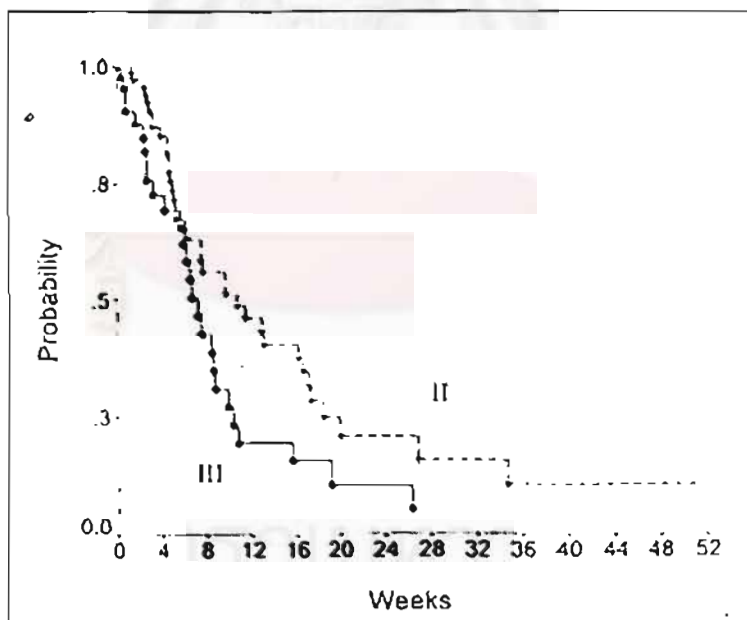
รูปที่ 2.8 กราฟแสดงระยะเวลาที่มีชีวิตของผู้ป่วยมะเร็งตับชนิด HCC ที่ให้การรักษาแบบประคับประคอง<sup>106</sup>



รูปที่ 2.9 กราฟแสดงระยะเวลามีชีวิตของผู้ป่วยมะเร็งตับชนิด HCC ที่ให้การรักษาแบบประคับประคอง โดยแบ่งระยะตามระบบ TNM<sup>106</sup>



รูปที่ 2.10 กราฟแสดงระยะเวลามีชีวิตของผู้ป่วยมะเร็งตับชนิดเฮปาโทเซลล์ูล่าคาร์ซิโนมาที่ให้การรักษาแบบประคับประคองโดยแบ่งระยะตามระบบ Okuda<sup>106</sup>



## 2.15 การตรวจคัดกรองโรคมะเร็งตับ (Screening for HCC)

จากการศึกษาโดย Beasley และคณะในผู้ชายไต้หวันที่มี HBsAg ให้ผลบวกในเลือดพบว่าอุบัติการณ์ของโรคมะเร็งตับชนิด HCC. เกิดขึ้น 495 รายต่อ 100,000 คนต่อปี หรือ 98 เท่าของคนที่ HBsAg ให้ผลลบ<sup>107</sup> ในอาสาสมัครที่อุบัติการณ์ของโรค HCC. เพิ่มสูงขึ้นในสองช่วงอายุคืออายุ 15-25 และ 40-65 ปี เนื่องมาจากการระบาดของการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี<sup>108</sup> และการศึกษาทางพยาธิวิทยาจากชิ้นเนื้อตับของผู้ป่วยที่มี HCC. ร่วมกับ HBsAg ให้ผลบวกพบว่า HCC. มักเกิดขึ้นในบริเวณรอบ ๆ ตับที่ถูกทำลายแล้วมีการเพิ่มของเซลล์ในภายหลัง โดยไม่จำเป็นต้องเกิดในบริเวณที่มี cirrhosis<sup>109</sup> จากการศึกษาผู้บริจาคโลหิตที่มีเชื้อไวรัสตับอักเสบบีแต่ไม่มีอาการในสภากาชาดอเมริกันพบว่า มีปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งตับ 12.7 เท่าเทียบกับผู้ที่ผล HBsAg เป็นลบ<sup>110</sup> จากข้อมูลต่าง ๆ เหล่านี้พบว่าผู้ที่ HBsAg ให้ผลบวกมีโอกาสเป็นมะเร็งตับสูงในผู้ชาย อายุมากกว่า 45 ปี มีประวัติครอบครัวเป็นโรคมะเร็งตับ หรือมีตับแข็งร่วมด้วย<sup>111</sup> เนื่องจากการรักษาที่ถือเป็นมาตรฐานเพื่อหวังผลในการหายขาดหรือช่วยเพิ่มระยะเวลาที่มีชีวิตของผู้ป่วยในปัจจุบันนี้คือการผ่าตัด แต่การผ่าตัดกระทำได้เฉพาะในผู้ป่วยมะเร็งตับระยะแรกเท่านั้นซึ่งผู้ป่วยระยะนี้มักไม่ปรากฏอาการ ดังนั้นการตรวจคัดกรองหาโรคมะเร็งตับเพื่อหา มะเร็งตับระยะเริ่มแรกจึงคาดว่าจะได้ประโยชน์แต่ก็ยังไม่มีการศึกษาเปรียบเทียบ ในปัจจุบันนี้ยังไม่มีวิธีการตรวจคัดกรองใดที่มีความแม่นยำและถูกต้องเกินกว่าร้อยละ 95 วิธีการที่ใช้ยู่คือ การตรวจเลือดหาระดับ  $\alpha$ -fetoprotein (AFP) และการตรวจอัลตราซาวด์ตับ<sup>37</sup> การตรวจอัลตราซาวด์มีความไว (sensitivity) มากกว่าการตรวจ AFP

แนวทางการตรวจคัดกรองหามะเร็งตับชนิด HCC ในผู้ป่วยตับแข็งและผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีและซี แสดงดังตารางที่ 2.9 แต่อย่างไรก็ตามผู้ป่วยจำนวน 1 ใน 3 ที่พบมะเร็งตับในระยะเริ่มแรกก็ไม่สามารถทำการผ่าตัดเนื่องจากการทำงานของตับไม่ดีหรือก้อนมะเร็งอยู่ในตำแหน่งที่ไม่สามารถผ่าตัดได้หมด

ตารางที่ 2.9 แนวทางการตรวจคัดกรองหามะเร็งตับชนิด HCC<sup>37</sup>

ระดับ ความเสี่ยง	กลุ่มผู้ป่วย	ความถี่ของการตรวจ	
		ระดับ AFP ในเลือด	อัลตราซาวด์ตับ
ระดับที่ 1	ผู้ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังที่มีอายุน้อยกว่า 40 ปี	ทุก 1-3 ปี	ทุก 1-3 ปี
ระดับที่ 2	ผู้ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังที่มีอายุมากกว่า 40 ปี	ทุก 6 เดือน	ทุก 12 เดือน
	ผู้ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังที่มีอายุมากกว่า 40 ปี	ทุก 6 เดือน	ทุก 6 เดือน
ระดับที่ 3	ผู้ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังและเป็นตับแข็ง	ทุก 3 เดือน	ทุก 6 เดือน
	ผู้ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังและเป็นตับแข็ง	ทุก 3 เดือน	ทุก 6 เดือน

หมายเหตุ ผู้ป่วยที่เป็นเพศชาย มีประวัติมะเร็งตับชนิด HCC ในครอบครัว หรือระดับ AFP สูงกว่า 20 นาโนกรัมต่อมล. ควรติดตามผู้ป่วยอย่างใกล้ชิด

## 2.16 การป้องกันโรคมะเร็งตับชนิด HCC

การป้องกันการเกิดโรคมะเร็งตับชนิด HCC ทำได้โดยการกำจัดปัจจัยในการก่อโรคมะเร็งตับเช่น งดดื่มสุรา ป้องกันการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี เป็นต้น ประเทศไทยเป็นประเทศแรกในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ที่มีโปรแกรมการฉีดวัคซีนป้องกันโรคไวรัสตับอักเสบบีให้แก่ทารกแรกเกิดทุกรายโดยเริ่มตั้งแต่ พ.ศ. 2535 (ค.ศ. 1992) เพื่อลดการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีแต่อย่างไรก็ตามกว่าที่จะเห็นผลในการลดอุบัติการณ์ของการเกิดโรคมะเร็งตับคงต้องใช้เวลาอีกนาน



### บทที่ 3

#### บททวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

Gazzeri S และคณะ<sup>35</sup> ตรวจสอบโปรตีน p16 ในผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดไม่ใช้เซลล์เล็ก (NSCLC) จำนวน 43 ราย โดยใช้การย้อมด้วยวิธี immunohistochemistry ให้เกณฑ์การย้อมติดสีในนิวเคลียสเกินกว่าร้อยละ 10 ถือว่าให้ผลบวก และไม่เกินร้อยละ 10 ถือว่าเป็นผลลบ พบว่าการย้อมโปรตีน p16 ให้ผลลบจำนวน 21 รายใน 43 ราย (ร้อยละ 49) โดยเป็นเซลล์ชนิด adenocarcinoma จำนวน 7 ใน 19 ราย (ร้อยละ 37) ชนิด squamous cell carcinoma จำนวน 9 ใน 16 ราย (ร้อยละ 56) และ basal cell carcinoma จำนวน 5 ใน 8 ราย (ร้อยละ 62) ในผู้ป่วยที่ให้ผลลบต่อการย้อมโปรตีน p16 จะทำการตรวจหาความผิดปกติของยีน P16 โดยใช้วิธี FISH เพื่อหาการขาดหายไปของยีน ใช้วิธี PCR-based methylation assay เพื่อหาความผิดปกติชนิด methylation ของ exon 1 $\alpha$  พบว่ามีความผิดปกติของยีน P16 แบบ frameshift หรือ missense mutation จำนวน 3 ราย (ร้อยละ 14) methylation ของ exon 1 $\alpha$  จำนวน 7 ราย (ร้อยละ 33) และ homozygous deletion จำนวน 10 ราย (ร้อยละ 48) จากการศึกษาี้แสดงถึงความสามารถในการใช้การตรวจโปรตีน p16 ด้วยวิธี immunohistochemistry เพื่อตรวจกรองหาความผิดปกติของยีน P16 ได้รวดเร็วและแม่นยำวิธีหนึ่ง แสดงดังตารางที่ 3.1

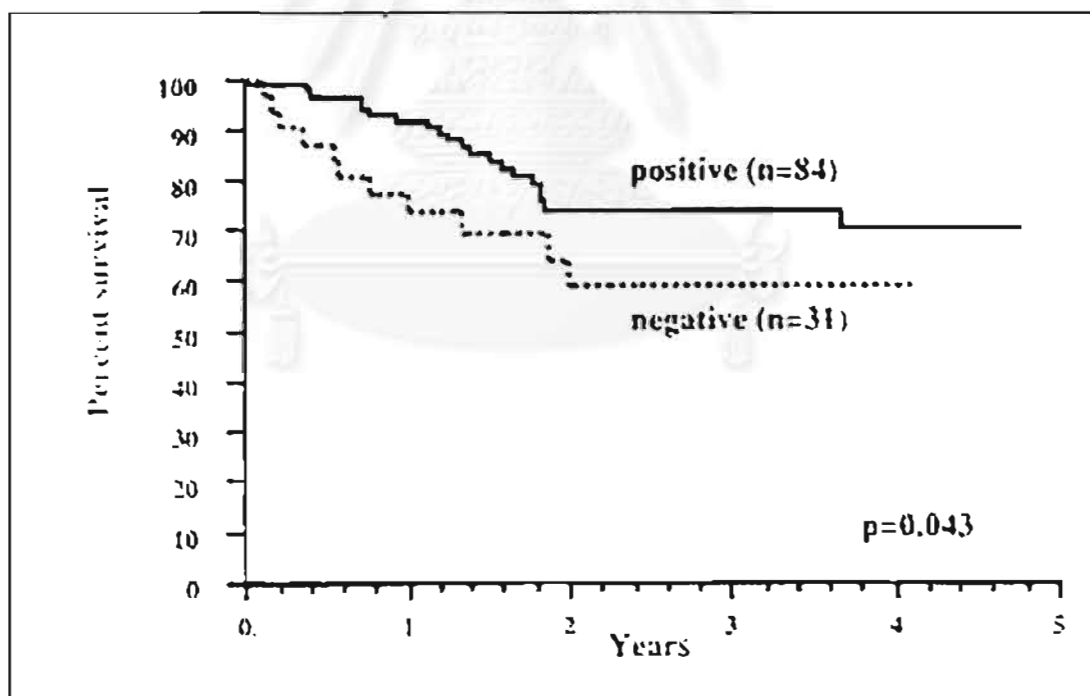
ตารางที่ 3.1 เปรียบเทียบความผิดปกติของยีน P16 กับการย้อมโปรตีน p16 ด้วยวิธี immunohistochemistry

การตรวจโปรตีน p16 ด้วยวิธี immunohistochemistry	ยีน P16		รวม
	ปกติ	ผิดปกติ	
ผลบวก	19	3	22
ผลลบ	2	19	21
รวม	21	22	43



Taga S. และคณะ<sup>26</sup> ทำการตรวจหาโปรตีน p16 ในเซลล์มะเร็งของผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดไม่ใช่เซลล์เล็ก (non-small cell lung cancer) ที่ได้รับการรักษาด้วยการผ่าตัดในระหว่างปี พ.ศ. 2534 ถึง 2537 (ค.ศ. 1991 ถึง 1994) โดยการย้อมโปรตีน p16 ด้วยเทคนิค immunohistochemistry จากชิ้นเนื้อมะเร็งปอดที่เก็บรักษาไว้ในพาราฟินจำนวน 115 ตัวอย่าง เกณฑ์ที่ใช้ตัดสินว่าตรวจไม่พบโปรตีน p16 คือ ย้อมติดสีนิวเคลียสของเซลล์มะเร็งปอดน้อยกว่าร้อยละ 10 พบว่าตรวจไม่พบโปรตีน p16 จำนวน 31 ตัวอย่าง (ร้อยละ 27) และพบว่าผู้ป่วยกลุ่มนี้มีลักษณะทางพยาธิเป็น squamous cell carcinoma (ร้อยละ 39.5) มากกว่า adenocarcinoma (ร้อยละ 20.3) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p=0.026$ ) รายละเอียดของปัจจัยต่าง ๆ ในกลุ่มผู้ป่วยที่พบและไม่พบโปรตีน p16 แสดงดังตารางที่ 3.2 และผู้ป่วยที่ตรวจไม่พบโปรตีน p16 มักมีอัตราการรอดชีวิตสั้นกว่ากลุ่มที่พบโปรตีน p16 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p=0.043$ ) แสดงดังรูปที่ 3.1

รูปที่ 3.1 แสดงกราฟระยะเวลาที่มีชีวิตของผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดไม่ใช่เซลล์เล็กแยกตามการตรวจพบและไม่พบโปรตีน p16 ในเซลล์มะเร็ง<sup>26</sup>



ตารางที่ 3.2 แสดงปัจจัยต่าง ๆ ทางคลินิกในผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดที่ไม่ใช่เซลล์เล็กแยกตามการตรวจพบโปรตีน p16 ในเซลล์มะเร็ง<sup>26</sup>

ปัจจัย	โปรตีน p16		ค่า p
	ไม่พบ (ร้อยละ)	พบ	
จำนวนผู้ป่วย	31 (27.0)	84	
อายุเฉลี่ย (ปี)	64.4	64.7	0.870
Brinkman index			
≥ 800	10 (35.7)	18	0.070
< 800	7 (17.1)	34	
เพศ			
เพศชาย	24 (30.8)	54	0.261
เพศหญิง	7 (18.9)	30	
ลักษณะทางพยาธิวิทยา			
adenocarcinoma	13 (20.3)	51	0.026 *
squamous cell carcinoma	17 (39.5)	26	
large cell carcinoma	1 (20.0)	4	
อื่น ๆ	0	3	
ระยะโรคมะเร็ง			
ระยะที่ 1	11 (21.6)	40	0.310 **
ระยะที่ 2	9 (52.9)	3	
ระยะที่ 3A	10 (23.8)	32	
ระยะที่ 3B	1 (20.0)	4	
Differentiation			
Well	4 (17.4)	19	0.179 ***
Moderate	15 (26.3)	42	
Poor	8 (36.4)	14	

Brinkman index คือจำนวนมวนบุหรี่ที่สูบต่อวัน คูณด้วยจำนวนปีที่สูบ

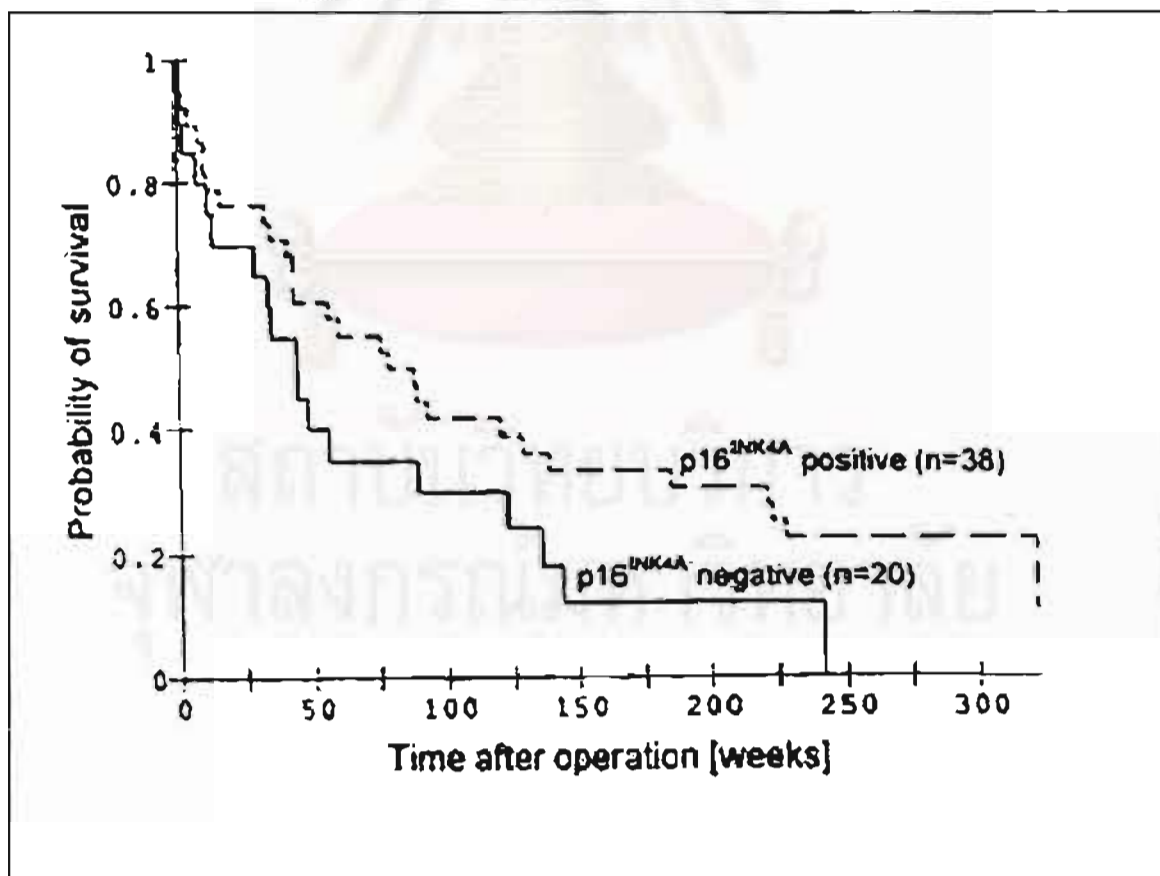
ค่า p ที่คำนวณระหว่าง \* adenocarcinoma กับ squamous cell carcinoma

\*\* ระยะที่ 1 และ 2 กับ ระยะที่ 3

\*\*\* poor differentiation กับชนิดอื่น

Volm M และคณะ<sup>27</sup> ศึกษาโปรตีน p16 ด้วยวิธี immunohistochemistry ในผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิด adenocarcinoma ที่เข้ารับการรักษาดังกล่าวด้วยวิธีการผ่าตัดจำนวน 58 ราย เป็นเพศชาย 48 รายและเพศหญิง 10 ราย อายุเฉลี่ยของผู้ป่วยเท่ากับ 57 ปี โดยเป็นระยะที่หนึ่งจำนวน 11 ราย ระยะที่สองจำนวน 5 ราย และระยะที่สามจำนวน 42 ราย ผู้ป่วยจำนวน 16 รายตรวจไม่พบเซลล์มะเร็งในต่อมน้ำเหลือง ผู้ป่วย 38 รายได้รับการผ่าตัดอย่างเดียวกและผู้ป่วย 17 รายได้รับการผ่าตัดและยาเคมีบำบัด ซึ่งจากการวิเคราะห์พบว่าการศึกษาไม่มิตผลต่อระยะเวลาที่มีชีวิตของผู้ป่วย ระยะเวลาติดตามผู้ป่วยอย่างต่ำ 5 ปี การแปลผลการย้อมโปรตีน p16 ในนิวเคลียสของเซลล์มะเร็งปอดอาศัยผู้อ่านผลจำนวน 3 คนซึ่งไม่ทราบข้อมูลทางคลินิกของผู้ป่วยแต่ละราย โดยมีความเห็นตรงกันร้อยละ 95 ของตัวอย่างชิ้นเนื้อที่ย้อมและแปลผลการย้อมได้สามแบบคือผลลบ (negative) ผลบวกเล็กน้อย (weakly positive) และผลบวกอย่างมาก (strongly positive) ผลการศึกษาพบว่าตรวจไม่พบโปรตีน p16 จำนวน 20 ราย (ร้อยละ 34.5) และผู้ป่วยในกลุ่มนี้มีค่ามัธยฐานของระยะเวลาการมีชีวิตสั้นกว่ากลุ่มที่ตรวจพบโปรตีน p16 (47 สัปดาห์ กับ 79 สัปดาห์) แสดงดังรูปที่ 3.2

รูปที่ 3.2 แสดงกราฟระยะเวลาที่มีชีวิตของผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิด adenocarcinoma แยกตามการตรวจพบและไม่พบโปรตีน p16 ในเซลล์มะเร็ง<sup>27</sup>



Minobe K และคณะ<sup>28</sup> ทำการศึกษาในประเทศญี่ปุ่นโดยตรวจก้อนมะเร็งเต้านมจากผู้ป่วยจำนวน 96 ราย พบว่ามี allelic loss บนโครโมโซมที่ 9 (ตำแหน่ง 9p21, 9q22.3 และ 9q33) จำนวน 37 ราย (ร้อยละ 39) การเกิด LOH ในตำแหน่งที่ 9q22.3 และ 9q33 พบว่ามีความสัมพันธ์กับการกระจายของมะเร็งไปยังต่อมน้ำเหลือง ในขณะที่การเกิด LOH ในตำแหน่ง 9p21 ซึ่งเป็นตำแหน่งของยีน P16 มีความสัมพันธ์กับการตรวจพบตัวรับโปรเจนเตอริน (progesterone receptor) รายละเอียดแสดงดังตารางที่ 3.3

ตารางที่ 3.3 ความสัมพันธ์ระหว่าง LOH บนโครโมโซมคู่ที่ 9p21 กับปัจจัยทางคลินิก<sup>28</sup>

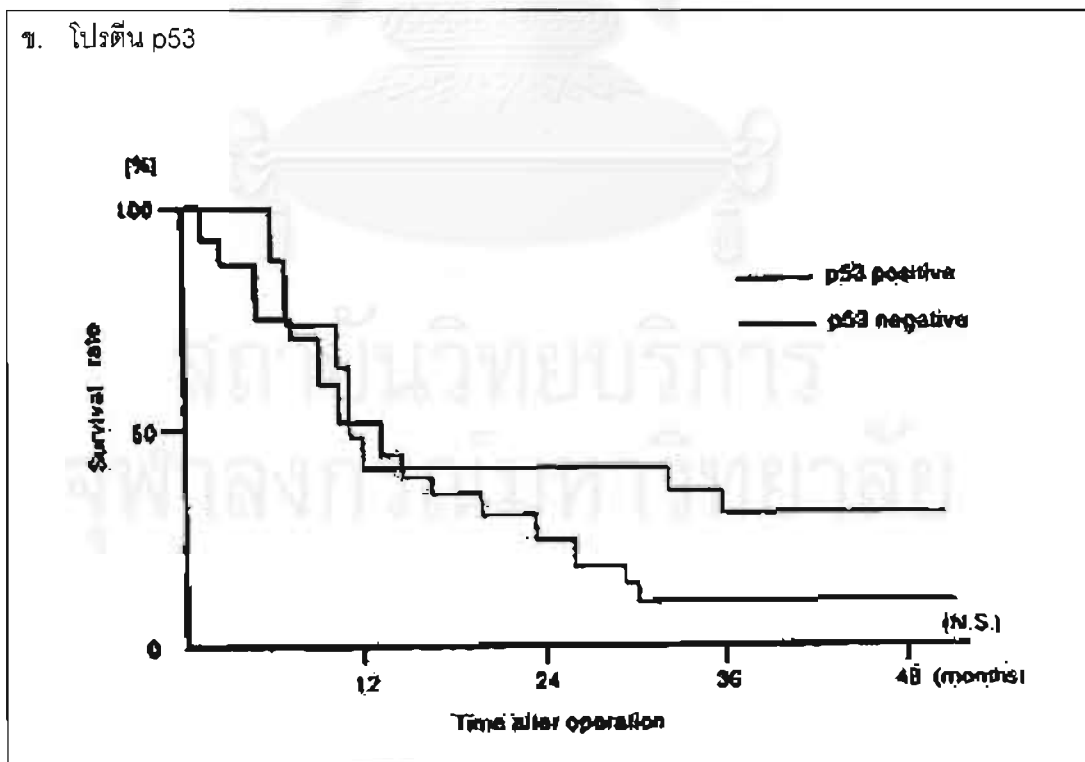
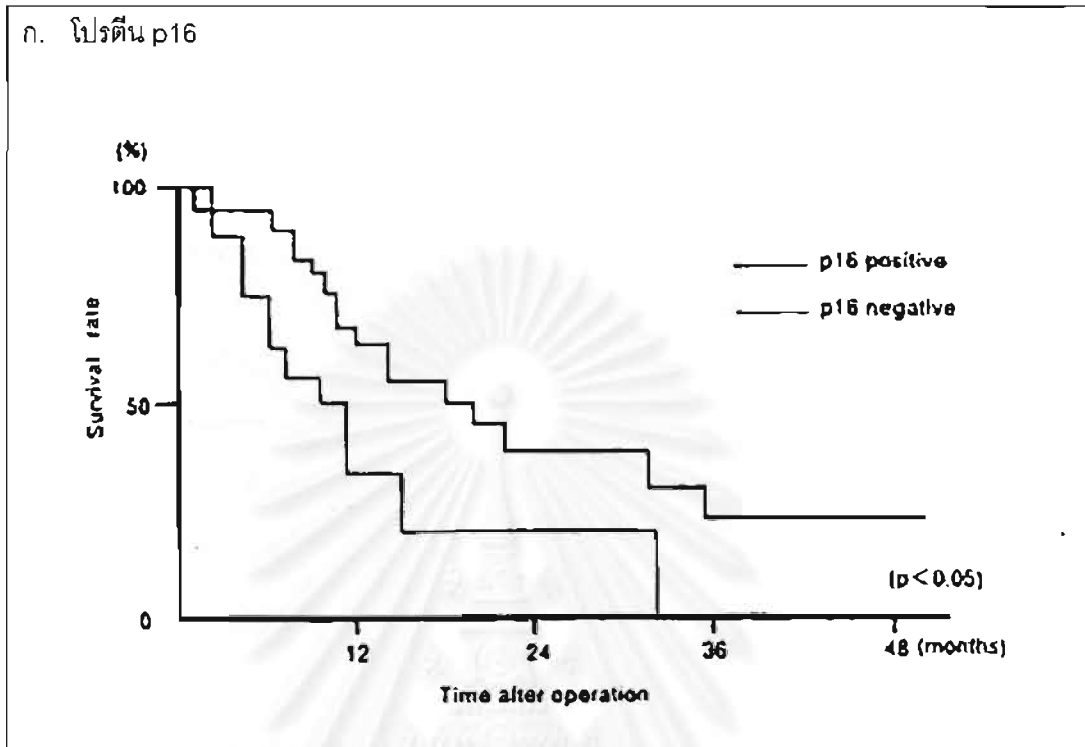
ปัจจัย	จำนวนตัวอย่าง	9p21		Statistical significance
		LOH(+)	LOH(-)	
ระยะ T				
T1	9	1	7	ไม่มีนัยสำคัญ
T2	66	10	36	
T3	15	3	8	
กระจายไปต่อมน้ำเหลือง				
พบ	35	2	21	ไม่มีนัยสำคัญ
ไม่พบ	55	13	32	
Estrogen receptor				
ผลบวก	34	7	21	ไม่มีนัยสำคัญ
ผลลบ	35	4	20	
Progesterone receptor				
ผลบวก	46	4	31	P=0.0196
ผลลบ	24	7	11	
ลักษณะทางพยาธิวิทยา				
intraductal carcinoma	1	0	1	ไม่มีนัยสำคัญ
papillotubular carcinoma	15	2	9	
solid-tubular carcinoma	34	5	19	
scirrhous carcinoma	32	7	19	

Naka T และคณะ<sup>112</sup> ศึกษาโปรตีน p16 กับการพยากรณ์โรคในมะเร็งตับอ่อน โดยศึกษาย้อนหลังในผู้ป่วยมะเร็งตับอ่อนชนิด adenocarcinoma จำนวน 32 รายที่ได้รับการรักษาที่โรงพยาบาลมหาวิทยาลัย Tottori ในประเทศญี่ปุ่นระหว่างปี ค.ศ. 1989 ถึง 1994 เป็นผู้ชาย 20 รายและผู้หญิง 12 ราย อายุเฉลี่ยของผู้ป่วยเท่ากับ 64.5 ปี (ระหว่าง 52 ถึง 79 ปี) ผู้ป่วยทุกรายได้รับการรักษาด้วยการผ่าตัดเพื่อหวังผลในการหายขาดจากโรคมะเร็งซึ่งได้แก่ การผ่าตัดชนิด pancreaticoduodenectomy จำนวน 21 ราย การผ่าตัดชนิด distal pancreatectomy จำนวน 9 ราย การผ่าตัดชนิด total pancreatectomy จำนวน 2 ราย ภายหลังจากผ่าตัดก้อนมะเร็งที่ตัดออกได้รับการเก็บรักษาไว้ในสารละลายฟอมาลินแล้วนำมาหุ้มด้วยพาราฟิน จากนั้นนำชิ้นเนื้อมาตัดให้หนาประมาณ 4 ไมครอนแล้วนำมาย้อมหาโปรตีน p16 และโปรตีน p53 ด้วยวิธี immunohistochemistry พบว่าก้อนมะเร็งตับอ่อนที่นำมาตรวจพบโปรตีน p16 จำนวน 19 ราย (ร้อยละ 59) ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างโปรตีน p16 กับลักษณะทางพยาธิวิทยา การแพร่กระจายไปต่อมน้ำเหลือง การลุกลามหลอดเลือด และ DNA ploidy พบโปรตีน p53 ในนิวเคลียสของเซลล์มะเร็งตับอ่อนในผู้ป่วยจำนวน 19 ราย (ร้อยละ 59) จากทั้งหมด 32 รายและโปรตีน p53 มีความสัมพันธ์กับระยะโรคมะเร็งคือพบโปรตีน p53 ในมะเร็งตับอ่อนระยะที่ 1 จำนวน 2 ใน 2 ราย (ร้อยละ 100) ระยะที่ 2 จำนวน 3 ใน 3 ราย (ร้อยละ 100) ระยะที่ 3 จำนวน 5 ใน 7 ราย (ร้อยละ 71) ระยะที่ 4A จำนวน 6 ใน 12 ราย (ร้อยละ 50) และระยะที่ 4B จำนวน 3 ใน 8 ราย (ร้อยละ 38) แสดงว่ายิ่งผู้ป่วยเป็นมะเร็งตับอ่อนระยะที่มากขึ้นจะตรวจพบโปรตีน p53 ลดลง แต่ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างโปรตีน p53 กับลักษณะทางพยาธิวิทยา การแพร่กระจายไปต่อมน้ำเหลือง และการลุกลามหลอดเลือด สำหรับการพยากรณ์โรคพบว่าผู้ป่วยที่ตรวจไม่พบโปรตีน p16 ในนิวเคลียสของเซลล์มะเร็งมีอัตราการรอดชีวิตสั้นกว่าผู้ป่วยที่ตรวจพบโปรตีน p16 แสดงดังรูปที่ 3.3 ก ส่วนโปรตีน p53 นั้นไม่มีความแตกต่างของอัตราการรอดชีวิตในผู้ป่วยที่ตรวจพบและไม่พบโปรตีน p53 ในเซลล์มะเร็ง แสดงดังรูปที่ 3.3 ข การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างโปรตีน p16 และโปรตีน p53 พบว่าไม่มีความสัมพันธ์กัน เมื่อพิจารณาผู้ป่วยจำนวน 5 รายที่มีระยะเวลามีชีวิตมากกว่า 3 ปีพบว่าเป็นผู้ป่วยที่มีมะเร็งอยู่ในระยะที่ 1 จำนวน 1 ราย ระยะที่ 3 และระยะที่ 4A จำนวนอย่างละ 2 ราย โดยที่ผู้ป่วยทั้ง 5 รายตรวจไม่พบโปรตีน p16 ในนิวเคลียสของเซลล์มะเร็ง แม้ว่าการศึกษานี้มีจำนวนตัวอย่างที่ตรวจน้อยแต่จากการวิเคราะห์ทางสถิติแสดงให้เห็นว่าโปรตีน p16 ในนิวเคลียสของเซลล์มะเร็งตับอ่อนสามารถใช้เป็นปัจจัยในการพยากรณ์โรคได้ (ข้อสังเกตจากการศึกษานี้คือไม่ได้ระบุเกณฑ์ในการตัดสินว่าการพบโปรตีน p16 อาศัยจำนวนนิวเคลียสที่ติดสีย้อมจำนวนมากเท่าไร)

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

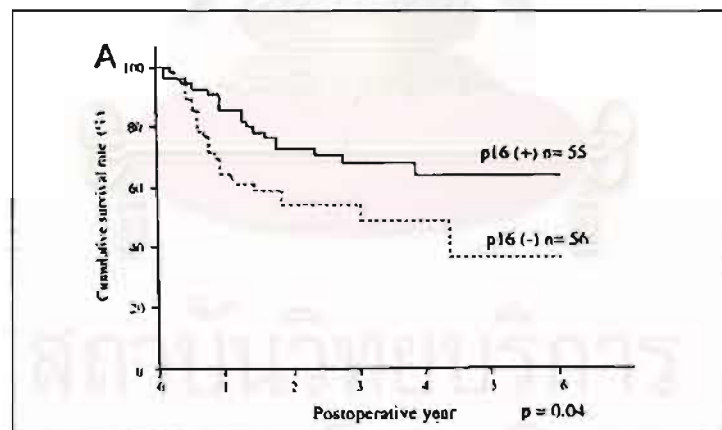


รูปที่ 3.3 แสดงระยะเวลาที่มีชีวิตของผู้ป่วยมะเร็งตับอ่อนที่ตรวจพบและไม่พบโปรตีน p16 (n) และโปรตีน p53 (ข) <sup>112</sup>



Takeuchi H และคณะ<sup>29</sup> ตรวจสอบ p16 และโปรตีน cyclin D1 ด้วยวิธี immunohistochemistry ในก้อนมะเร็งชนิด squamous cell carcinoma ของหลอดอาหารจากผู้ป่วยที่รับการรักษาด้วยการผ่าตัดเพื่อหวังผลหายขาดที่โรงพยาบาลมหาวิทยาลัย Keio จำนวน 111 ราย การย้อมโปรตีน p16 อาศัยเกณฑ์ที่ย้อมติดสีนิวเคลียสของเซลล์มะเร็งเกินกว่าร้อยละ 80 ถือว่าเป็นผลบวก ส่วนการย้อม cyclin D1 ต้องย้อมติดสีนิวเคลียสของเซลล์มะเร็งเกินกว่าร้อยละ 10 จึงจะถือว่าเป็นผลบวก ผลการศึกษาพบว่าตรวจไม่มีโปรตีน p16 จำนวน 56 ราย (ร้อยละ 50) เมื่อวิเคราะห์ปัจจัยทางคลินิกซึ่งได้แก่ อายุ เพศ ตำแหน่งของก้อนมะเร็ง ขนาดของก้อนมะเร็ง ลักษณะทางพยาธิวิทยา การลุกลามต่อมน้ำเหลืองและหลอดเลือด ไม่พบว่ามีความแตกต่างกันในกลุ่มผู้ป่วยที่ตรวจพบและไม่พบโปรตีน p16 แต่จำนวนต่อมน้ำเหลืองที่ตรวจพบเซลล์มะเร็งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญคือ กลุ่มที่ตรวจไม่พบโปรตีน p16 มีจำนวนต่อมน้ำเหลืองที่พบเซลล์มะเร็งเฉลี่ย  $6.2 \pm 1.4$  และในกลุ่มที่ตรวจพบโปรตีน p16 มีค่าเฉลี่ย  $2.7 \pm 0.7$  ( $p = 0.04$ ) และระยะเวลาการมีชีวิตในกลุ่มที่ตรวจไม่พบโปรตีน p16 สั้นกว่ากลุ่มที่ตรวจพบโปรตีน p16 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p = 0.04$ ) แสดงดังรูปที่ 3.4 ส่วนการตรวจพบและไม่พบโปรตีน cyclin D1 ไม่มีความแตกต่างกันในปัจจัยดังกล่าว ความสัมพันธ์ระหว่างโปรตีน p16 กับโปรตีน cyclin D1 พบว่าถ้าตรวจพบโปรตีน p16 มักตรวจไม่พบโปรตีน cyclin D1 รายละเอียดแสดงดังตารางที่ 3.4

รูปที่ 3.4 แสดงระยะเวลาการมีชีวิตของผู้ป่วยมะเร็งหลอดอาหารชนิด squamous cell carcinoma ที่ตรวจพบและไม่พบโปรตีน p16 ในก้อนมะเร็ง<sup>29</sup>



ตารางที่ 3.4 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างการตรวจพบโปรตีน p16 กับโปรตีน cyclin D1<sup>29</sup>

โปรตีน p16	โปรตีน cyclin D1		รวม
	ตรวจพบ	ตรวจไม่พบ	
ตรวจพบ	8 (ร้อยละ 29)	47 (ร้อยละ 57)	55
ตรวจไม่พบ	20 (ร้อยละ 71)	36 (ร้อยละ 43)	56
รวม	28 (ร้อยละ 100)	83 (ร้อยละ 100)	111

$P = 0.03$ .  $\chi^2$  test

Lydiatt WM และคณะ<sup>30</sup> ทำการศึกษาความผิดปกติของยีนพี16 ด้วยวิธีการวิเคราะห์หา LOH ในผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและคอชนิด squamous cell carcinoma ที่ได้รับการรักษาด้วยการผ่าตัดจำนวน 42 ราย แล้วติดตามผู้ป่วยเพื่อตรวจหาการกลับเป็นซ้ำของโรคมะเร็ง พบว่าผู้ป่วยจำนวน 17 ใน 42 ราย (ร้อยละ 45) มี LOH ของโครโมโซมคู่ที่ 9p อย่างน้อยหนึ่งตำแหน่ง สามารถติดตามผู้ป่วยเพื่อตรวจหาการกลับเป็นซ้ำได้ 32 ราย เมื่อเปรียบเทียบกลุ่มผู้ป่วยที่พบการขาดหายไปของยีนในตำแหน่ง 9p21 กลับกลุ่มผู้ป่วยที่ไม่พบความผิดปกตินี้พบว่ากลุ่มผู้ป่วยที่มีการขาดหายไปของยีนในตำแหน่ง 9p21 มีการกลับเป็นซ้ำของโรคมะเร็งทั้งแบบเฉพาะที่และแพร่กระจายมากกว่า (12/15 กับ 4/17 ราย,  $p < 0.0025$ ) โดยที่ไม่มีความแตกต่างกันในอายุ เพศ การสูบบุหรี่ และการแพร่กระจายไปต่อมน้ำเหลืองในผู้ป่วยทั้งสองกลุ่ม รายละเอียดแสดงดังตารางที่ 3.5

ตารางที่ 3.5 เปรียบเทียบปัจจัยที่มีผลต่อการขาดหายไปของยีน P16 ในมะเร็งของศีรษะและคอ<sup>30</sup>

ปัจจัย	9p21 deletion		ความแตกต่าง
	มี	ไม่มี	
อายุ (มัธยฐาน, ปี)	62.5	64.5	ไม่มีนัยสำคัญ
เพศ (ชาย : หญิง)	3 : 12	4 : 13	ไม่มีนัยสำคัญ
ไม่สูบบุหรี่	5 / 15	2 / 17	ไม่มีนัยสำคัญ
postoperative respiratory therapy	10 / 15	12 / 17	ไม่มีนัยสำคัญ
positive margins	all negative	One positive	ไม่มีนัยสำคัญ
T stage (3/4)	6 / 15	9 / 17	ไม่มีนัยสำคัญ
Recurrence	12 / 15	4 / 17	$p < 0.0025$
N0 / N+	8 / 7	5 / 12	ไม่มีนัยสำคัญ

NO = ไม่มีการแพร่กระจายของมะเร็งไปต่อมน้ำเหลือง  
 N+ = มีการแพร่กระจายของมะเร็งไปต่อมน้ำเหลือง

Sparrow LE และคณะ<sup>113</sup> ตรวจสอบโปรตีน p16 ในมะเร็งไฝดำ (melanoma) ระยะต่าง ๆ และในไฝ โดยการย้อมโปรตีน p16 ด้วยวิธี immunohistochemistry ในชิ้นเนื้อที่เก็บรักษาไว้ในพาราฟิน ถ้าผลการย้อมนิวเคลียสติดสีน้อยกว่าร้อยละ 5 ถือว่าเป็นผลลบหรือตรวจไม่พบโปรตีน p 16 ผลการศึกษาพบว่าตรวจไม่พบโปรตีน p16 ในไฝ 4 ใน 35 ราย (ร้อยละ 11) ในมะเร็งไฝดำระยะ in situ 1 ใน 12 ราย (ร้อยละ 8) ในมะเร็งไฝดำระยะลุกลาม (Invasive primary melanoma) 19 ใน 38 ราย (ร้อยละ 50) และในมะเร็งไฝดำระยะแพร่กระจาย 9 ใน 25 ราย (ร้อยละ 36) แสดงรายละเอียดดังตารางที่ 3.6 เมื่อวิเคราะห์ระดับของมะเร็งระยะลุกลามตาม Clark's level และความหนาของรอยโรคพบว่าไม่มีความสัมพันธ์ระหว่างการโปรตีน p16 กับ Clark's level แสดงดังตารางที่ 3.7 สรุปได้ว่าตรวจไม่พบโปรตีน p16 ในมะเร็งระยะลุกลามและระยะแพร่กระจายมากกว่าในมะเร็งระยะ in situ และในไฝ เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างที่ไม่พบโปรตีน p16 ทางสถิติพบว่า ค่า  $p < 0.001$  ในไฝกับมะเร็งไฝดำระยะที่มีการลุกลาม  $p = 0.006$  ในมะเร็งระยะ in situ กับระยะลุกลาม และ  $p = 1$  ในไฝกับมะเร็งระยะ in situ  $p = 0.20$  ในมะเร็งระยะลุกลามกับระยะแพร่กระจาย



ตารางที่ 3.6 แสดงการวิเคราะห์โปรตีน p16 ที่ย้อมด้วยวิธี immunohistochemistry ในรอยโรคที่มีต้นกำเนิดมาจากเซลล์เมโลโนไซต์ (melaoncytic lesions) <sup>113</sup>

รอยโรค	P16 expression					
	จำนวน (ราย)	ผลบวก (ร้อยละ)	น้อยกว่า ร้อยละ 5	ร้อยละ 5 - 25	ร้อยละ 26 - 50	มากกว่า ร้อยละ 50
Nevi	35	31 (89)				
• Common	15	14 (93)	1	9	5	-
• Dysplastic	15	13 (87)	2	11	2	-
• spitz	5	4(80)	1	3	1	-
Primary melanoma	50	30 (60)				
• In situ	12	11 (92)	1	5	3	3
• invasive	38	19 (50)	19	7	12	-
metastases	25	16 (64)	9	10	6	-

ตารางที่ 3.7 แสดงการพบโปรตีน p16 ในรอยโรคปฐมภูมิของมะเร็งไฝดำกับความหนาและระดับของก้อนมะเร็ง <sup>113</sup>

Primary melanoma	P16 expression					
	จำนวน (ราย)	ผลบวก (ร้อยละ)	น้อยกว่า ร้อยละ 5	ร้อยละ 5 - 25	ร้อยละ 26 - 50	มากกว่า ร้อยละ 50
In situ	12	92	1	5	3	3
Invasive	38					
• Level II	10	40	6	2	2	-
• Level III	7	28	5	-	2	-
• Level IV/V	21	64	8	5	8	-
Thickness (mm)						
• 0.01 – 0.75	13	23	10	1	2	-
• 0.76 – 1.50	8	38	5	-	3	-
• 1.51 – 3.00	9	77	2	3	4	-
• > 3.00	8	50	4	2	2	-

\* เซลล์ที่ให้ผลบวกต่อการย้อมน้อยกว่าร้อยละ 5 จัดอยู่ในกลุ่มที่ไม่พบโปรตีนพี16



Villuendas R. และคณะ<sup>114</sup> วิเคราะห์หาความผิดปกติของยีน *P16* และโปรตีน p16 ในมะเร็งต่อมน้ำเหลืองชนิด non-Hodgkin's lymphoma (NHL) ชนิดต่าง ๆ โดยตรวจหาโปรตีน p16 ด้วยวิธี immunohistochemistry ผลปรากฏว่าตรวจไม่พบโปรตีน p16 ในชั้นเนื้อจากผู้ป่วย 41 รายจากทั้งหมด 112 ราย (ร้อยละ 37) และผู้ป่วยที่ตรวจไม่พบโปรตีน p16 ทั้งหมด 41 รายนี้เป็นมะเร็งชนิด high grade และส่วนใหญ่มะเร็งมีการเปลี่ยนแปลงจาก mucosa-associated lymphoid tissue low-grade lymphoma (31 ใน 37 ราย) หรือ follicular lymphoma (4 ใน 4 ราย) ไปเป็นชนิด diffuse large B cell lymphoma ในขณะที่กลุ่มผู้ป่วยที่ตรวจพบโปรตีน p16 ในเซลล์มะเร็งมักเป็นมะเร็งต่อมน้ำเหลือง NHL ชนิด low grade และเซลล์มะเร็งเป็นชนิด B cell มากกว่า T cell จากการวิเคราะห์ยีน *P16* พบว่ามีความแตกต่างของชนิดความผิดปกติที่พบคือ พบ methylation ของ 5'-CpG island จำนวน 6 ใน 23 ราย (ร้อยละ 26) allelic loss ของโครโมโซมคู่ที่ 9p21 จำนวน 3 ใน 16 ราย (ร้อยละ 19) และ nonsense mutation จำนวน 1 ใน 26 ราย (ร้อยละ 4) ผู้ป่วยทุกรายที่พบความผิดปกติของยีน *P16* จะตรวจไม่พบโปรตีน p16 ด้วย และผู้ป่วยที่ตรวจพบโปรตีน p16 จะไม่พบความผิดปกติของยีน *P16* จากการศึกษาสรุปได้ว่าการตรวจไม่พบโปรตีน p16 ในเซลล์มะเร็งต่อมน้ำเหลืองชนิด NHL มีส่วนเกี่ยวข้องกับ tumor progression และความผิดปกติของยีน *P16* ที่พบบ่อยในมะเร็งชนิดนี้คือการเกิด methylation ของ 5'-CpG island และ allelic loss เกณฑ์ที่ใช้ในการตัดสินว่าไม่พบโปรตีน p16 คือนิวเคลียสของเซลล์มะเร็งติดสีย้อมน้อยกว่าร้อยละ 5 หรือ บริเวณที่ติดสีย้อมเป็นเพียงบางแห่งและไม่เกินร้อยละ 80 ในขณะที่เซลล์เม็ดโลหิตขาวชนิด lymphocyte และเซลล์เยื่อบุผนังหลอดเลือด (endothelial cell) ติดสีย้อมซึ่งถือเป็น internal positive control ส่วนเกณฑ์ที่ใช้ในการตัดสินว่าพบโปรตีน p16 คือนิวเคลียสของเซลล์มะเร็งติดสีย้อมมากกว่าร้อยละ 80 ความสัมพันธ์ระหว่างโปรตีน p16 กับความผิดปกติของยีน *P16* แสดงดังตารางที่ 3.8 ซึ่งพบว่าถ้าตรวจไม่พบโปรตีน p16 จากการย้อมด้วยวิธี immunohistochemistry แล้วมีความสัมพันธ์อย่างมากที่จะตรวจพบความผิดปกติของยีน *P16* ชนิดใดชนิดหนึ่ง

ตารางที่ 3.8 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างโปรตีน p16 กับความผิดปกติของยีน *P16* ในมะเร็งต่อมน้ำเหลืองชนิด Non-Hodgkin

	จำนวนผู้ป่วย (ราย)	ความผิดปกติของยีน <i>P16</i>		
		Mutation	Methylation	Alleic loss
ไม่พบโปรตีน p16	13	1/13	6/12	3/9
พบโปรตีน p16	13	0/13	0/11	0/7

Hu YX และคณะ<sup>115</sup> ศึกษาโปรตีน p16 จากการตรวจชิ้นเนื้อตับอ่อนของผู้ป่วยที่เก็บรักษาไว้ใน พาราฟินด้วยวิธี Immunohistochemistry โดยใช้ monoclonal antibody ต่อโปรตีน p16 ปรากฏว่าตรวจ ไม่พบโปรตีน p16 ในโรคของตับอ่อนดังต่อไปนี้

- ตับอ่อนปกติ 0 ใน 6 ราย (ร้อยละ 0.0)
- ตับอ่อนอักเสบเรื้อรัง 19 ใน 20 ราย (ร้อยละ 95.0)
- เนื้อเยื่อของตับอ่อน cystadenoma 3 ใน 8 ราย (ร้อยละ 37.5)
- มะเร็งของตับอ่อน 26 ใน 62 ราย (ร้อยละ 41.9)

ผู้ป่วยมะเร็งของตับอ่อนที่ตรวจไม่พบโปรตีน p16 มักมีการแพร่กระจายของมะเร็งมากกว่าและระยะเวลา การมีชีวิตอยู่สั้นกว่ากลุ่มที่ตรวจพบโปรตีน p16

Kita R. และคณะ<sup>33</sup> ทำการศึกษาที่มหาวิทยาลัย Kyoto ในประเทศญี่ปุ่นโดยตรวจหาความผิดปกติของยีน p16 ด้วยวิธี Southern blot hybridization และ PCR-SSCP ในมะเร็งตับชนิด HCC-62 ตัวอย่าง มะเร็งตับชนิด cholangiocarcinoma 5 ตัวอย่าง และใน cell lines 6 ตัวอย่าง ผลการศึกษา ตรวจไม่พบความผิดปกติของยีน p16 ชนิด homozygous deletion ในตัวอย่างที่ตรวจเลย พบ intragenic mutation ชนิด frameshift ในตำแหน่ง exon 2 ในมะเร็งตับชนิด HCC จำนวน 3 ตัวอย่าง (ร้อยละ 5) และใน HCC cell line 1 ตัวอย่าง (ร้อยละ 17)

Hui AM และคณะ<sup>25</sup> ทำการตรวจหาโปรตีน p16 ด้วยวิธี immunoprecipitation และ western blot analysis ในมะเร็งตับชนิด HCC โดยการตรวจก้อนมะเร็ง HCC จากตับจำนวน 32 ตัวอย่างและจาก hepatocellular carcinoma cell lines จำนวน 6 ตัวอย่าง ทำการศึกษาในประเทศญี่ปุ่น ผลการศึกษาพบว่าตรวจไม่พบโปรตีน p16 ในก้อนมะเร็งจากตับจำนวน 11 ตัวอย่างจาก 32 ตัวอย่าง (ร้อยละ 34) รายละเอียดดังตารางที่ 3.9 และไม่พบโปรตีน p16 ใน HCC cell lines 3 จาก 6 ตัวอย่าง (ร้อยละ 50) แต่ตรวจพบโปรตีน p16 ในเซลล์ตับปกติแสดงว่ายีน *P16* มีส่วนเกี่ยวข้องในการเกิดมะเร็งตับ จากการศึกษาที่สรุปว่ายีน *P16* เกี่ยวข้องกับการเกิดมะเร็งตับตั้งแต่ระยะเริ่มแรก เพราะร้อยละ 22 ของก้อนมะเร็งตับระยะแรกตรวจไม่พบโปรตีน p16 และเมื่อก้อนมะเร็งโตขึ้นในระยะที่โรคเป็นมากจำนวนตัวอย่างที่ตรวจไม่พบโปรตีน p16 เป็นสองเท่าของระยะเริ่มแรก (ร้อยละ 40) การตรวจหาความผิดปกติของยีน *P16* ในก้อนมะเร็งและใน HCC cell lines ที่ตรวจไม่พบโปรตีน p16 พบว่าไม่พบความผิดปกติของยีน *P16* ชนิด homozygous deletion และ mutation แต่ตรวจไม่พบ mRNA ของยีน *P16* ทำให้สันนิษฐานว่าความผิดปกติที่เกิดขึ้นในมะเร็งตับไม่ใช่เกิดจากความผิดปกติของยีน *P16* แต่เป็นความผิดปกติของ mRNA อย่างไรก็ตามข้อสรุปจากการศึกษานี้ อาจไม่ถูกต้องเพราะไม่ได้ทำการตรวจความผิดปกติของยีน *P16* ชนิด methylation ซึ่งเป็นความผิดปกติชนิดหนึ่งที่เกิดกับยีน *P16* และตรวจพบในความผิดปกติในมะเร็งชนิดอื่นได้ ทำให้การสร้างโปรตีน p16 ผิดปกติไป

ตารางที่ 3.9 แสดงร้อยละของการตรวจไม่พบโปรตีน p16 ในมะเร็งตับชนิดชนิด HCC<sup>25</sup>

ชนิดของก้อนมะเร็งที่ตรวจ	จำนวนตัวอย่างที่ตรวจ	จำนวนการตรวจไม่พบโปรตีน p16
ก้อนมะเร็งระยะเริ่มแรก (early)	9	2 (ร้อยละ 22)
ก้อนมะเร็งที่เกิดใหม่ในก้อนมะเร็งเดิม (nodule-in-nodule)	3	1 (ร้อยละ 33)
ก้อนมะเร็งระยะเป็นมาก (advanced)	20	8 (ร้อยละ 40)
รวมทั้งหมด	32	11 (ร้อยละ 34)

Piao Z. และคณะ<sup>31</sup> ศึกษา LOH homozygous deletions และ mutation ของยีน *P16* ใน มะเร็งตับชนิด HCC จำนวน 41 ตัวอย่าง จากการใช้ polymorphic microsatellite markers จำนวน 8 ชนิด ไม่พบ mutation ภายในยีน *P16* จากการวิเคราะห์ด้วยวิธี PCR-SSCP เพื่อหาการกลายพันธุ์ของ ตำแหน่ง exon 1 และ exon 2 ของยีน *P16* พบ homozygous deletion จำนวน 25 จาก 41 ตัวอย่าง (ร้อยละ 61) ด้วยวิธี comparative multiplex PCR และไม่พบโปรตีน p16 จำนวน 5 จาก 9 ตัวอย่าง (ร้อยละ 55.6) จากการวิเคราะห์ด้วยวิธี western blot ซึ่งในตัวอย่างก้อนมะเร็งที่ตรวจไม่พบโปรตีน p16 นั้นพบว่ามี homozygous deletion จำนวน 3 ตัวอย่าง และ LOH จำนวน 2 ตัวอย่าง อย่างไรก็ตามไม่พบความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญระหว่าง homozygous deletion กับปัจจัยทางคลินิกคือ ความผิดปกติของโครโมโซมคู่ที่ 9p และ differentiation ของเซลล์ แต่ homozygous deletion ของยีน *P16* พบได้บ่อยในก้อนมะเร็งตับที่มีขนาดเล็กกว่า 3 เซนติเมตรอย่างมีนัยสำคัญ ( $p = 0.4$ ) แสดงดังตารางที่ 3.10

ตารางที่ 3.10 ลักษณะทางคลินิกของมะเร็งตับชนิดเฮปาโตเซลล์ลู่อำนาจคาร์ซิโนมาที่ตรวจพบและไม่พบ homozygous deletion ของยีน *P16*<sup>31</sup>

Homozygous deletions ของยีน <i>P16</i>	ขนาดของก้อนมะเร็ง (ซม.) *		Differentiation **		ยีน <i>P16</i> ***	
	≤ 3	> 3	well	poor	LOH (+)	LOH (-)
พบ	7	18	15	10	13	12
ไม่พบ	2	14	4	12	8	8

LOH = loss of heterozygosity, Well = well-differentiated HCC, Poor = poorly-differentiated HCC

\*  $p = 0.4$ , \*\*  $p = 0.06$ , \*\*\*  $p = 1.0$

## วิธีดำเนินการวิจัย

### รูปแบบการวิจัย (Research Design)

การศึกษานี้เป็นการศึกษาเชิงพรรณนา (descriptive study) และเป็นการศึกษาย้อนหลัง (retrospective study) มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปัจจัยทางคลินิกที่เกี่ยวข้องโรคมะเร็งตับชนิด HCC ในกลุ่มที่ตรวจพบและไม่พบโปรตีน p16 โดยมีจุดมุ่งหมายลักษณะเพื่อศึกษาความแตกต่างของระยะเวลาการมีชีวิตของผู้ป่วยทั้งสองกลุ่ม วิธีดำเนินการวิจัยแบ่งออกเป็น 4 ขั้นตอน คือ

- ขั้นตอนที่ 1 การวางแผนและเตรียมการก่อนดำเนินงาน
- ขั้นตอนที่ 2 ดำเนินงานการศึกษาวิจัย
- ขั้นตอนที่ 3 วิเคราะห์ข้อมูล
- ขั้นตอนที่ 4 อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

#### 4.1 ขั้นตอนที่หนึ่ง การวางแผนและเตรียมการก่อนดำเนินงาน

##### 4.1.1 ทบทวนเอกสารและวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

เพื่อให้เกิดความรู้และความเข้าใจในการดำเนินการศึกษาวิจัย ข้อมูลทางคลินิกของผู้ป่วยที่ต้องเก็บรวบรวม และวิธีการย้อมโปรตีน p16 ในชิ้นเนื้อจากมะเร็งตับรวมทั้งการแปลผลทางห้องปฏิบัติการ

##### 4.1.2 การคัดเลือกประชากรและกลุ่มตัวอย่าง

###### 4.1.2.1 ประชากรและตัวอย่าง (Population and Sample)

###### ▪ ประชากรตัวอย่าง

ผู้ป่วยโรคมะเร็งตับชนิดเฮปาโตเซลล์ลูคาร์ซิโนมาในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ที่ได้รับการวินิจฉัยด้วยการตรวจชิ้นเนื้อทางพยาธิวิทยา

###### ▪ กฎเกณฑ์การคัดเลือกเข้ามาศึกษา

ผู้ป่วยมะเร็งตับชนิดเฮปาโตเซลล์ลูคาร์ซิโนมาที่ได้รับการวินิจฉัยด้วยการตรวจชิ้นเนื้อจากก้อนมะเร็งในตับทางพยาธิวิทยาในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

###### ▪ กฎเกณฑ์ในการตัดออกจากการศึกษา



- การวินิจฉัยโรคทางพยาธิวิทยาไม่ชัดเจน
- มีมะเร็งชนิดอื่นร่วมด้วย (secondary malignancy)
- ไม่สามารถค้นหาชิ้นเนื้อที่เก็บไว้มาตรวจได้หรือชิ้นเนื้อที่เหลือไม่เพียงพอในการตรวจ

#### 4.1.2.2 การคำนวณขนาดตัวอย่าง

$$n / \text{group} = \frac{2 (Z_{\alpha} + Z_{\beta})^2 \pi' (1 - \pi')}{(\pi_c - \pi_t)^2}$$

$$Z_{\alpha} = Z_{.05/2} = 1.645 \text{ (one-tailed)}$$

$$Z_{\beta} = Z_{.20} = 0.84$$

$$\pi_c = \text{คาดว่าอัตราการรอดชีวิตที่ 6 เดือนในกลุ่มที่พบโปรตีน P16 เท่ากับ 0.7}$$

$$\pi_t = \text{คาดว่าอัตราการรอดชีวิตที่ 6 เดือนในกลุ่มที่ไม่พบโปรตีน P16 เท่ากับ 0.3}$$

(จากการศึกษาระยะเวลาการมีชีวิตรอดของผู้ป่วยมะเร็งตับชนิดเฮปาโตเซลล์ลูมาในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ พบว่า มีอัตราการรอดชีวิตที่ 6 เดือนเท่ากับ 0.5)

$$\pi' = (\pi_c + \pi_t) / 2 = (0.7 + 0.3) / 2 = 0.5$$

$$\begin{aligned} n / \text{group} &= \frac{2 (1.645 + 0.84)^2 (0.5) (1 - 0.5)}{(0.7 - 0.3)^2} \\ &= 19.3 \end{aligned}$$

ขนาดตัวอย่างต้องใช้อย่างน้อยกลุ่มละ 20 ตัวอย่าง

## 4.2 ขั้นตอนที่สอง ดำเนินงานการศึกษาวิจัย

### 4.2.1 การสังเกตและการวัด (Observation and Measurement)

นำชิ้นเนื้อมะเร็งตับที่ได้จากการเจาะตับเพื่อการวินิจฉัย ซึ่งเก็บไว้ในฟาราฟินมาย้อมหาโปรตีน p16 ในเซลล์มะเร็ง โดยการย้อมด้วยวิธี immunohistochemistry แบ่งเป็นหลายขั้นตอนดังนี้

- Specimen preparation ตัดชิ้นเนื้อที่เก็บรักษาไว้ในฟาราฟิน (formalin-fixed, paraffin-embedded specimens) โดยให้มีความหนา 4 ไมครอน ติดบนสไลด์แก้วที่เคลือบด้วยสาร poly-L-lysine เพื่อป้องกันการหลุดหายของเซลล์หรือชิ้นเนื้อในระหว่างขั้นตอนการทำ

- Dewaxing ล้างเอาพาราฟิน (paraffin) ออกจากชิ้นเนื้อโดยการ incubate ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส 1 คืน แล้วล้างด้วย Xylene 10 นาทีรวม 3 ครั้ง
- Dehydration ด้วยสารละลายเอทิลแอลกอฮอล์ (95% ethanol) จำนวน 3 ครั้ง
- Washing ล้างด้วยน้ำกลั่น
- Antigen unmasking <sup>16</sup> เนื่องจากมีการ fixative โดย formalin เพื่อกำจัด methylene bridges ที่เกิดขึ้นจากขบวนการ fixation จึงมีการทำ antigen unmasking โดย Non-Enzymatic treatment ใช้ microwave ต้มเนื้อในสารละลาย Citrate Buffer นาน 20 นาที และทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้องนาน 20 นาที เพื่อช่วยเพิ่มความไวในการตรวจวิเคราะห์ antigen
- Washing ล้างด้วยน้ำกลั่น
- Endogenous enzyme inactivation เนื่องจากการตรวจหา antigen-antibody complexes เป็นการตรวจโดยการทำให้เกิดสี และใช้เอนไซม์ที่อยู่ภายในเซลล์หรือเนื้อเยื่อที่ตรวจนั้น (endogenous enzymes) ทำ blocking endogenous peroxidase ด้วย 30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ใน 45% methanol นาน 2 นาที ที่อุณหภูมิห้อง
- Non-specific blocking เพื่อลดการรบกวนสัญญาณการตรวจจริง (signal-to-noise ratio) จาก non-specific binding โดยการ incubate สิ่งส่งตรวจด้วย normal horse serum 20 นาที ที่อุณหภูมิห้อง
- Primary antibody preparation antibody เป็น Polyclonal Rabbit Anti-human p 16INK4 Antibody ของบริษัท Pharmingen, San Diego, CA, USA Catalog number 15126E อัตราส่วนในการเจือจาง 1:400 incubate ไว้ที่อุณหภูมิห้อง 1 คืน
- Washing ด้วย 1XPBS นาน 3 นาทีต่อครั้ง
- Secondary antibody ใช้ Swine anti-Rabbit IgG อัตราส่วน 1:500 incubate ไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 30 นาที
- Washing ด้วย 1XPBS นาน 3 นาที 2 ครั้ง
- Streptavidin ใช้อัตราส่วน 1:250 incubate ไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 1 ชั่วโมง
- Washing ด้วย 1XPBS นาน 3 นาที 1 ครั้ง
- Chromogens ใช้ DAB (Tris-HCl buffer pH 7.4 ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร DAB 1 ลิตร และ 30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 10 ลิตร)
- เป็น substrate ที่ใช้ทำปฏิกิริยากับเอนไซม์เพื่อให้ได้สีน้ำตาล incubate ไว้ที่อุณหภูมิห้อง นาน 10 นาที
- Washing ด้วยน้ำประป่านาน 10 นาที
- Counterstains เป็นการย้อมเนื้อเยื่อที่ไม่ติดสีจากปฏิกิริยา IHC เพื่อให้เนื้อเยื่อที่ไม่ติดสีนี้ติดสี counterstain ซึ่งทำให้เห็นโครงสร้างเนื้อเยื่อชัดเจน และเปรียบเทียบ

กับส่วนที่ติดสี จากปฏิกิริยา IHC เพื่อให้เกิดความสะดวกในการตรวจวิเคราะห์ให้ใช้สี Hematoxyllin

- Washing ด้วยน้ำประปาดานาน 10 นาที
- Hydration ด้วย 95% ethanol 2 ครั้ง 100% ethanol 2 ครั้ง และ Xylene 2 ครั้ง
- Mount ด้วย Permount
- ทิ้งสไลด์ให้แห้งสนิทแล้วจึงอ่านผล

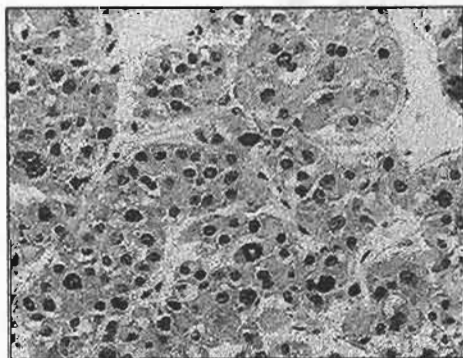
#### 4.2.2 การอ่านผลการย้อมโปรตีน p16

- อ่าน nuclear immunostaining cells เป็นการติดสีบวกในนิวเคลียส (แสดงดังรูปที่ 4.1)
- อ่านการติดสี interspersed nuclei ของ reactive cells (Lymphocytes และ Endothelial Cells) เป็น internal positive control

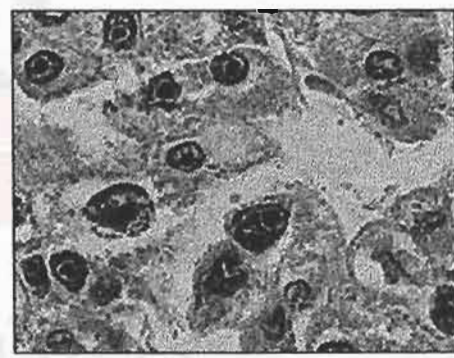
#### 4.2.3 การแปลผลการย้อมโปรตีน p16

- เมื่อมีนิวเคลียสติดสีย้อมร้อยละ 0 ถึง 10 อ่านว่าให้ผลลบ (Negative) คือ ไม่พบโปรตีน p16 (Loss of p16 expression)
- เมื่อมีนิวเคลียสติดสีย้อมมากกว่าร้อยละ 10 อ่านว่าให้ผลบวก (Positive)

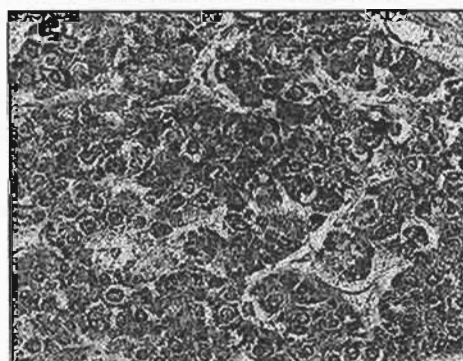
รูปที่ 4.1 แสดงการย้อมเซลล์มะเร็งตับชนิด HCC ด้วย H&E (ก และ ข) และ ย้อมหาโปรตีน p16 (ค และ ง)



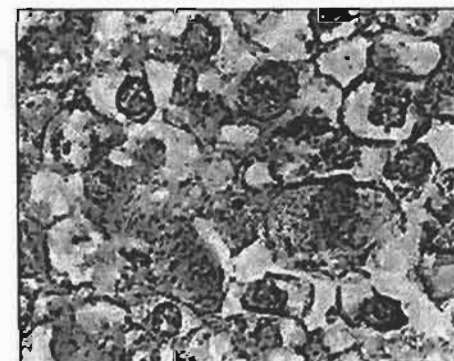
ก. แสดงเซลล์มะเร็งตับย้อมด้วย H&E



ข. แสดงเซลล์มะเร็งตับย้อมด้วย H&E



ค. แสดงเซลล์มะเร็งตับย้อมโปรตีน p16



ง. แสดงเซลล์มะเร็งตับย้อมโปรตีน p16

## 4.3 ขั้นตอนที่สาม วิเคราะห์ข้อมูล

### 4.3.1 การรวบรวมข้อมูล (Data Collection)

เก็บรวบรวมข้อมูลดังต่อไปนี้จากเวชระเบียนแล้วบันทึกในแบบบันทึก (ตัวอย่างของแบบบันทึกดูได้จากภาคผนวกท้ายเล่ม)

- 4.3.2.1 ข้อมูลพื้นฐาน : ชื่อ เพศ อายุ
- 4.3.2.2 ปัจจัยเสี่ยงของโรคมะเร็งตับเช่น ตับแข็ง, ดีมีสุรา, ไวรัสตับอักเสบบีและซี
- 4.3.2.3 พบตับแข็ง (cirrhosis) ร่วมด้วยหรือไม่
- 4.3.2.4 ระยะของโรคมะเร็ง (staging) ตามระบบ TNM. และ Okuda
- 4.3.2.5 การตรวจทางห้องปฏิบัติการ (ก่อนการรักษา)
  - ตรวจเลือดดูการทำงานของตับ (Liver function test)
  - ระดับแอลฟาฟีโตโปรตีนในเลือด
  - การตรวจทางรังสีบริเวณตับและช่องท้องส่วนบนเช่นอัลตราซาวด์, เอกซเรย์คอมพิวเตอร์ (CT.) หรือ เอกซเรย์คลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า (MRI.) บริเวณช่องท้องส่วนบน เพื่อบริเวณของโรค (staging)
- 4.3.2.6 วิธีการรักษาที่ได้รับ
  - การผ่าตัดตับ
  - ฉีดยาเคมีเข้าทางเส้นเลือดแดงเฮปาทิก (Chemoembolization หรือ TOCE)
  - ฉีดยาเคมีบำบัดเข้าทางเส้นเลือดดำ
  - การรักษาประคับประคอง (supportive care)
- 4.3.2.7 ระยะเวลาการมีชีวิต (survival time) ซึ่งหมายถึงระยะเวลาตั้งแต่วันที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคมะเร็งตับจนถึงวันที่เสียชีวิต วันสุดท้ายที่ผู้ป่วยมาติดตามการรักษา หรือวันสิ้นสุดการศึกษา

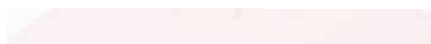
### 4.3.2 การวิเคราะห์ข้อมูล (Data Analysis)

- 4.3.2.1 การสรุปข้อมูลและคำนวณหาระยะเวลาการมีชีวิตของผู้ป่วยในกลุ่มที่มีและไม่มีโปรตีน p16
- 4.3.2.2 การนำเสนอข้อมูล เป็นตารางและกราฟ
- 4.3.2.3 การทดสอบสมมติฐาน เปรียบเทียบความแตกต่างของปัจจัยต่าง ๆ ทางคลินิกในกลุ่มผู้ป่วยที่ตรวจพบและไม่พบโปรตีน p16 ในนิวเคลียสของเซลล์มะเร็งโดยใช้การทดสอบ chi-square หรือ Fisher's exact test ระยะเวลา

การมีชีวิตคำนวณโดยวิธี Kaplan-Meier method และการหาความสัมพันธ์  
ระหว่างการมีและไม่มีโปรตีน p16 กับระยะเวลาการมีชีวิตคำนวณจาก  
Log rank test ความแตกต่างที่มีนัยสำคัญทางสถิติใช้ค่า p น้อยกว่า 0.05

#### 4.4 ขั้นตอนวิธี อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

ทำการอภิปรายและสรุปผลการดำเนินการศึกษาวิจัย





ผลการศึกษาและอภิปรายผล

เนื่องจากการศึกษาเปรียบเทียบโปรตีน p16 ในมะเร็งตับชนิด HCC ดังนั้นจึงเริ่มจากผลการย้อมหาโปรตีน p16 ในนิวเคลียสของเซลล์มะเร็งตับเพื่อแบ่งผู้ป่วยออกเป็นสองกลุ่ม คือ กลุ่มที่ตรวจพบโปรตีน p16 และ กลุ่มที่ตรวจพบไม่พบโปรตีน p16 โดยใช้เกณฑ์ดังต่อไปนี้คือ

1. กลุ่มที่พบโปรตีน p16 ปรกติหรือกลุ่มที่ให้ผลบวกต่อการย้อมโปรตีน p16 (positive) หมายถึงกลุ่มที่ตรวจพบโปรตีน p16 ในนิวเคลียสของเซลล์มะเร็งตับมากกว่าร้อยละ 10 ขึ้นไป
2. กลุ่มที่ไม่พบโปรตีน p16 หรือกลุ่มที่ให้ผลลบต่อการย้อมโปรตีน p16 (negative) หมายถึงกลุ่มที่ตรวจพบโปรตีน p16 ในนิวเคลียสของเซลล์มะเร็งตับไม่เกินร้อยละ 10

ในการตรวจดูโปรตีน p16 ที่ย้อมติดสีในนิวเคลียสนั้น ต้องตรวจการติดสีของ reactive cells เช่น lymphocytes และ endothelial cells อาศัยเป็น internal positive control ซึ่งโดยปรกติแล้วต้องย้อมติดสีในนิวเคลียสของเซลล์เหล่านี้ จึงจะถือว่าการย้อมโปรตีน p16 ทำได้ถูกต้อง และการอ่านผลลบอ่านได้อย่างถูกต้องจริง

จากการเก็บรวบรวมข้อมูลผู้ป่วยมะเร็งตับชนิด HCC ที่ได้รับการวินิจฉัยด้วยการตรวจชิ้นเนื้อ มะเร็งจากตับในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์จำนวน 127 ราย สามารถค้นชิ้นเนื้อที่เหลืออยู่ในสภาพสมบูรณ์ และเหลือพอที่จะนำมาย้อมได้เพียง 59 ราย จากการย้อมโปรตีน p16 ด้วยวิธี immunohistochemistry ในแผ่นสไลด์กระจกที่มีชิ้นเนื้อมะเร็งตับชนิด HCC จากผู้ป่วยจำนวน 37 รายพบว่า มีการย้อมติดสีโปรตีน p16 (ผลบวก) จำนวน 39 ราย (ร้อยละ 70.9) ย้อมไม่พบโปรตีน p16 (ผลลบ) จำนวน 16 ราย (ร้อยละ 29.1) แสดงดังตารางที่ 5.1 เกิดการย้อมผิดพลาด (ย้อมไม่ติดสีทั้งเซลล์มะเร็งและเซลล์ปรกติ) จำนวน 4 ราย

ตารางที่ 5.1 แสดงผลการย้อมโปรตีน p16 ในเซลล์มะเร็งตับชนิด HCC

การอ่านผลการย้อมโปรตีน p16	การแปลผลโปรตีน p16	จำนวน (ราย)	จำนวน (ร้อยละ)
ผลบวก	พบโปรตีน p16	39	70.9
ผลลบ	ไม่พบโปรตีน p16	16	29.1
รวม	-	55	100.00

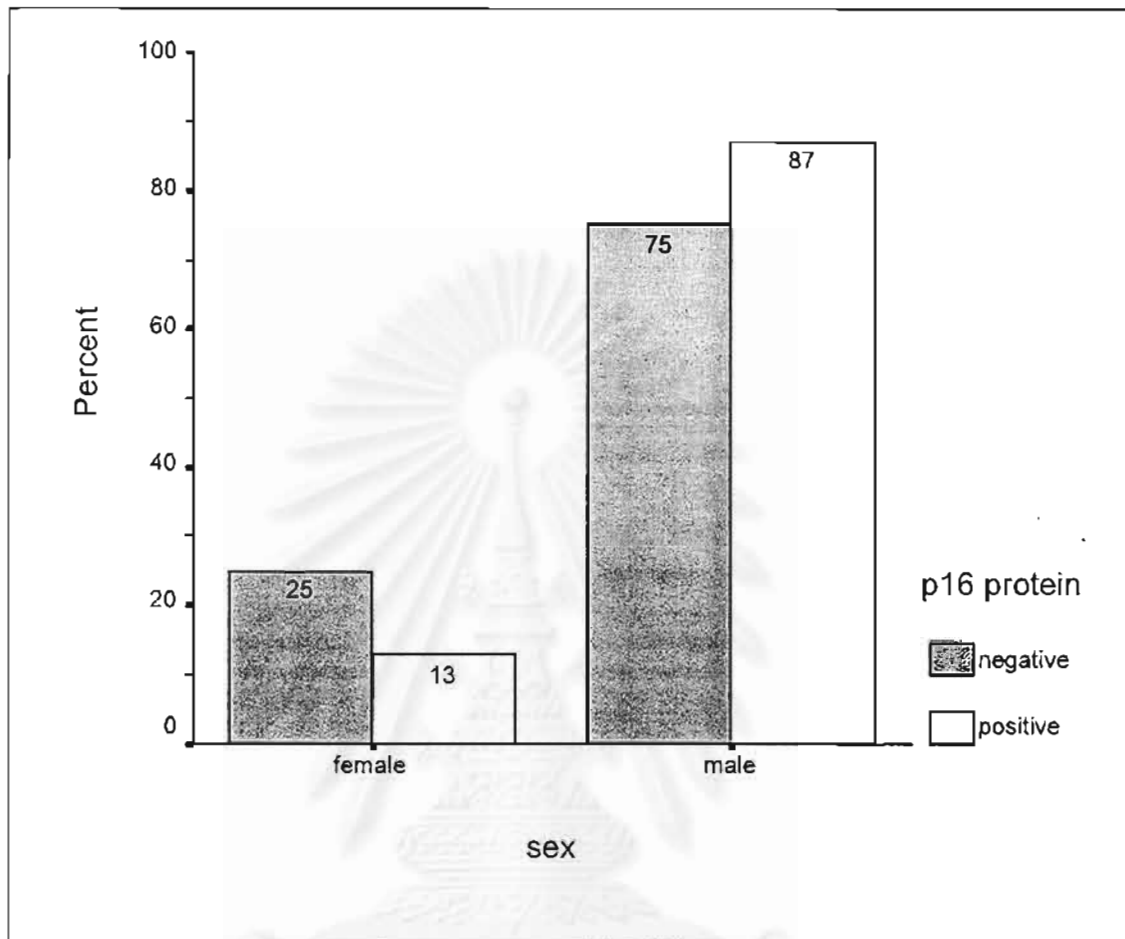
## 5.1 ข้อมูลทั่วไปของผู้ป่วย

จากการแบ่งผู้ป่วยเป็นสองกลุ่มเมื่อนำมาแยกเป็นข้อมูลของผู้ป่วยและปัจจัยทางคลินิกพบว่า กลุ่มที่พบโปรตีน p16 มีจำนวนผู้ป่วย 39 ราย เป็นเพศชาย 34 ราย (ร้อยละ 87.2) และเพศหญิง 5 ราย (ร้อยละ 12.8) ในกลุ่มที่ไม่พบโปรตีน p16 มีจำนวนผู้ป่วย 16 ราย เป็นเพศชาย 12 ราย (ร้อยละ 75.0) และเพศหญิง 4 ราย (ร้อยละ 25.0) ค่าเฉลี่ยเลขคณิตของอายุผู้ป่วยในกลุ่มที่ตรวจพบโปรตีน p16 เท่ากับ 54.8 ปี และในกลุ่มที่ไม่พบโปรตีน p16 เท่ากับ 50.3 ปี ซึ่งไม่มีความแตกต่างกัน ( $p = 0.25$ ) ประวัติการดื่มสุราในกลุ่มที่พบโปรตีน p16 จำนวน 22 ราย (ร้อยละ 64.7) ซึ่งพบมากกว่า และในกลุ่มที่ไม่พบโปรตีน p16 จำนวน 3 ราย (ร้อยละ 27.3) การติดเชื้อไวรัสตับอักเสบนิตที่ซึ่งตรวจเลือดหา HBsAg พบว่าในกลุ่มที่พบโปรตีน p16 มีจำนวน 12 ราย (ร้อยละ 42.9) และในกลุ่มที่ไม่พบโปรตีน p16 จำนวน 6 ราย (ร้อยละ 60.0) การติดเชื้อไวรัสตับอักเสบนิตที่ซึ่งตรวจเลือดหา anti-HCV พบว่าในกลุ่มที่พบโปรตีน p16 มีจำนวน 1 ราย (ร้อยละ 3.6) และในกลุ่มที่ไม่พบโปรตีน p16 จำนวน 2 ราย (ร้อยละ 22.2) ผู้ป่วยที่มีภาวะตับแข็งร่วมด้วยในกลุ่มที่พบโปรตีน p16 ปรากฏจำนวน 13 ราย (ร้อยละ 37.2) และในกลุ่มที่ไม่พบโปรตีน p16 จำนวน 7 ราย (ร้อยละ 63.6) เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของปัจจัยดังกล่าว ทั้งสองกลุ่มด้วยวิธีทางสถิติ (Fisher's exact test) พบว่ามีเฉพาะประวัติการดื่มสุราเท่านั้นที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p = 0.04$ ) ในผู้ป่วยทั้งสองกลุ่ม ข้อมูลทั่วไปของผู้ป่วยทั้งสองกลุ่มแสดงดังตารางที่ 5.2

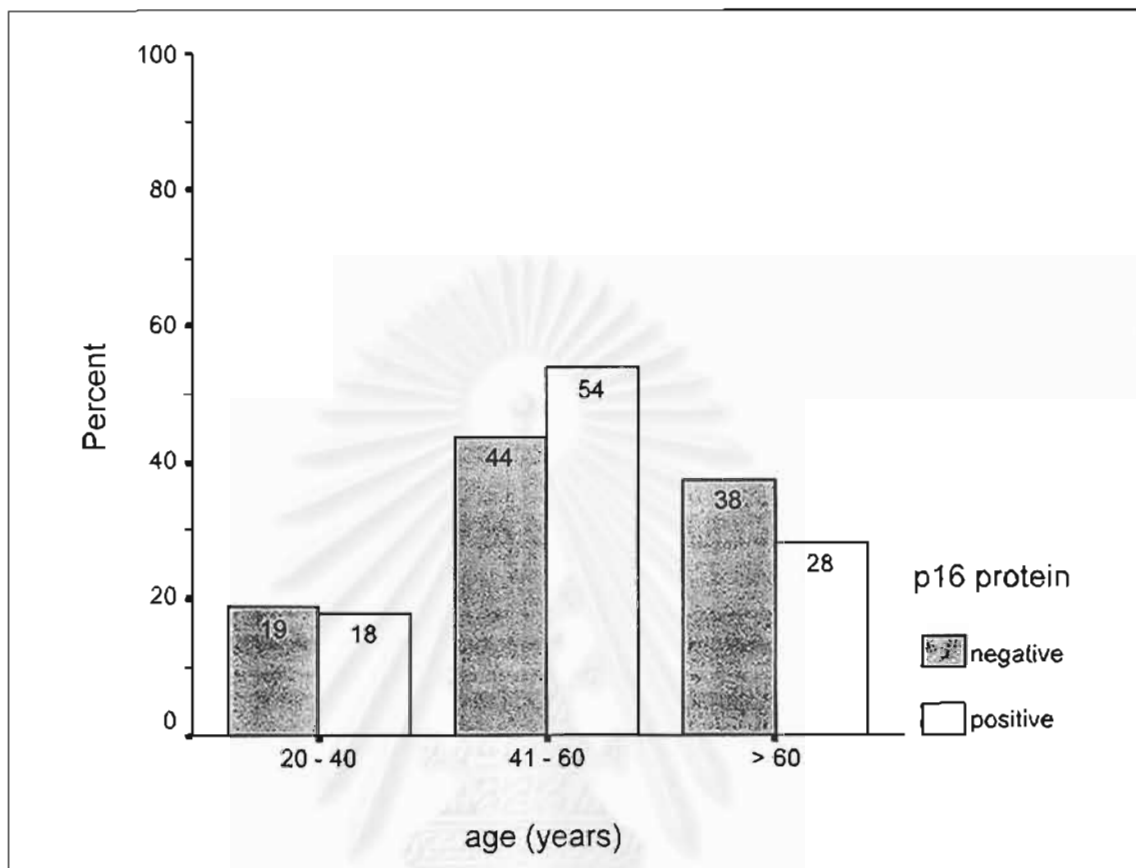
ตารางที่ 5.2 แสดงข้อมูลทั่วไปของผู้ป่วยทั้งสองกลุ่ม

ปัจจัย	ไม่พบโปรตีน p16	พบโปรตีน p16	
<b>เพศ</b>			
▪ ชาย	12	34	P = 0.42
▪ หญิง	4	5	
<b>อายุ</b>			
▪ ค่าเฉลี่ยเลขคณิต	50.33	54.79	P = 0.25
▪ ช่วงอายุ 21 ถึง 40 ปี	3	7	P = 0.76
▪ ช่วงอายุ 41 ถึง 60 ปี	7	21	
▪ ช่วงอายุ มากกว่า 60 ปี	6	11	
<b>ดื่มสุรา</b>			
▪ ไม่ดื่ม	8	12	P = 0.04 *
▪ ดื่ม	3	22	
<b>ผลการตรวจ HBsAg</b>			
▪ ผลลบ	4	16	P = 0.47
▪ ผลบวก	6	12	
<b>ผลการตรวจ anti-HCV</b>			
▪ ผลลบ	7	27	P = 0.14
▪ ผลบวก	2	1	
<b>ตับแข็ง</b>			
▪ ไม่มี	4	22	P = 0.17
▪ มี	7	13	

รูปที่ 5.1 กราฟแสดงเพศของผู้ป่วยที่ตรวจพบและไม่พบโปรตีน p16 ในเซลล์มะเร็ง

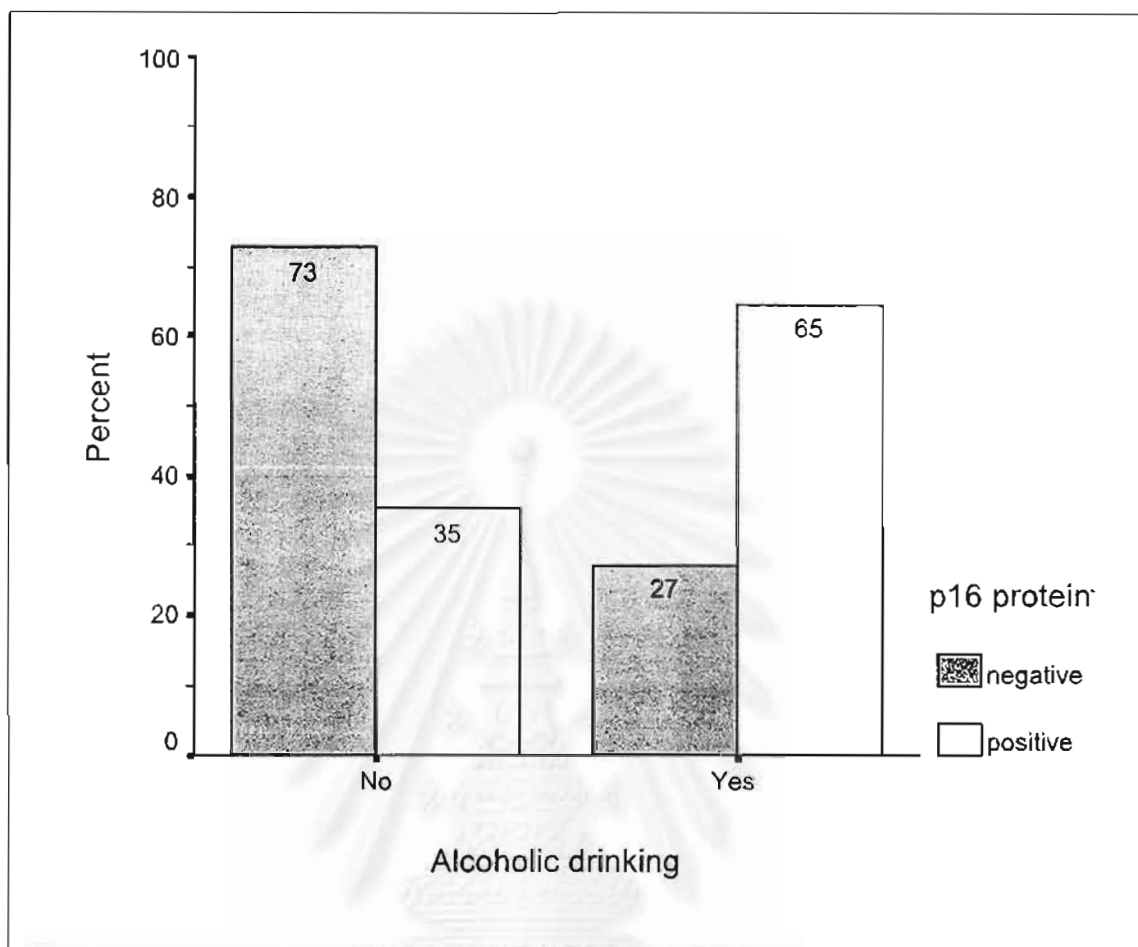


รูปที่ 5.2 กราฟแสดงช่วงอายุผู้ป่วยที่ตรวจพบและไม่พบโปรตีน p16 ในเซลล์มะเร็ง

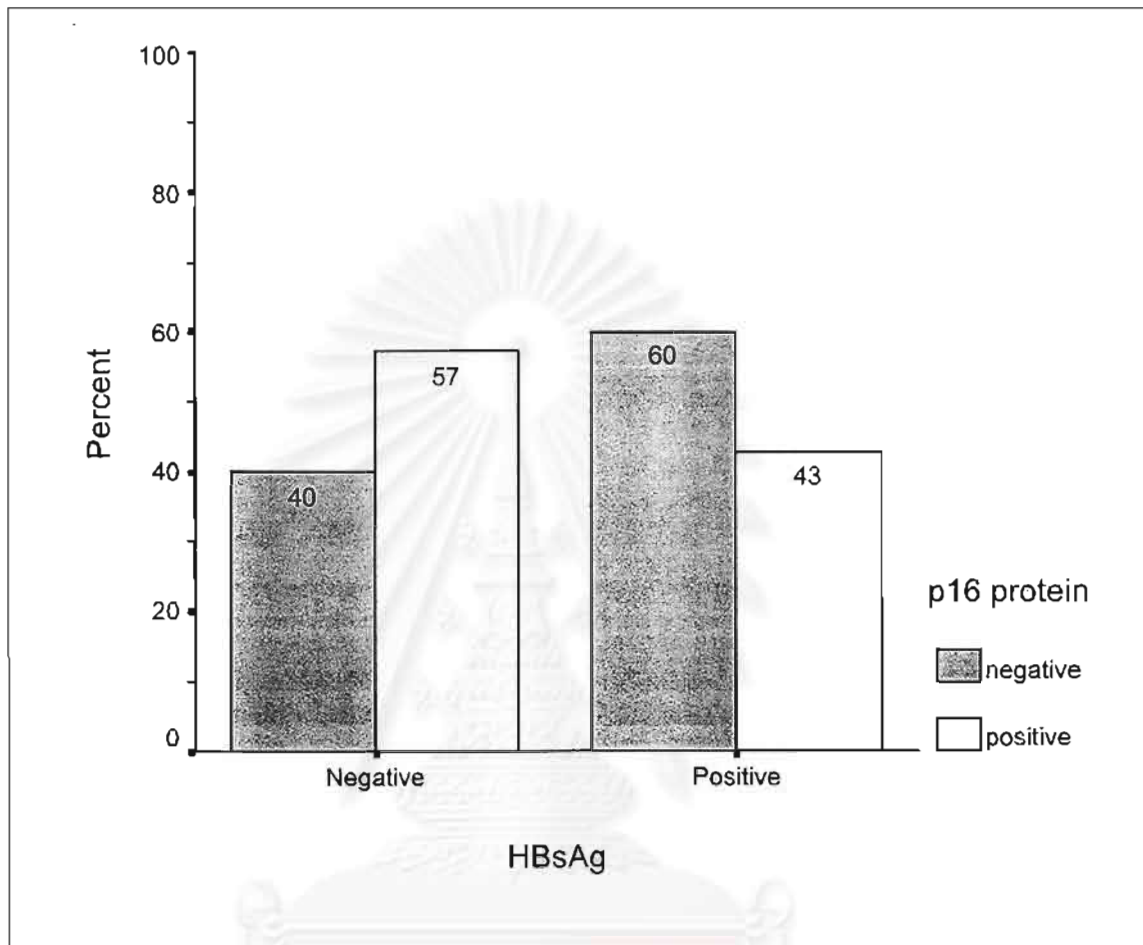




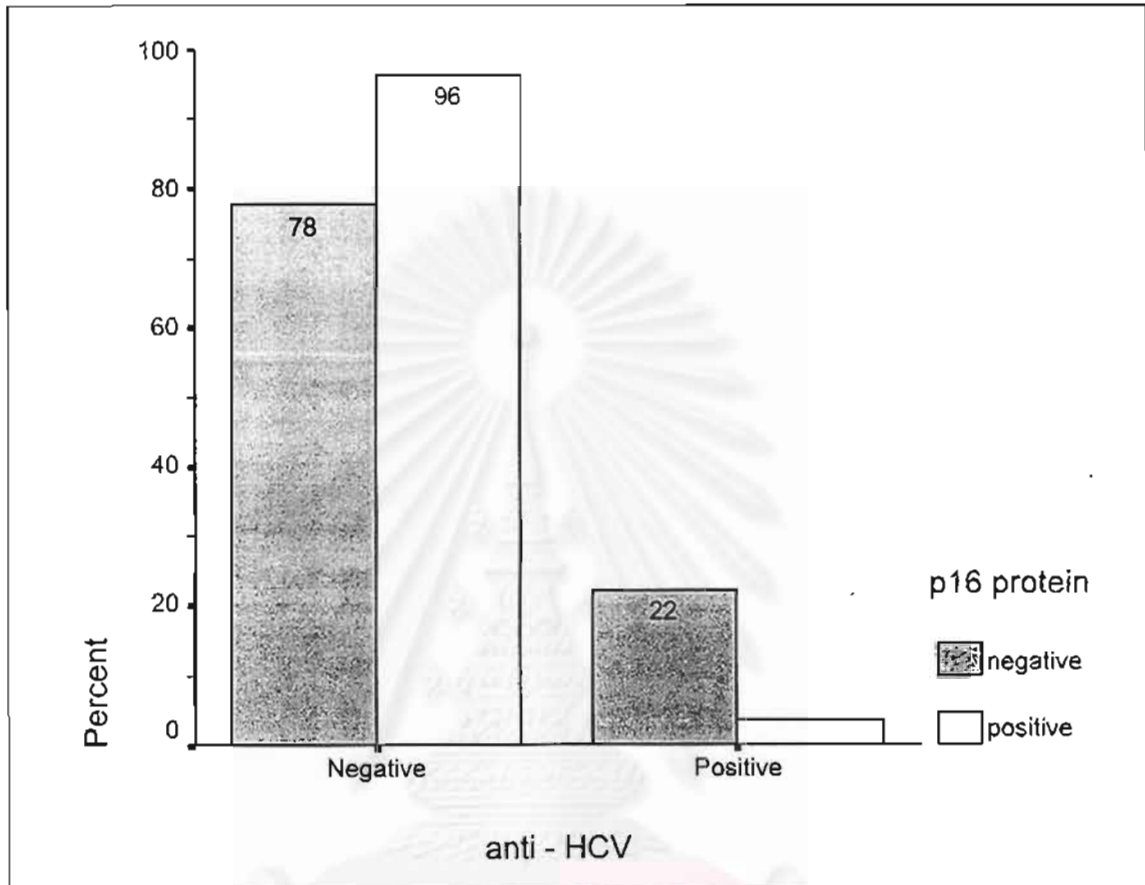
รูปที่ 5.3 กราฟแสดงร้อยละของจำนวนผู้ป่วยที่มีประวัติดื่มสุราแยกเป็นกลุ่มที่พบและไม่พบโปรตีน p16



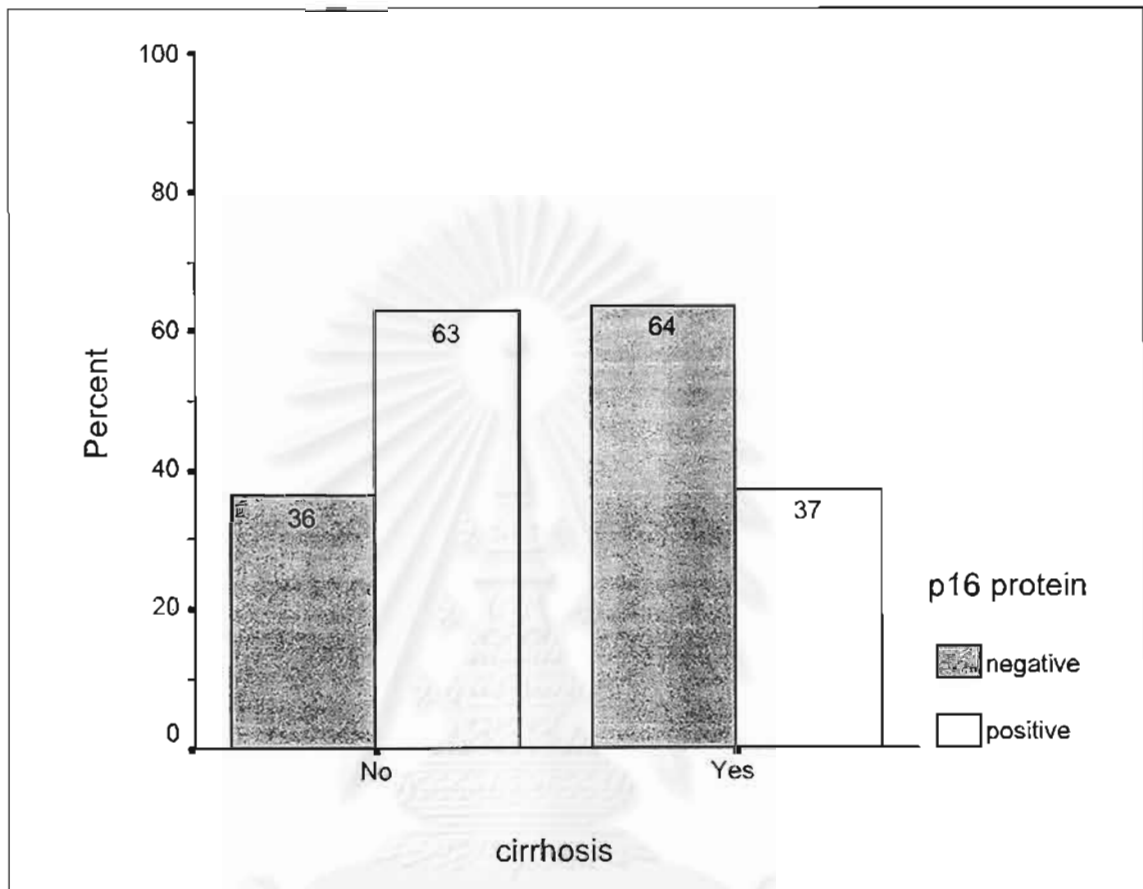
รูปที่ 5.4 กราฟแสดงร้อยละของจำนวนผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีแยกเป็นกลุ่มที่พบและไม่พบโปรตีน p16



รูปที่ 5.5 กราฟแสดงร้อยละของจำนวนผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซีแยกเป็นกลุ่มที่พบและไม่พบโปรตีน p16



รูปที่ 5.6 กราฟแสดงร้อยละของจำนวนผู้ป่วยที่มีตับแข็งร่วมด้วยแยกเป็นกลุ่มที่พบและไม่พบโปรตีน p16



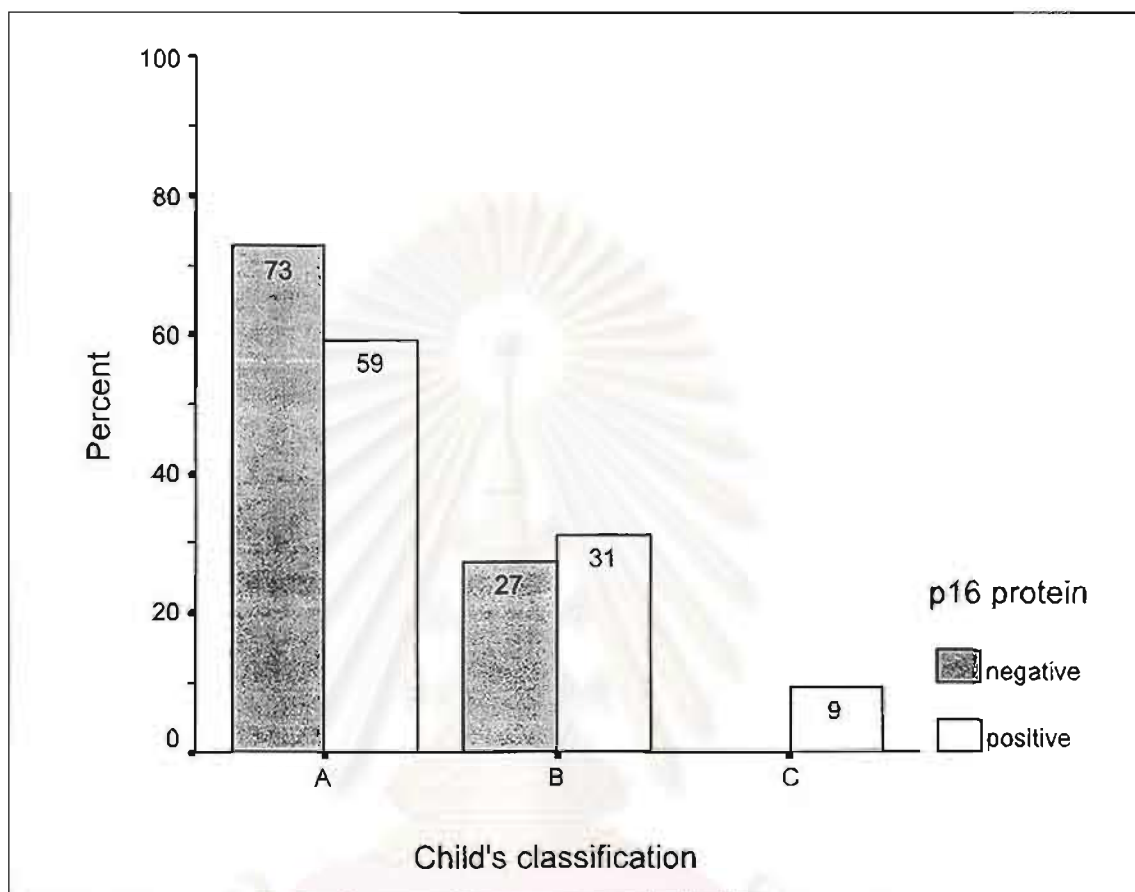
## 5.2 ระยะโรคมะเร็งระดับ

การแบ่งผู้ป่วยด้วย Child classification ระยะของโรคมะเร็งระดับโดยแบ่งตามระบบ TNM และ Okuda พบว่า Child A, B และ C ในผู้ป่วยที่พบโปรตีน p16 จำนวน 19, 10 และ 3 รายตามลำดับ ในผู้ป่วยที่ไม่พบโปรตีน p16 จำนวน 8, 3 และ 0 รายตามลำดับ ระยะโรคมะเร็งตามระบบ TNM ซึ่งแบ่งเป็นระยะ 1, 2, 3A, 3B, 4A และ 4B ในผู้ป่วยที่พบโปรตีนจำนวน 0, 6, 7, 1, 15 และ 6 รายตามลำดับ ในผู้ป่วยที่ไม่พบโปรตีน p16 จำนวน 0, 1, 1, 0, 5 และ 4 รายตามลำดับ ผู้ป่วยที่มาพบแพทย์ในระยะที่มะเร็งแพร่กระจายไปแล้วในกลุ่มที่พบโปรตีน p16 จำนวน 6 รายและในผู้ป่วยที่ไม่พบโปรตีน p16 จำนวน 4 ราย เมื่อวิเคราะห์เพื่อหาความแตกต่างทางสถิติด้วย chi-square test หรือ Fisher's exact test ก็ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในการแบ่งระยะโรคมะเร็งระดับของผู้ป่วยทั้งสองกลุ่ม แสดงดังตารางที่ 5.3

ตารางที่ 5.3 แสดงระยะโรคมะเร็งระดับในผู้ป่วยทั้งสองกลุ่ม

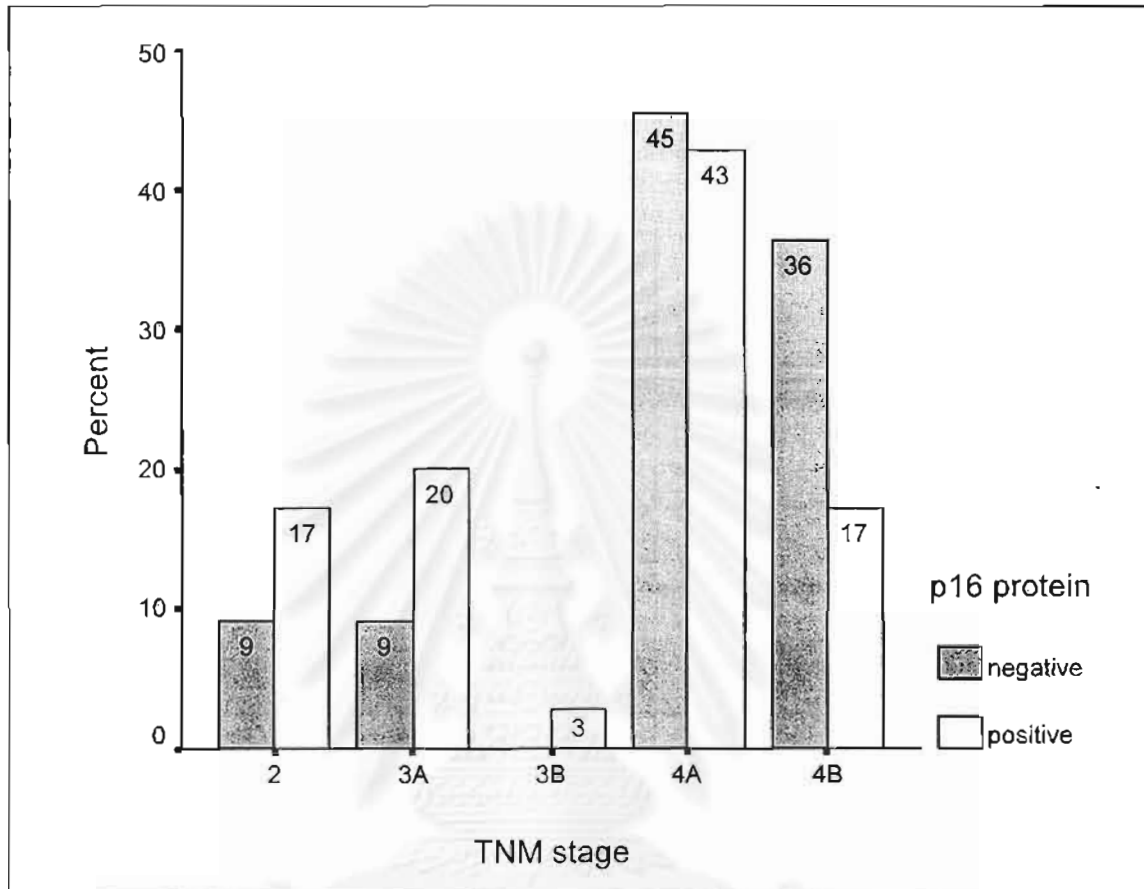
ระยะโรคมะเร็งระดับ	ไม่พบโปรตีน p16	พบโปรตีน p16	
Child classification			
▪ Child A	8	19	P = 0.52
▪ Child B	3	10	
▪ Child C	0	3	
TNM staging			
▪ 1	0	0	P = 0.61
▪ 2	1	6	
▪ 3A	1	7	
▪ 3B	0	1	
▪ 4A	5	15	
▪ 4B	4	6	
Okuda staging			
▪ 1	2	5	P = 0.94
▪ 2	8	26	
▪ 3	1	4	
Distant metastasis			
▪ มี	7	29	P = 0.22
▪ ไม่มี	4	6	

รูปที่ 5.7 กราฟแสดงจำนวนผู้ป่วย (ร้อยละ) ตามการแบ่งระยะโรคมะเร็งตับตาม Child classification โดยแยกตามการตรวจพบและไม่พบโปรตีน p16



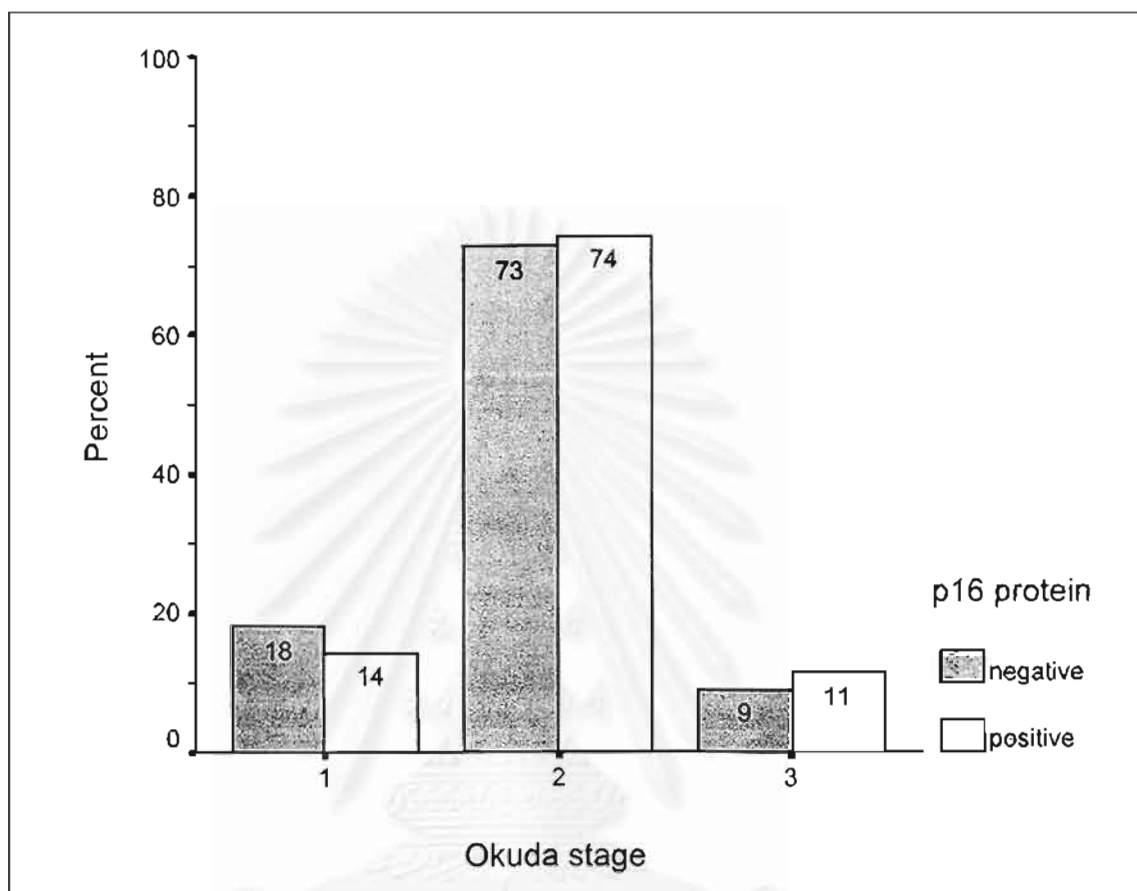


รูปที่ 5.8 กราฟแสดงร้อยละของจำนวนผู้ป่วยตามการแบ่งระยะโรคมะเร็งระดับตามระบบ TNM โดยแยกตามการตรวจพบและไม่พบโปรตีน p16



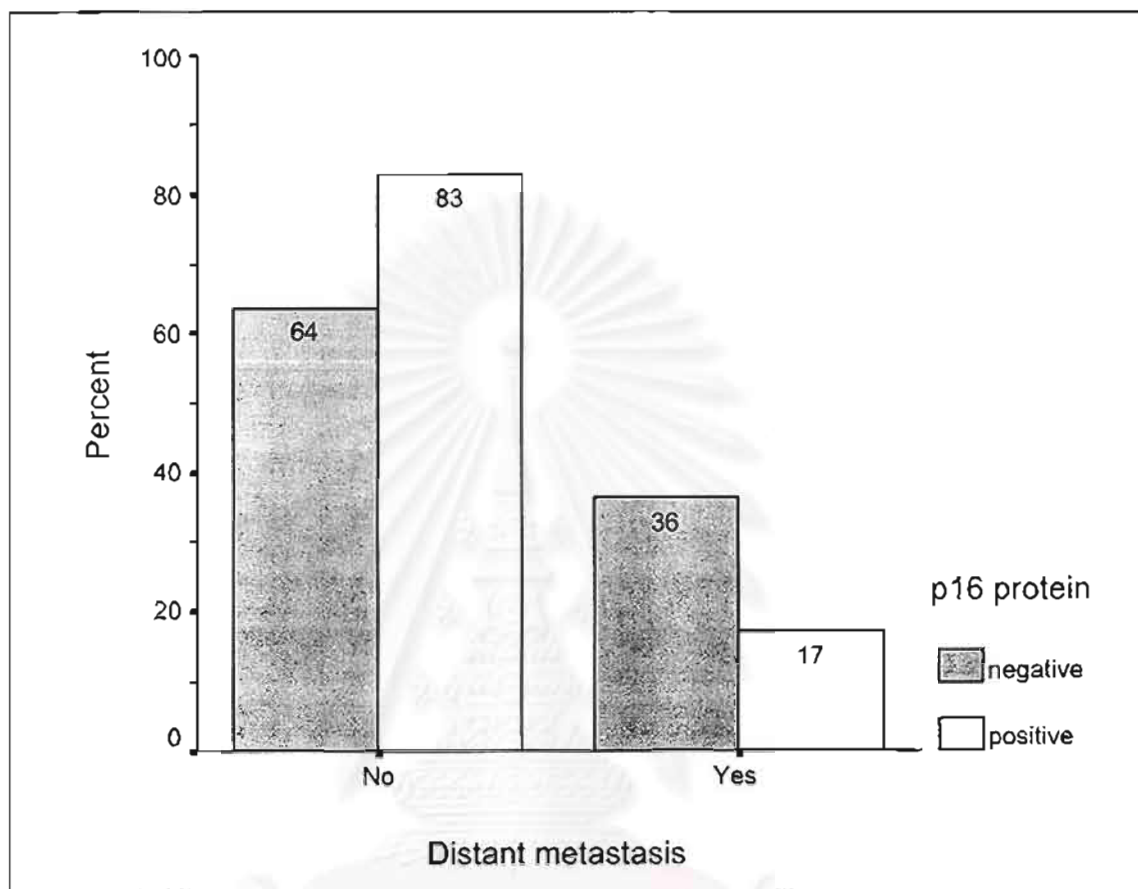
สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 5.9 กราฟแสดงร้อยละของจำนวนผู้ป่วยตามการแบ่งระยะโรคมะเร็งตับตามระบบ Okuda โดยแยกตามการตรวจพบและไม่พบโปรตีน p16



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 5.10 กราฟแสดงร้อยละของจำนวนผู้ป่วยที่มาพบแพทย์ในระยะที่โรคมะเร็งระดับมีการแพร่กระจายไปไกลแล้ว (TNM stage IVB) โดยแยกตามการตรวจพบและไม่พบโปรตีน p16



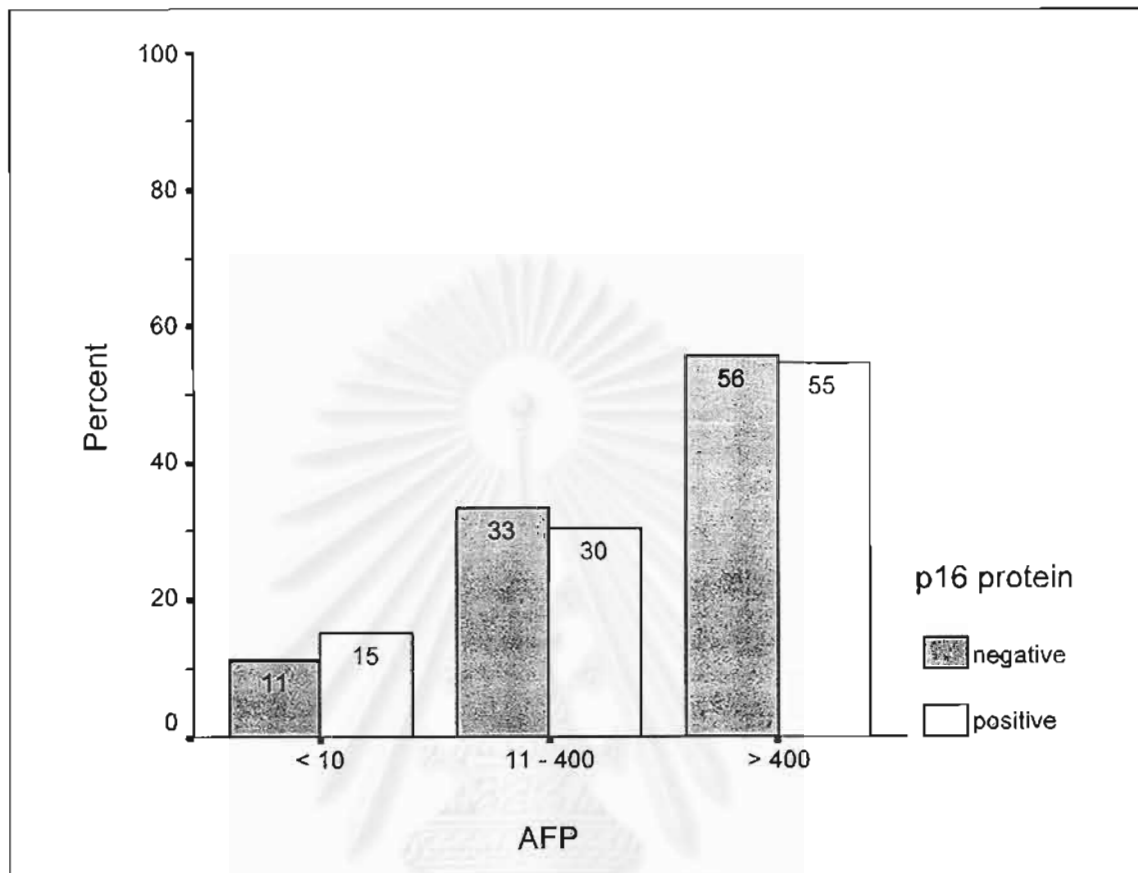
### 5.3 ผลการตรวจเลือดทางห้องปฏิบัติการ

ผลการตรวจเลือดทางห้องปฏิบัติการโดยตรวจระดับ alphafetoprotein และการทำงานของตับ (liver function test) พบว่า ระดับ alphafetoprotein ในเลือดของผู้ป่วยที่พบโปรตีน p16 มีค่าเฉลี่ยเลขคณิตเท่ากับ 34,496.4 และในผู้ป่วยที่ไม่พบโปรตีน p16 เท่ากับ 15,492.8 ระดับ total bilirubin และ direct bilirubin ในผู้ป่วยที่พบโปรตีน p16 มีค่าเฉลี่ยเลขคณิตเท่ากับ 2.98 และ 1.81 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร และในกลุ่มที่ไม่พบโปรตีน p16 เท่ากับ 1.32 และ 0.6 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตรตามลำดับ ระดับ SGOT และ SGPT ในผู้ป่วยที่พบโปรตีน p16 เท่ากับ 148.7 และ 70.8 ตามลำดับ ในผู้ป่วยที่ไม่พบโปรตีน p16 เท่ากับ 193.8 และ 71.2 ตามลำดับ ระดับ alkaline phosphatase ในผู้ป่วยที่พบโปรตีน p16 เท่ากับ 543.8 และในกลุ่มที่ไม่พบโปรตีน p16 เท่ากับ 743.9 ระดับ albumin และ globulin ในผู้ป่วยที่พบโปรตีน p16 เท่ากับ 3.6 และ 4.2 กรัมต่อเดซิลิตร ในผู้ป่วยที่ไม่พบโปรตีน p16 เท่ากับ 3.8 และ 3.7 กรัมต่อเดซิลิตรตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์เพื่อหาความแตกต่างทางสถิติด้วย unpaired t-test พบว่าค่าต่าง ๆ ของผลการตรวจเลือดทางห้องปฏิบัติการของผู้ป่วยทั้งสองกลุ่มไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงดังตารางที่ 5.4

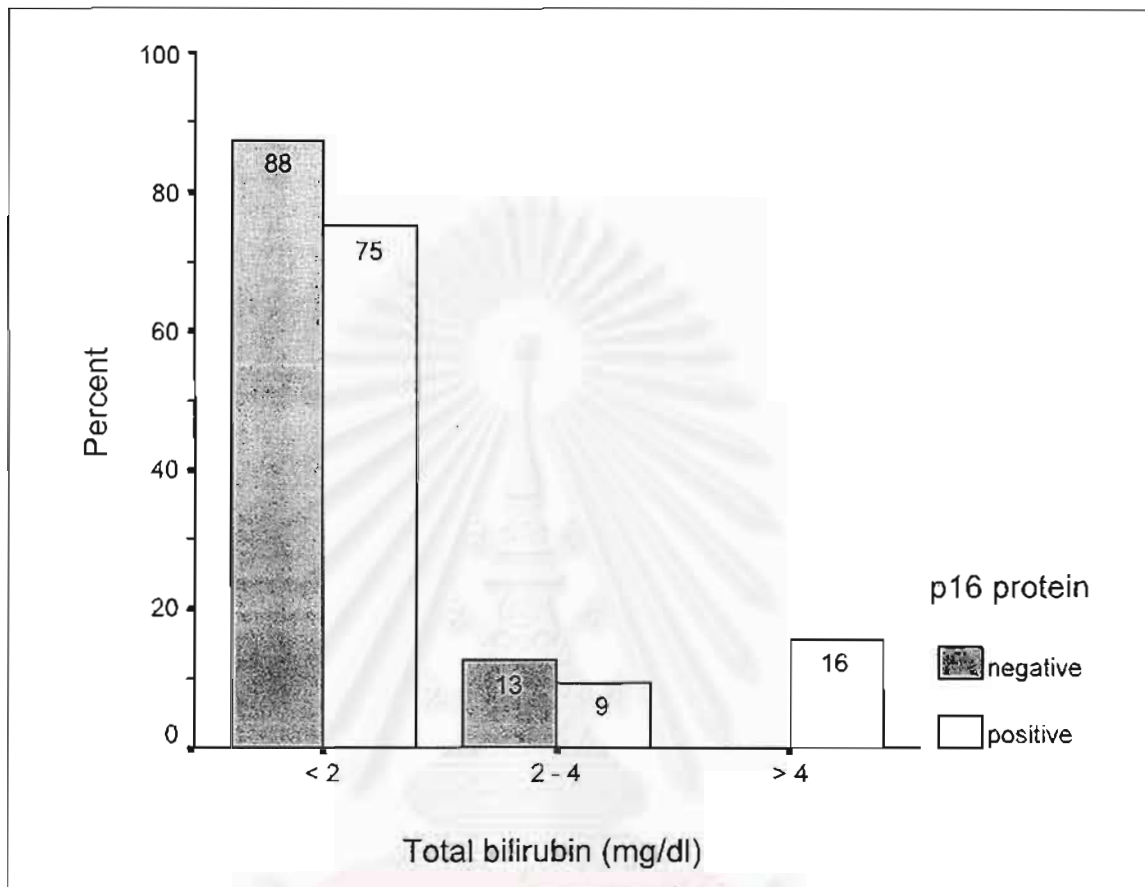
ตารางที่ 5.4 แสดงผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการในผู้ป่วยที่พบและไม่พบโปรตีน p16

	ไม่พบโปรตีน p16	พบโปรตีน p16	
AFP	15,492.8	34,496.4	P = 0.37
Total bilirubin	1.3	3.0	P = 0.11
Direct bilirubin	0.6	1.8	P = 0.08
SGOT	193.8	148.7	P = 0.50
SGPT	71.2	70.8	P = 0.99
Alkaline phosphatase	743.9	543.8	P = 0.48
Albumin	3.8	3.6	P = 0.44
globulin	3.7	4.2	P = 0.11

รูปที่ 5.11 กราฟแสดงร้อยละของจำนวนผู้ป่วยตามระดับ Alphafetoprotein ในเลือดโดยแยกตามการตรวจพบและไม่พบโปรตีน p16



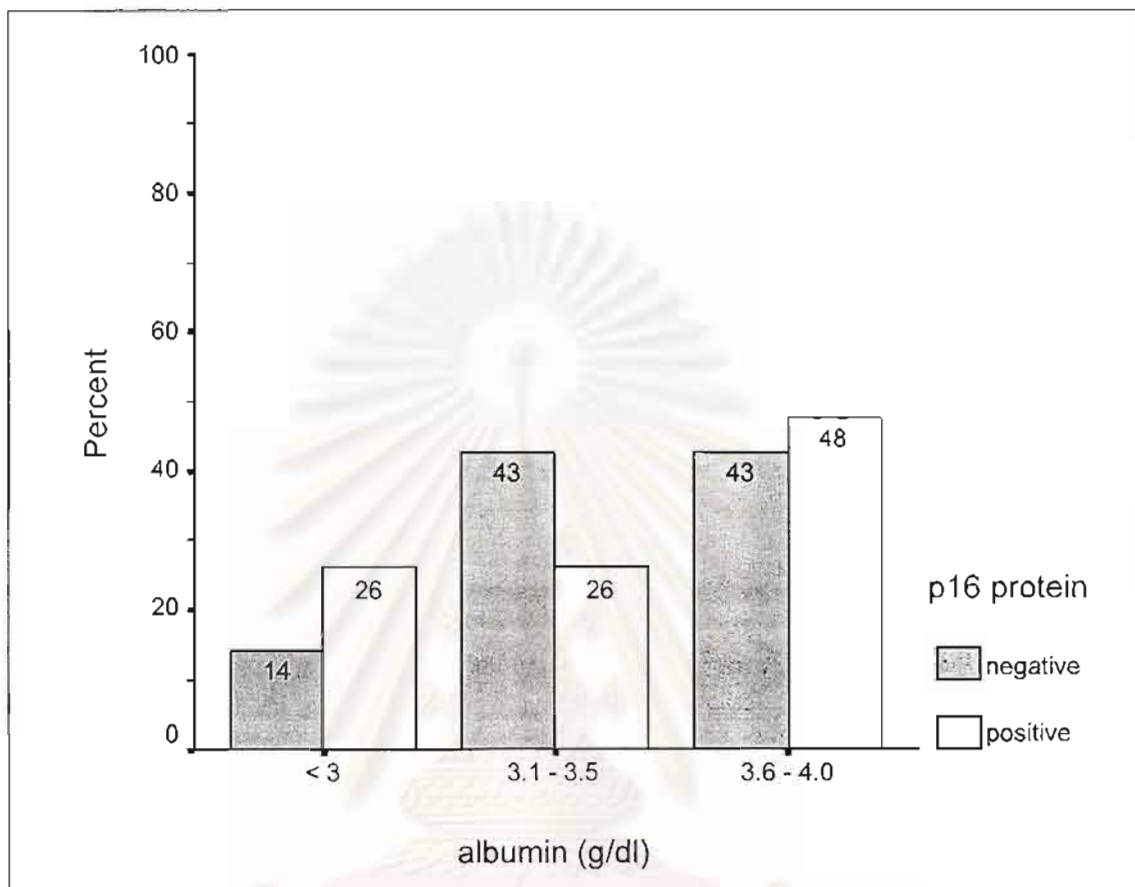
รูปที่ 5.12 กราฟแสดงร้อยละของจำนวนผู้ป่วยตามระดับ total bilirubin ในเลือดโดยแยกตามการตรวจพบและไม่พบโปรตีน p16



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 5.13 กราฟแสดงร้อยละของจำนวนผู้ป่วยตามระดับ Albumin ในเลือดโดยแยกตามการตรวจพบและไม่พบโปรตีน p16



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

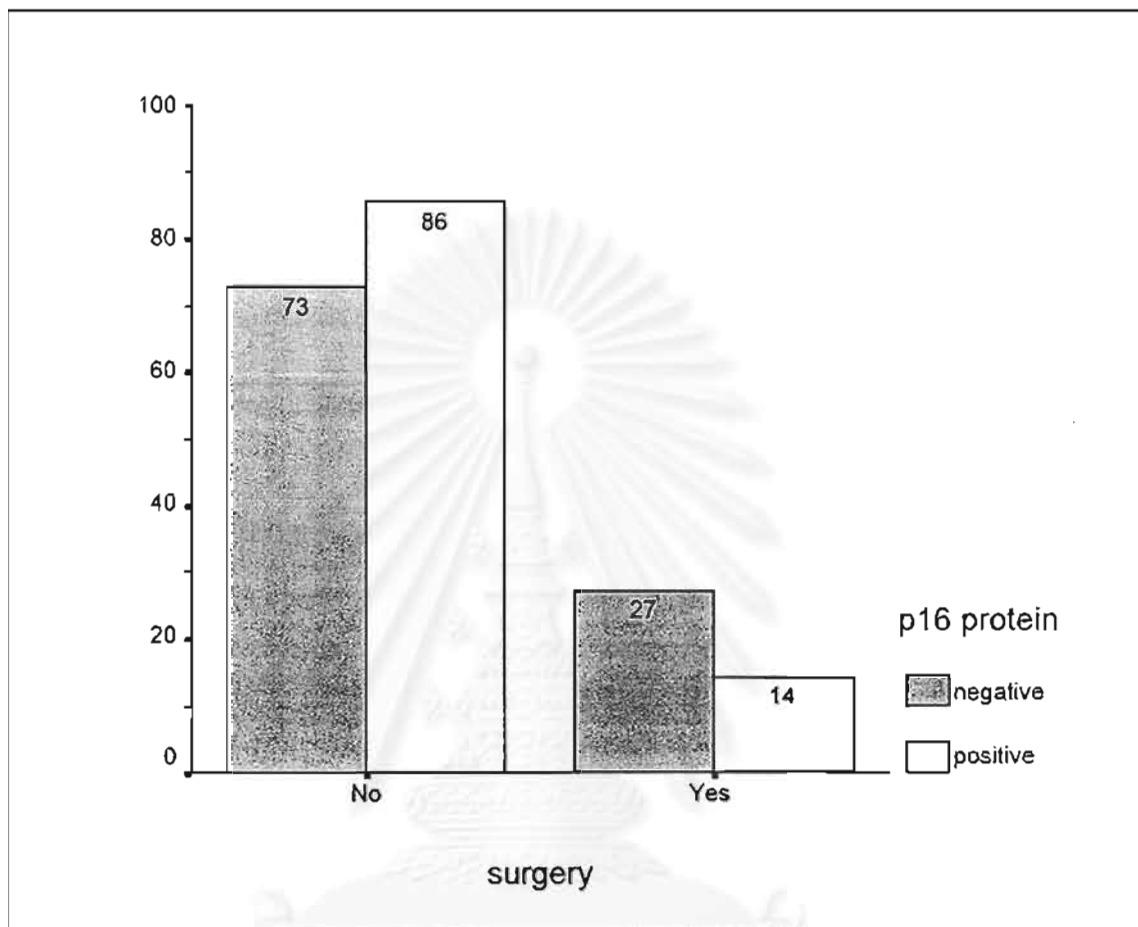
#### 5.4 การรักษาโรคมะเร็งตับ

การรักษาที่ผู้ป่วยได้รับได้แก่ การผ่าตัดในกลุ่มที่พบโปรตีน p16 มีผู้ป่วยได้รับการผ่าตัดจำนวน 5 ราย ในผู้ป่วยที่ไม่พบโปรตีน p16 จำนวน 3 ราย การฉีดยาเคมีบำบัดเข้าทางหลอดเลือดแดงเฮปาทิกหรือการรักษาด้วยวิธี chemoembolization ในผู้ป่วยที่พบโปรตีน p16 ได้รับจำนวน 9 ราย ในผู้ป่วยที่ไม่พบโปรตีน p16 จำนวน 1 ราย การฉีดยาเคมีบำบัดเข้าหลอดเลือดดำ (systemic chemotherapy) ในผู้ป่วยที่พบโปรตีน p16 ได้รับจำนวน 9 ราย ในผู้ป่วยที่ไม่พบโปรตีน p16 จำนวน 2 ราย และการรักษาประคับประคองในผู้ป่วยที่พบโปรตีน p16 ได้รับจำนวน 15 ราย ในผู้ป่วยที่ไม่พบโปรตีน p16 จำนวน 6 ราย เมื่อวิเคราะห์เปรียบเทียบหาความแตกต่างของการรักษาที่ผู้ป่วยได้รับทั้งสองกลุ่มทางสถิติพบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ รายละเอียดแสดงดังตารางที่ 5.5

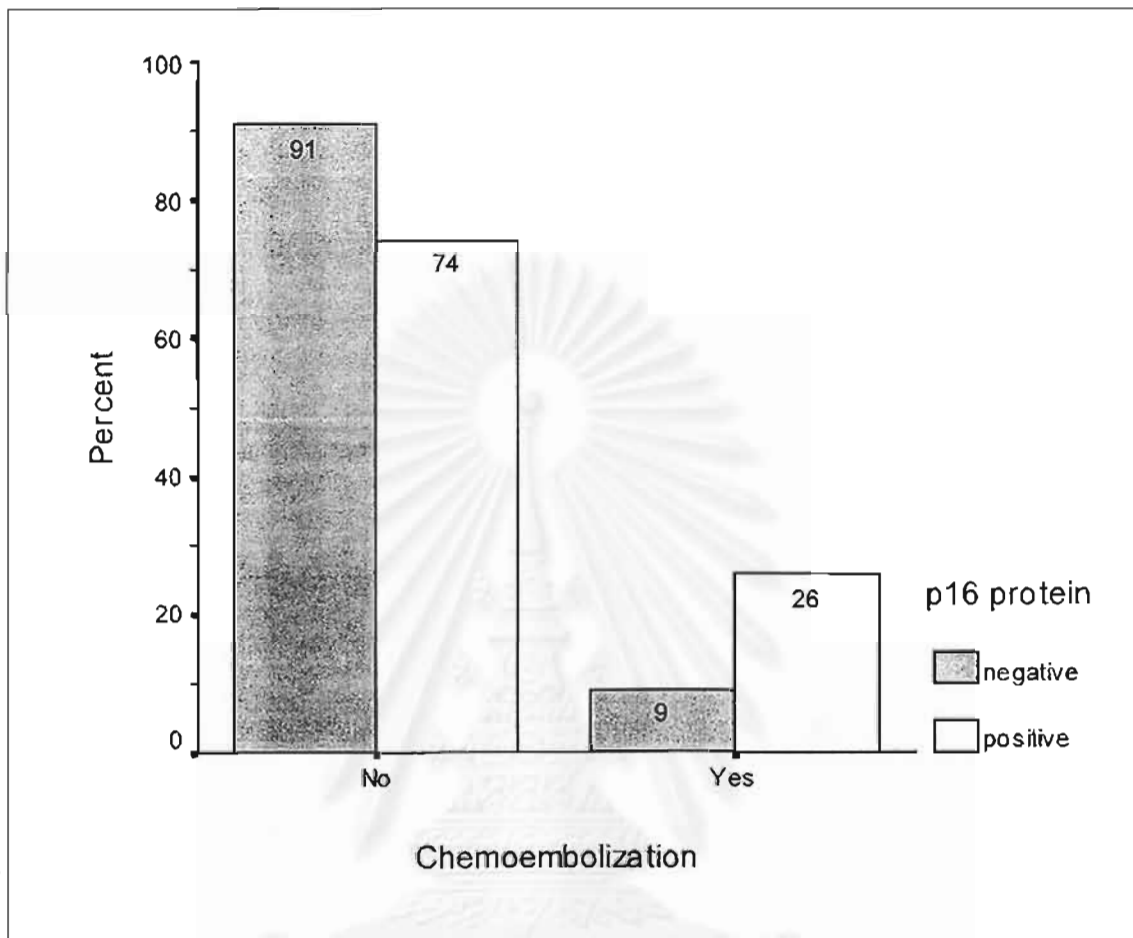
ตารางที่ 5.5 แสดงการรักษาโรคมะเร็งตับในผู้ป่วยกลุ่มที่พบและไม่พบโปรตีน p16

การรักษา	ไม่พบโปรตีน p16	พบโปรตีน p16	
การผ่าตัด			
▪ ไม่ได้รับการผ่าตัด	8	30	P = 0.37
▪ ได้รับการผ่าตัด	3	5	
Chemoembolization			
▪ ไม่ได้	10	26	P = 0.41
▪ ได้	1	9	
ยาเคมีบำบัด			
▪ ไม่ได้	9	26	P = 1.00
▪ ได้	2	9	
การรักษาประคับประคอง			
▪ ไม่ใช่	5	20	P = 0.50
▪ ใช่	6	15	

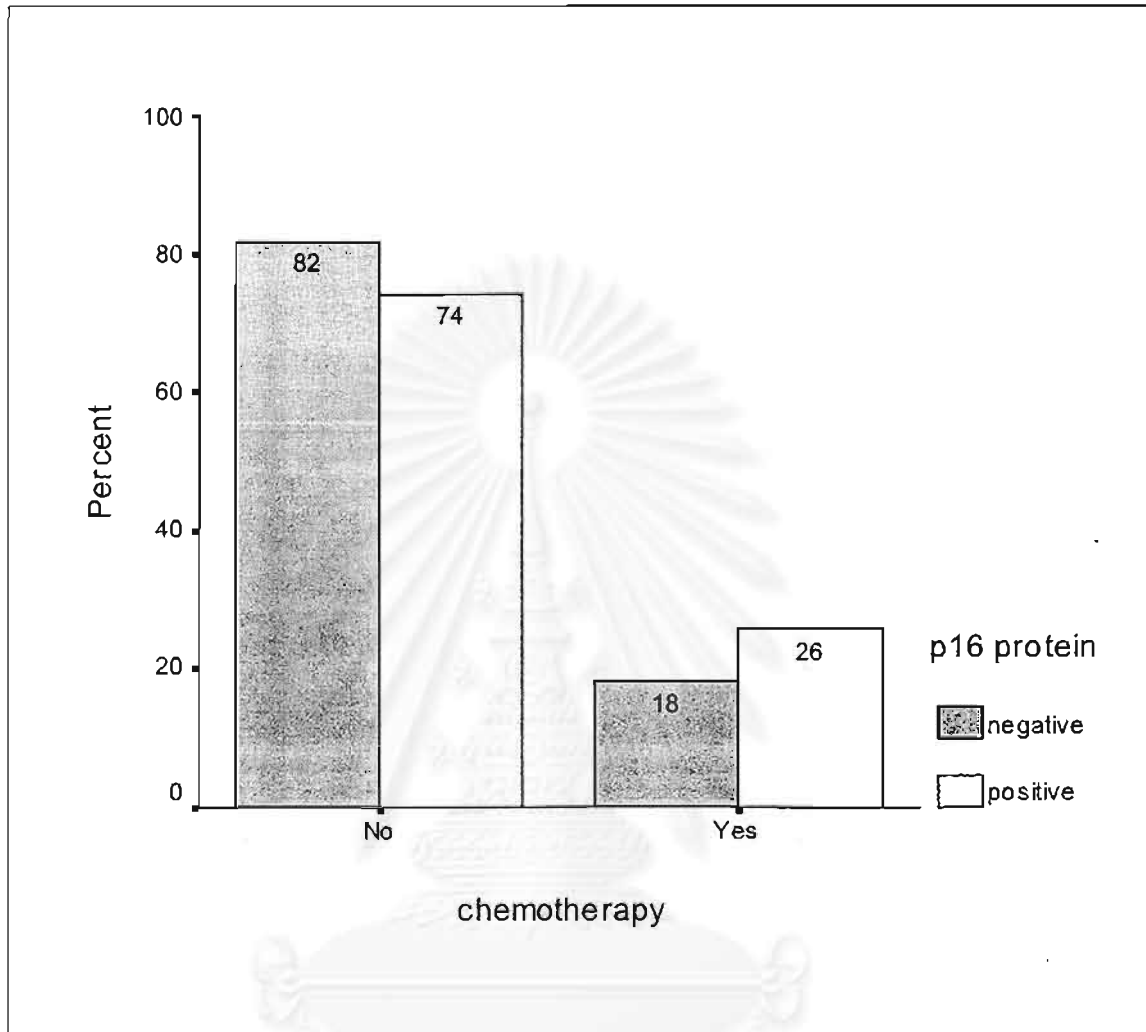
รูปที่ 5.14 กราฟแสดงร้อยละของจำนวนผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาด้วยการผ่าตัด โดยแยกตามการตรวจพบและไม่พบโปรตีน p16



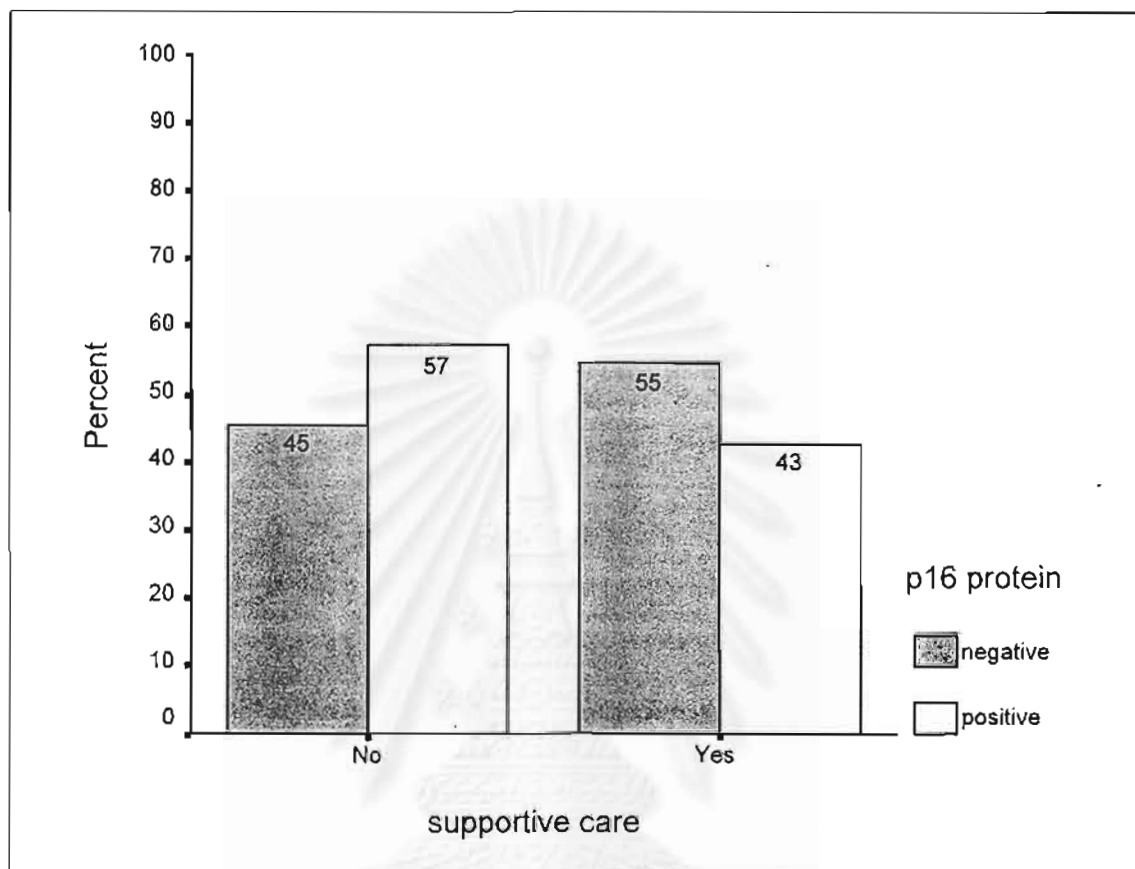
รูปที่ 5.15 กราฟแสดงร้อยละของจำนวนผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาด้วยการฉีดยาเคมีบำบัดเข้าทางหลอดเลือดดำเซปโปติก (Chemoembolization) โดยแยกตามการตรวจพบและไม่พบโปรตีน p16



รูปที่ 5.16 กราฟแสดงร้อยละของจำนวนผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาด้วยยาเคมีบำบัด โดยแยกตามการตรวจพบและไม่พบโปรตีน p16



รูปที่ 5.17 กราฟแสดงร้อยละของจำนวนผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาแบบประคับประคอง โดยแยกตามการตรวจพบและไม่พบโปรตีน p16



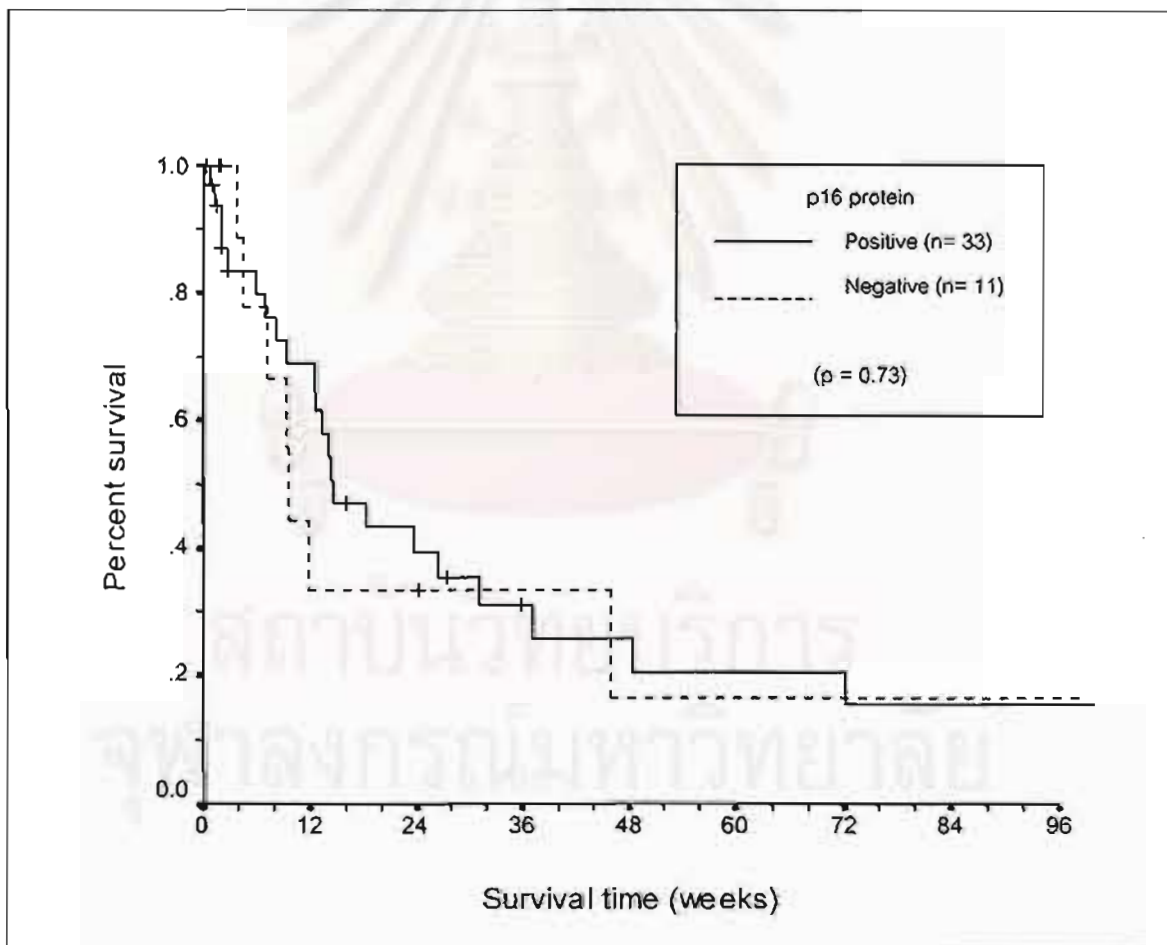
สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



5.5 ระยะเวลาการมีชีวิตของผู้ป่วย (survival time)

ค่ามัธยฐานของระยะเวลาการมีชีวิต (median survival time) ของผู้ป่วยมะเร็งตับที่พบโปรตีน p16 (จำนวน 33 ราย) เท่ากับ 14.1 สัปดาห์ (95% CI 8.29 – 21.12) และในผู้ป่วยที่ไม่พบโปรตีน p16 (จำนวน 11 ราย) เท่ากับ 9.57 สัปดาห์ (95% CI 9.15 – 9.99) เส้นกราฟแสดงระยะเวลาการมีชีวิตในกลุ่มที่ตรวจพบโปรตีน p16 กับกลุ่มผู้ป่วยที่ตรวจไม่พบโปรตีน p16 แสดงดังรูปที่ 5.18 เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของระยะเวลาการมีชีวิตของผู้ป่วยทั้งสองกลุ่มทางสถิติด้วยวิธี log rank test พบว่าระยะเวลาการมีชีวิตของผู้ป่วยทั้งสองกลุ่มไม่มีความแตกต่างกัน โดยมีค่า p เท่ากับ 0.73

รูปที่ 5.18 กราฟแสดงระยะเวลาการมีชีวิตในกลุ่มที่ตรวจพบโปรตีน p16 กับกลุ่มผู้ป่วยที่ตรวจไม่พบโปรตีน p16



สรุปผลการศึกษาวิจัย และข้อเสนอแนะ

การศึกษานี้เป็นการศึกษาเชิงพรรณนา (Descriptive study) และเป็นการศึกษาย้อนหลังโดยอาศัยข้อมูลผู้ป่วยและชิ้นเนื้อมะเร็งจากตับที่เก็บรักษาไว้ในพาราฟินภายหลังการให้การวินิจฉัยว่าเป็นโรคมะเร็งตับแล้ว ข้อมูลของผู้ป่วยได้จากการเก็บรวบรวมจากเวชระเบียนผู้ป่วย ผลการตรวจทางรังสีวินิจฉัย และผลการตรวจทางพยาธิวิทยา เนื่องจากมีระยะเวลาในการวิจัยสั้นจึงเลือกเป็นการศึกษาย้อนหลังทำให้ข้อมูลบางส่วนไม่ครบถ้วน เช่น ผู้ป่วยบางรายไม่ได้รับการตรวจหา HBSAg และ anti-HCV ในเลือดทำให้ไม่ทราบความชุกของการเกิดไวรัสตับอักเสบบีและซีชนิดเรื้อรัง และในบางรายไม่ทราบระยะเวลาการมีชีวิตที่แน่นอนซึ่งเป็นที่ต้องการศึกษาในงานวิจัยนี้เพราะผู้ป่วยบางรายไม่มาติดตามการรักษาต่อหรือในรายที่ผู้ป่วยเสียชีวิตแล้วทำให้ไม่ได้มาติดตามการรักษาจึงต้องลงข้อมูลว่าขาดการติดต่อ แต่ก็ได้พยายามแก้ไขปัญหานี้ด้วยการติดต่อผู้ป่วยหรือญาติผู้ป่วยโดยทางไปรษณีย์หรือโทรศัพท์ที่ให้ไว้ อย่างไรก็ตามในอนาคตหากต้องการวิจัยเช่นเดียวกันนี้ต่อและมีระยะเวลามากพอควรเลือกรูปแบบการวิจัยเป็นการศึกษาไปข้างหน้า (prospective study) เพื่อสามารถระบุข้อมูลของผู้ป่วยที่ต้องการทราบและอาจได้รับความร่วมมือจากผู้ป่วยและญาติมากยิ่งขึ้น สำหรับการรวบรวมชิ้นเนื้อตัวอย่างเพื่อมาทำการย้อมหาโปรตีน p16 ต้องเป็นชิ้นเนื้อจากมะเร็งในตับเท่านั้นซึ่งได้มาจากการผ่าตัดก้อนมะเร็งหรือจากการเจาะตับเพื่อการวินิจฉัย ในระหว่างที่ทำงานวิจัยนี้ทางภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยกำลังปรับปรุงระบบเก็บข้อมูลและผลการตรวจของผู้ป่วยที่ได้รับการตรวจวินิจฉัยทางพยาธิวิทยาด้วยคอมพิวเตอร์ มีผลให้สามารถค้นหาชิ้นเนื้อผู้ป่วยที่ทำการตรวจในปี พ.ศ. 2540 ถึง พ.ศ. 2542 เป็นส่วนใหญ่ อุปสรรคที่พบจากการรวบรวมชิ้นเนื้อคือมีชิ้นเนื้อของผู้ป่วยบางรายหายไปจำนวนมาก (โดยเฉพาะในปี พ.ศ. 2541) ชิ้นเนื้อที่เก็บรักษาไว้ในพาราฟินถูกหนูกัดแทะทำลายไป (จำนวน 1 ราย) และชิ้นเนื้อเหลือไม่เพียงพอต่อการตรวจหรือไม่พบเซลล์มะเร็งเลย (จำนวน 2 ราย) แต่อุปสรรคที่พบเหล่านี้ก็พบเป็นส่วนน้อยเท่านั้น นอกจากนี้ยังพบว่ารายงานผลการตรวจทางพยาธิวิทยานั้นพยาธิแพทย์มักไม่ได้รายงานลักษณะวิวัฒนาการของเซลล์มะเร็ง (cell differentiation) ทำให้ไม่มีความสัมพันธ์ระหว่างวิวัฒนาการของเซลล์มะเร็งชนิด HCC กับการตรวจพบโปรตีน p16 ในการศึกษา นี้ ในภายหลังอาจปรึกษากับพยาธิแพทย์เพื่อทำการทบทวนการตรวจทางพยาธิวิทยาอีกครั้งเพื่อรายงานผลของวิวัฒนาการของเซลล์มะเร็ง

จากการทบทวนวรรณกรรมในบทที่ 3 ข้างต้นจากรายงานการศึกษาศึกษาการตรวจโปรตีน p16 ด้วยวิธี immunohistochemistry พบว่าเกณฑ์ที่ใช้ในการตัดสินว่าตรวจพบหรือไม่พบโปรตีน p16 นั้นอาศัยลักษณะสำคัญสองประการคือ ประการที่หนึ่งการมี internal positive control ซึ่งเป็นจากการย้อมติดสีของเซลล์เม็ดโลหิตขาวชนิด lymphocyte หรือเซลล์เยื่อบุผนังหลอดเลือด (endothelial cell) ที่

พบในก้อนมะเร็งจากตัวอย่างที่ย้อม ประการที่สองอาศัยปริมาณนิวเคลียสของเซลล์มะเร็งที่ติดสีย้อม แล้วเปรียบเทียบกับความผิดปกติของยีน P16 โดยอาศัยการตรวจหา allelic loss, mutation และ methylation จากรายงานการศึกษาส่วนใหญ่เกณฑ์ที่ใช้ตัดสินว่าตรวจไม่พบโปรตีน p16 จากการย้อม ด้วยวิธี immunohistochemistry คือตรวจพบนิวเคลียสติดสีย้อมน้อยกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 10 และการตรวจพบโปรตีน p16 อาศัยการติดสีย้อมเกินกว่าร้อยละ 10 การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความผิดปกติของยีน P16 กับการตรวจพบโปรตีน p16 มีอย่างน้อยสองการศึกษาที่ทำในมะเร็งปอดชนิดที่ไม่ใช่เซลล์เล็กและมะเร็งต่อมน้ำเหลืองชนิด NHL ยืนยันว่าการตรวจไม่พบโปรตีน p16 มีความสัมพันธ์อย่างมากกับความผิดปกติชนิดใดชนิดหนึ่งของยีน P16 โดยทั้งสองการศึกษานี้ใช้เกณฑ์ข้างต้นในการตัดสิน อย่างไรก็ตามมีรายงานการศึกษางานวิจัยที่ใช้เกณฑ์การตรวจพบนิวเคลียสของเซลล์มะเร็งติดสีน้อยกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 80 เช่นในรายงานการตรวจโปรตีน p16 ในมะเร็งปากมดลูก จะเห็นได้ว่าเกณฑ์ที่ใช้ในการตัดสินว่าตรวจพบหรือไม่พบโปรตีน p16 นั้นยังไม่มีกำหนดเป็นมาตรฐาน ในงานวิจัยนี้ อาศัยเกณฑ์การตรวจไม่พบโปรตีน p16 จากการติดสีในนิวเคลียสของเซลล์มะเร็งน้อยกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 10 โดยการย้อมโปรตีน p16 ด้วยวิธี immunohistochemistry และต้องตรวจพบการติดสีในนิวเคลียสของเซลล์เยื่อเมือกหรือเซลล์เม็ดโลหิตขาวชนิด lymphocyte เป็นตัวควบคุมภายในด้วย

การวิจัยเริ่มต้นจากการย้อมโปรตีน p16 ในเซลล์มะเร็งจากตัวอย่างชิ้นเนื้อมะเร็งจากตับที่รวบรวมได้ อุปสรรคที่พบคือ แม้ว่าการตรวจด้วยวิธี immunohistochemistry นี้เป็นงานประจำที่ทำได้ในห้องปฏิบัติทางพยาธิวิทยาของโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ แต่นักเทคนิคการแพทย์ที่ทำการย้อมหาโปรตีน p16 ในงานวิจัยนี้ยังขาดความชำนาญในการย้อมเนื่องจากงานวิจัยนี้ไม่ใช่งานที่ทำเป็นกิจวัตร ทำให้ชิ้นเนื้อที่ย้อมในครั้งแรกไม่ติดสี รศ.พญ.นพพรณ จารุภักษ์ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาพร้อมได้แก้ไขด้วยการส่งเจ้าหน้าที่ไปฝึกฝนเพิ่มเติมกับทางแผนกพยาธิวิทยา ทำให้ผลการย้อมในครั้งต่อมาดีขึ้น เมื่อได้ผลการย้อมโปรตีน p16 แล้วจากนั้นแบ่งผู้ป่วยเป็นสองกลุ่มคือ กลุ่มที่หนึ่งเป็นกลุ่มที่พบโปรตีน p16 และกลุ่มที่สองเป็นกลุ่มที่ไม่พบโปรตีน p16 แล้วเก็บรวบรวมข้อมูลผู้ป่วยตามที่ต้องการ โดยมีจุดประสงค์ในการวิจัยเพื่อเปรียบเทียบปัจจัยทางคลินิกและระยะเวลาการมีชีวิตในผู้ป่วยทั้งสองกลุ่มว่ามีความแตกต่างกันหรือไม่

ชิ้นเนื้อมะเร็งจากตับที่รวบรวมได้จากผู้ป่วยมะเร็งตับชนิด HCC ที่นำเสนอนในวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ จำนวน 55 รายพบว่า ตรวจพบโปรตีน p16 (ผลบวก) จำนวน 39 ราย (ร้อยละ 70.9) และตรวจไม่พบโปรตีน p16 (ผลลบ) จำนวน 16 ราย (ร้อยละ 29.1) ทำให้ทราบความชุกของการตรวจไม่พบโปรตีน p16 ในมะเร็งตับชนิด HCC เท่ากับร้อยละ 29.1 (จำนวน 16 ใน 55 ราย) ซึ่งจำนวนผู้ป่วยที่ตรวจไม่พบโปรตีน p16 นี้ยังได้ไม่ครบตามจำนวนขนาดตัวอย่างที่คำนวณไว้ (ต้องการอย่างน้อยกลุ่มละ 20 ราย) ต่อมาได้ทำการรวบรวมชิ้นเนื้อและทำการย้อมเพิ่มเติมอีกจำนวน 14 ตัวอย่าง ผลการย้อมโปรตีน p16 พบว่าทั้ง 14 ตัวอย่างตรวจพบโปรตีน p16 ทำให้ในขณะนี้นงานวิจัยนี้ยังไม่สามารถหาตัวอย่างในกลุ่มผู้ป่วยที่ตรวจ



ไม่พบโปรตีน p16 ได้เพียงพอ และความชุกของการตรวจไม่พบโปรตีน p16 ในมะเร็งตับชนิด HCC เปลี่ยนแปลงไปคือตรวจไม่พบโปรตีน p16 ร้อยละ 23.2 (16 ใน 69 ราย) มีการย้อมผิดพลาด (ย้อมไม่ติดสี) ทั้งหมดจำนวน 6 ราย (ได้ตัดออกจากศึกษา) คือย้อมไม่ติดสีทั้งนิวเคลียสของเซลล์มะเร็งและเซลล์เยื่อบุผนังหลอดเลือดหรือเซลล์เม็ดโลหิตขาวชนิด lymphocyte ที่ใช้เป็นตัวควบคุมภายในเพื่อวัดคุณภาพของการย้อม นอกจากนี้ตัวอย่างที่ย้อมอีก 2 รายไม่พบเซลล์มะเร็งในตัวอย่างที่ตรวจเลย รวมแล้วต้องตัดผู้ป่วยออกจากการศึกษาจำนวน 8 ราย คงเหลือผู้ป่วยจำนวน 55 ราย ความชุกของการตรวจไม่พบโปรตีน p16 ในโรคมะเร็งตับชนิด HCC ในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ซึ่งพบร้อยละ 29.1 ดังเช่นที่รายงานในวิทยานิพนธ์นี้ แต่ถ้ารวมขึ้นเนื้อที่ย้อมเพิ่มเติมในภายหลังอีก 14 รายซึ่งตรวจไม่พบโปรตีน p16 ทั้งหมด จะมีความชุกของการตรวจไม่พบโปรตีน p16 รวมร้อยละ 23.2 เมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาก่อนหน้านี้ สองการศึกษาที่ทำในประเทศญี่ปุ่นและเกาหลีพบว่ามีความชุกของการตรวจพบโปรตีน p16 ในมะเร็งตับชนิด HCC แตกต่างกับผลที่ทำการวิจัยในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ โดยจากการศึกษาของ Hui AM และคณะซึ่งทำการศึกษาในประเทศญี่ปุ่น ตรวจไม่พบโปรตีน p16 เท่ากับร้อยละ 34.0 (จำนวน 11 ใน 32 ตัวอย่าง) และการศึกษาของ Piao Z และคณะซึ่งทำการศึกษาในประเทศเกาหลีใต้ ตรวจไม่พบโปรตีน p16 เท่ากับร้อยละ 55.6 (จำนวน 5 ใน 9 ราย) ความชุกที่แตกต่างกันนี้อาจเป็นจากการศึกษาของ Hui AM และ Piao Z มีจำนวนตัวอย่างที่ตรวจน้อยเกินไป หรือถ้าจำนวนตัวอย่างตรวจเพียงพอก็อาจเป็นไปได้ว่าอาจมีความแตกต่างกันของปัจจัยที่ทำให้เกิดความผิดปกติของยีน P16 หรือสาเหตุของการเกิดโรคมะเร็งตับชนิด HCC ในผู้ป่วยโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์มีความแตกต่างจากผู้ป่วยที่ทำการศึกษาในญี่ปุ่นและเกาหลีใต้

ผลการวิจัยซึ่งรายงานในวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จากผู้ป่วยจำนวน 55 รายสามารถสรุปได้ดังนี้

กลุ่มที่พบโปรตีน p16 มีจำนวนผู้ป่วย 39 ราย เป็นเพศชาย 34 ราย (ร้อยละ 87.2) และเพศหญิง 5 ราย (ร้อยละ 12.8) ในกลุ่มที่ไม่พบโปรตีน p16 มีจำนวนผู้ป่วย 16 ราย เป็นเพศชาย 12 ราย (ร้อยละ 75.0) และเพศหญิง 4 ราย (ร้อยละ 25.0) ปัจจัยทางคลินิกโดยทั่วไปได้แก่ อายุของผู้ป่วย การติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีหรือซีชนิดเรื้อรัง การเกิดตับแข็ง (cirrhosis) ร่วมด้วย ในผู้ป่วยทั้งสองกลุ่มไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) สำหรับประวัติการดื่มสุราพบว่าในกลุ่มที่ตรวจพบโปรตีน p16 มีประวัติการดื่มสุรา 22 ราย (ร้อยละ 64.7) และในกลุ่มที่ตรวจไม่พบโปรตีน p16 มีประวัติการดื่มสุรา 3 ราย (ร้อยละ 27.3) ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p = 0.04$ ) ข้อมูลการดื่มสุรานั้นได้จากการรวบรวมประวัติการดื่มสุราซึ่งอาศัยการที่แพทย์ผู้ตรวจรักษาลงบันทึกในเวชระเบียน ซึ่งไม่สามารถระบุลงไปได้ว่าจำนวนที่ดื่มในแต่ละครั้งหรือระยะเวลาที่ดื่มเป็นอย่างไรเพราะส่วนใหญ่แพทย์ผู้ตรวจรักษาไม่ได้บันทึกไว้ ถ้าประวัติการดื่มสุรานั้นถูกต้องจริงความสัมพันธ์ของการดื่มสุรากับการตรวจพบโปรตีน p16 ก็มีความน่าสนใจเป็นอย่างยิ่ง จากการวิจัยนี้มีผู้ป่วยที่ประวัติการดื่มสุราจำนวน 25 ราย โดยตรวจพบโปรตีน p16 ในผู้ป่วยที่มีประวัติดื่มสุรา 22 ราย (ร้อยละ 88.0) และตรวจไม่พบโปรตีน p16 ในผู้ป่วยที่มีประวัติดื่มสุรา 3 ราย (ร้อยละ 12.0) จากการทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้องกับยีน P16 ยังไม่พบว่าผู้มีผู้ใด

กล่าวและอธิบายถึงความสัมพันธ์ของแอลกอฮอล์กับผลการตรวจโปรตีน p16 จึงขอตั้งสมมติฐานเพื่ออธิบายความสัมพันธ์นี้คือ สุราหรือเอทิลแอลกอฮอล์ไม่ได้ไปทำให้เกิดความผิดปกติของยีน P16 แต่กลับกระตุ้นการทำงานของยีน P16 โดยมีข้อมูลจากการศึกษาพบว่ายีน P16 มีหน้าที่เกี่ยวข้องในกรณีที่เกิดภัยอันตรายชนิดไม่รุนแรงต่อดีเอ็นเอเช่น รังสี หรือ แสงอุลตราไวโอเล็ต เมื่อเกิดอันตรายจากปัจจัยเหล่านี้ เซลล์ปกติมีการตอบสนองโดยจากการศึกษาพบว่าสามารถตรวจพบระดับโปรตีน p16 สูงขึ้นภายในเซลล์ การดื่มสุราซึ่งผู้ดื่มส่วนใหญ่มักจะได้รับไม่ต่อเนื่องคือมีช่วงเวลาที่หยุดดื่ม ดื่มมากบ้างและน้อยบ้าง เซลล์ตับจึงถูกทำลายจากแอลกอฮอล์เป็นครั้งคราวหรือภัยอันตรายที่เกิดจากแอลกอฮอล์อาจไม่รุนแรงเช่นเดียวกับรังสีหรือแสงอุลตราไวโอเล็ต ดังนั้นเซลล์ตับที่มียีน P16 ปกติ เมื่อได้รับอันตรายที่เกิดขึ้นจากผลของแอลกอฮอล์จะไปกระตุ้นให้ยีน P16 ทำงานมากขึ้น ทำให้มีการตรวจพบโปรตีน p16 เพิ่มขึ้น วงจรเซลล์ (cell cycle) หยุดการทำงานเพื่อการซ่อมแซมดีเอ็นเอที่ผิดปกติของเซลล์ ซึ่งปรากฏการณ์นี้แตกต่างไปจากการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีและซีชนิดเรื้อรังจึงไม่พบความแตกต่างระหว่างผลการตรวจโปรตีน p16 กับผลการตรวจ HBsAg และ Anti-HCV

การแบ่งระยะโรคมะเร็งตับชนิด HCC โดยการแบ่งระยะแบบ TNM และ Okuda ไม่พบว่ามี ความแตกต่างกันในระยะต่าง ๆ ของโรคกับการตรวจพบโปรตีน p16 รวมทั้งการแบ่งตาม Child classification ด้วย การวิจัยนี้ได้ผลแตกต่างจากการศึกษาของ Piao Z. และคณะทำการศึกษาความผิดปกติของยีน P16 ในมะเร็งตับชนิด HCC ซึ่งเป็นการศึกษาที่ทำในประเทศเกาหลีได้พบว่าขนาดของก้อนมะเร็งตับที่น้อยกว่า 3 เซนติเมตรมักพบที่มีความผิดปกติของยีน P16 ชนิด homozygous deletion มีข้อสังเกตว่าในการศึกษาไม่สามารถรวบรวมชิ้นเนื้อมะเร็งตับระยะ 1 ตามระบบ TNM ได้เลยเพราะส่วนใหญ่ผู้ป่วยมะเร็งตับชนิด HCC ในประเทศไทยมาพบแพทย์เมื่อมีอาการจากโรคมะเร็งและมะเร็งอยู่ในระยะที่เป็นมากแล้ว อาจเนื่องจากการตรวจคัดกรองโรคมะเร็งตับยังไม่ได้ทำอย่างแพร่หลายในผู้ที่มีปัจจัยเสี่ยงสูงต่อการเป็นโรคมะเร็งชนิดนี้ ผู้ป่วยที่มาพบแพทย์เมื่อมะเร็งตับแพร่กระจายไปไกลแล้ว (distant metastasis) ซึ่งพบจำนวน 10 จาก 46 ราย (ร้อยละ 21.7) ก็ไม่พบว่ามี ความแตกต่างในผลการตรวจพบโปรตีน p16

การตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อวัดระดับ alphafetoprotein (AFP) ในเลือดและตรวจหน้าที่การทำงานของตับ (liver function test) พบว่าค่าเฉลี่ยเลขคณิตของระดับ AFP ในกลุ่มผู้ป่วยที่พบโปรตีน p16 (34,496 ยูนิตต่อมล.) สูงกว่าในกลุ่มที่ไม่พบโปรตีน p16 (15,493 ยูนิตต่อมล.) แต่ความแตกต่างนี้ก็ไม่มากพอที่จะมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p = 0.21$ ) ทั้งนี้อาจเนื่องจากยังรวบรวมผู้ป่วยในกลุ่มที่ตรวจไม่พบโปรตีน p16 ได้เพียงพอกับจำนวนตัวอย่างที่คำนวณได้ สำหรับระดับ total bilirubin, direct bilirubin, SGOT, SGPT และ alkaline phosphatase ก็เป็นเช่นเดียวกันและไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ )

การรักษามะเร็งตับในปัจจุบันวิธีที่สามารถเพิ่มระยะเวลามีชีวิตของผู้ป่วยได้อย่างชัดเจนเมื่อเปรียบเทียบกับการรักษาแบบประคับประคองได้แก่ วิธีการผ่าตัดตับเพื่อตัดเอาก้อนมะเร็งออก การฉีดเอทิลแอลกอฮอล์ในก้อนมะเร็งขนาดเล็ก และการผ่าตัดเปลี่ยนตับ ส่วนวิธีการรักษาด้วยการฉีดยาเคมีบำบัดเข้าสู่ก้อนมะเร็งในตับโดยตรง (chemoembolization) มีการศึกษาแบบสุ่มเปรียบเทียบกับรักษาแบบประคับประคองจำนวน 3 การศึกษา ไม่มีความแตกต่างของอัตราการรอดชีวิตในทั้งสองกลุ่ม แต่อาจช่วยให้อาการลดลงหรือคุณภาพชีวิตดีขึ้นในผู้ป่วยที่ตอบสนองต่อการรักษา และการรักษาด้วยการฉีดยาเคมีบำบัดเข้าสู่ทางหลอดเลือดดำยังให้ผลตอบสนองต่อการรักษาไม่ดี จึงยังคงอยู่ในระหว่างการศึกษาวินิจฉัยเพื่อค้นหายาเคมีบำบัดชนิดใหม่ที่มีประสิทธิภาพดีขึ้น แต่อย่างไรก็ตามผู้ป่วยที่สามารถทำการผ่าตัดมีไม่มากเพราะผู้ป่วยมักจะมาในระยะที่มะเร็งตับเป็นมากแล้ว จากงานวิจัยพบว่าเมื่อเปรียบเทียบวิธีรักษาชนิดต่าง ๆ ในผู้ป่วยที่ตรวจพบและไม่พบโปรตีน p16 ก็ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ระยะเวลาการมีชีวิตของผู้ป่วยซึ่งนับตั้งแต่วันที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคมะเร็งตับจากการตรวจชิ้นเนื้อมะเร็งทางพยาธิวิทยาและติดตามผู้ป่วยจนกระทั่งถึงวันที่ผู้ป่วยเสียชีวิตหรือไม่มาติดตามการรักษา พบว่าค่ามัธยฐาน (median) ของระยะเวลาการมีชีวิตในกลุ่มที่ตรวจพบโปรตีน p16 (จำนวน 33 ราย) มีค่าเท่ากับ 14.7 สัปดาห์ และในกลุ่มที่ตรวจไม่พบโปรตีน p16 (จำนวน 11 ราย) มีค่าเท่ากับ 9.6 สัปดาห์ ซึ่งดูเหมือนว่าจะมีความแตกต่างกันแต่เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างด้วยวิธี log rank test พบว่าไม่มีความแตกต่างของระยะเวลาการมีชีวิต ( $p = 0.73$ ) ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าถ้ารวบรวมจำนวนตัวอย่างในกลุ่มที่ตรวจไม่พบโปรตีน p16 ได้เพียงพอคือจำนวน 20 รายก็อาจมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติก็ได้ แต่ถ้าผลยังคงไม่มีความแตกต่างอาจแสดงว่าความผิดปกติของโปรตีน p16 ซึ่งสะท้อนกลับไปยังความผิดปกติของยีน P16 ไม่มีบทบาทสำคัญในการในระยะเวลามีชีวิตของผู้ป่วยมะเร็งตับชนิด HCC มีข้อสังเกตว่าจากการทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้องกับระยะเวลามีชีวิตของผู้ป่วยโรคมะเร็งปอด มะเร็งตับอ่อน ซึ่งผลการศึกษาพบว่าระยะเวลามีชีวิตมีความสัมพันธ์กับความผิดปกติของยีน P16 หรือโปรตีน p16 และผู้ป่วยที่ศึกษามากเป็นมะเร็งระยะเริ่มแรกและสามารถทำการรักษาด้วยการผ่าตัดได้ ทำให้สมมติฐานว่ายีน P16 อาจมีบทบาทในระยะแรกของโรคมะเร็ง ทำให้น่าจะมีการศึกษาต่อในมะเร็งตับชนิด HCC โดยรวบรวมผู้ป่วยที่พบและไม่พบความผิดปกติของโปรตีน p16 เฉพาะที่สามารถให้การรักษาด้วยการผ่าตัดได้หรือเป็นมะเร็งตับระยะเริ่มแรกแล้วหาความแตกต่างของระยะเวลาที่ปราศจากโรคมะเร็ง (disease free survival) และระยะเวลาการมีชีวิตของผู้ป่วย

โดยสรุปจากผลการศึกษาวิจัยนี้ทำให้ทราบว่าความชุกของการตรวจไม่พบโปรตีน p16 ในโรคมะเร็งตับชนิด HCC ในผู้ป่วยไทยเท่ากับร้อยละ 29.1 (16 ใน 55 ราย) และเมื่อวิเคราะห์หาความแตกต่างในปัจจุบันทางคลินิก วิธีการรักษา และระยะเวลาการมีชีวิตของผู้ป่วยทั้งสองกลุ่ม (ยกเว้นประวัติการดื่มสุรา) ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การตรวจพบและไม่พบโปรตีน p16 อาจไม่มี



ความสัมพันธ์ทางคลินิกกับโรคมะเร็งตับชนิด HCC ซึ่งแตกต่างจากโรคมะเร็งอีกหลายชนิดที่พบว่าผลการตรวจโปรตีน p16 มีความสัมพันธ์กับปัจจัยต่าง ๆ เช่น ระยะโรคมะเร็ง การลุกลามของโรคมะเร็ง และระยะเวลาการมีชีวิตของผู้ป่วย แต่ข้อสรุปจากการวิจัยนี้คงต้องทำต่อไปโดยรวบรวมผู้ป่วยมะเร็งตับชนิด HCC ที่ตรวจไม่พบโปรตีน p16 ให้ครบจำนวนอย่างน้อย 20 รายก่อนแล้วจึงวิเคราะห์เปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติอีกครั้งหนึ่ง ถ้าไม่มีความแตกต่างกันเช่นเดิมจึงสามารถสรุปการวิจัยได้อย่างสมบูรณ์และควรเผยแพร่ผลงานนี้แม้ว่าผลการศึกษาจะไม่เป็นไปตามที่คาดหวังเพื่อเปรียบเทียบการศึกษาที่อาจมีการศึกษาในประเทศอื่นหรือในกลุ่มที่มีข้อมูลทางคลินิกที่แตกต่างไปจากการวิจัยนี้

### อุปสรรคในการศึกษาวิจัย

สิ่งสำคัญของการศึกษาวิจัยนี้คือ ข้อมูลของผู้ป่วยซึ่งได้จากการเก็บรวบรวมในเวชระเบียนของผู้ป่วยและการค้นหาชิ้นเนื้อที่เก็บรักษาไว้ อุปสรรคที่พบจากงานวิจัยนี้ได้แก่

- 1) มีความบกพร่องของข้อมูลจำนวนมาก ทำให้ไม่สามารถบอกถึงปัจจัยเสี่ยงในการเกิดโรคมะเร็งตับในผู้ป่วยรายนั้นได้ หรือมีการเจาะเลือดเพื่อตรวจหา HBsAg และ anti-HCV แต่ก็ไม่ได้ติดตามผลมาบันทึกเวชระเบียน แนวทางการแก้ไขต้องให้ความรู้เรื่องมะเร็งตับและชี้ให้เห็นถึงความสำคัญในการหาปัจจัยเสี่ยงของการเกิดโรคมะเร็งตับชนิด HCC แก่แพทย์ผู้ทำการตรวจรักษา นอกจากนี้ญาติผู้ป่วยอาจได้รับประโยชน์ในกรณีที่ผู้ป่วยเป็นพาหะของโรคไวรัสตับอักเสบบีหรือซี เพื่อทำการตรวจหาญาติผู้ป่วยที่เป็นพาหะเช่นเดียวกัน ซึ่งเป็นหนทางนำไปสู่การตรวจคัดกรองโรคมะเร็งตับและให้การรักษาแต่เริ่มแรกเมื่อเกิดโรคมะเร็งตับขึ้น หรือให้วัคซีนป้องกันโรคไวรัสตับอักเสบบีแก่ญาติผู้ป่วยที่มีโอกาสรับเชื้อไวรัสจากผู้ป่วยเป็นการป้องกันการแพร่กระจายโรคไวรัสตับอักเสบบีทางหนึ่ง
- 2) ชิ้นเนื้อที่เก็บไว้เหลือไม่มากทำให้ไม่สามารถตัดแข็งชิ้นเนื้อมาทำการย้อมได้ ในรายที่ย้อมแล้วไม่ติดหรือผิดพลาดทางเทคนิคจึงไม่สามารถตัดชิ้นเนื้อมาย้อมใหม่ได้ ทำให้ต้องตัดออกจากการศึกษาไป การเก็บรักษาชิ้นเนื้อที่แผนกพยาธิวิทยาายังทำได้ไม่สมบูรณ์เพราะมีบางส่วนหายไปหรือถูกทำลายจากสัตว์ (หนู) แนวทางการแก้ไขควรรายงานให้ผู้มีส่วนเกี่ยวข้องและรับผิดชอบเพื่อหาหนทางป้องกันการทำลายของชิ้นเนื้อและป้องกันชิ้นเนื้อถูกทำลายจากสัตว์
- 3) ขั้นตอนการย้อมใช้เวลานาน ดังนั้นการย้อมต้องใช้เวลาประมาณ 3 ถึง 4 วันทำให้เสียเวลาค่อนข้างมาก ประกอบกับการย้อมโปรตีน p16 นี้ไม่ได้เป็นการตรวจทางห้องปฏิบัติการที่ทำเป็นกิจวัตรทำให้ผู้ย้อมขาดประสบการณ์ในตอนแรก ผลการย้อมจึงออกมาไม่ดีเท่าที่ควร อย่างไรก็ตามการตรวจโปรตีน p16 ด้วยวิธี immunohistochemistry เป็นวิธีการตรวจที่มีความสัมพันธ์อย่างมากต่อการตรวจพบความผิดปกติของยีน P16 สามารถทำได้ในห้องปฏิบัติการของแผนกพยาธิวิทยาเพราะเป็นการตรวจที่มีหลักการคล้ายกับการย้อมพิเศษชนิดอื่น ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับการตรวจหาความผิดปกติของยีน P16 โดยตรงแล้วจะทำได้ยากกว่า ต้องใช้เครื่องมือที่มีความซับซ้อนในการตรวจมากกว่า และจำเป็นต้องอาศัยทักษะและความชำนาญของผู้ตรวจสูงกว่าการตรวจหาโปรตีน p16 ด้วยวิธี

immunohistochemistry จึงอาจถือได้ว่าการตรวจด้วยวิธี immunohistochemistry เป็นวิธีที่ง่ายที่สุด  
ในปัจจุบันในการตรวจหาโปรตีนที่เป็นผลผลิตจากยีน

#### แนวทางในการศึกษาวิจัยต่อไป

จากการรวบรวมวรรณกรรมที่เกี่ยวข้องกับโปรตีน p16 ในโรคมะเร็งตับชนิด HCC พบว่าไม่มีรายงานถึงความสัมพันธ์ทางคลินิกในโรคมะเร็งชนิดนี้ ในขั้นต้นจึงสมมติฐานว่าอาจยังไม่มีผู้ได้ทำการศึกษาอยู่จึงดำเนินการวิจัย และจากผลการวิจัยพบว่าโปรตีน p16 ไม่มีความสัมพันธ์กับปัจจัยทางคลินิกของโรคมะเร็งตับชนิด HCC (ยกเว้นประวัติการดื่มสุรา) ซึ่งการสมมติฐานว่าไม่มีผู้ศึกษาวิจัยนี้อาจจะผิดก็ได้ เพราะถ้าผลการศึกษาไม่มีความสัมพันธ์ดังกล่าวจริงก็อาจไม่ได้รับการลงตีพิมพ์ในวารสารทางการแพทย์ ทำให้ไม่ทราบว่ามีผู้ทำการวิจัยแล้ว มีผลให้ทำการวิจัยซ้ำซึ่งเป็นการสิ้นเปลืองทั้งเวลาและค่าใช้จ่าย ในขณะที่จึงสรุปเบื้องต้นได้ว่าความผิดปกติของยีน P16 หรือการตรวจไม่พบโปรตีน p16 ไม่มีบทบาทสำคัญในการก่อโรคมะเร็งตับชนิด HCC หรือถ้ามีบทบาทอาจมีเพียงเล็กน้อยซึ่งอาจเป็นปัจจัยช่วยส่งเสริมปัจจัยอื่นที่เป็นสาเหตุโดยตรง ควรทำการรวบรวมผู้ป่วยที่ตรวจไม่พบโปรตีน p16 ต่อให้ครบอย่างน้อย 20 รายแล้วเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติอีกครั้ง จะได้ผลสรุปที่ถูกต้องยิ่งขึ้น แนวทางการศึกษาวิจัยต่อไปนั้นเพื่อให้ได้ความรู้ในยีนด้านมะเร็ง และพยาธิกำเนิดของโรคมะเร็งตับชนิด HCC มากขึ้นควรทำการศึกษาในด้านมะเร็งชนิดอื่น เช่น ยีน p53 ยีน p21 ยีน pRB ไปควบคู่กับยีน p16 นี้ ศึกษาผลของสุราหรือเอทิลแอลกอฮอล์ต่อยีน P16 และศึกษาเปรียบเทียบระยะเวลาการมีชีวิตในผู้ป่วยทั้งสองกลุ่มเฉพาะผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาด้วยการผ่าตัดเพื่อพิจารณาความแตกต่างในระยะเวลาการกลับเป็นซ้ำ และระยะเวลาการมีชีวิต

## รายการอ้างอิง

1. Longo DL. Neoplastic disorders. In : Fauci AS, Braunwald E, Isselbacher KJ, Wilson JD, Martin JB, Kasper DL, et al. Harrison' s Principle of internal medicine, 14<sup>th</sup> edition. USA: McGraw-Hill 1998; 493-8.
2. Deerasamee S, Martin N, Sontipong S, Sriamporn S, Sriplung H, Srivatanakul P, et al. Cancer in Thailand, vol. II,1992 - 1994. The International Agency for research on cancer, Lyon, France 1999; 1-95
3. Statistical unit, Department of radiology, Faculty of medicine, Chulalongkorn hospital, Chulalongkorn university. Tumor registry Chulalongkorn hospital, statistical report 1983. Chulalongkorn University printing House 1986; 1-22.
4. Statistical unit, Department of radiology, Faculty of medicine, Chulalongkorn hospital, Chulalongkorn university. Tumor registry Chulalongkorn hospital, statistical report 1984. Chulalongkorn University printing House 1986; 1-30.
5. Statistical unit, Department of radiology, Faculty of medicine, Chulalongkorn hospital, Chulalongkorn university. Tumor registry Chulalongkorn hospital, statistical report 1985. Chulalongkorn University printing House 1989;1-31.
6. Statistical unit, Department of radiology, Faculty of medicine, Chulalongkorn hospital, Chulalongkorn university. Tumor registry Chulalongkorn hospital, statistical report 1986. Chulalongkorn University printing House 1989; 1-29.
7. Statistical unit, Department of radiology. Faculty of medicine, Chulalongkorn hospital, Chulalongkorn university. Tumor registry Chulalongkorn hospital, statistical report 1987. Chulalongkorn University printing House 1989; 1-30.
8. Statistical unit, Department of radiology, Faculty of medicine, Chulalongkorn hospital, Chulalongkorn university. Tumor registry Chulalongkorn hospital, statistical report 1988. Chulalongkorn University printing House 1991; 1-31.
9. Statistical unit, Department of radiology, Faculty of medicine, Chulalongkorn hospital, Chulalongkorn university. Tumor registry Chulalongkorn hospital, statistical report 1989. Chulalongkorn University printing House 1991; 1-31.

10. Statistical unit, Department of radiology, Faculty of medicine, Chulalongkorn hospital, Chulalongkorn university. Tumor registry Chulalongkorn hospital, statistical report 1990. Chulalongkorn University printing House 1-32.
11. Statistical unit, Department of radiology, Faculty of medicine, Chulalongkorn hospital, Chulalongkorn university. Tumor registry Chulalongkorn hospital, statistical report 1991. Chulalongkorn University printing House 1-32.
12. Statistical unit, Department of radiology, Faculty of medicine, Chulalongkorn hospital, Chulalongkorn university. Tumor registry Chulalongkorn hospital, statistical report 1992. Chulalongkorn University printing House 1-31.
13. Statistical unit, Department of radiology, Faculty of medicine, Chulalongkorn hospital, Chulalongkorn university. Tumor registry Chulalongkorn hospital, statistical report 1993. Chulalongkorn University printing House 1-33.
14. Statistical unit, Department of radiology, Faculty of medicine, Chulalongkorn hospital, Chulalongkorn university. Tumor registry Chulalongkorn hospital, statistical report 1994. Chulalongkorn University printing House 1-36.
15. Statistical unit, Department of radiology, Faculty of medicine, Chulalongkorn hospital, Chulalongkorn university. Tumor registry Chulalongkorn hospital, statistical report 1995. Chulalongkorn University printing House 1-36.
16. Statistical unit, Department of radiology, Faculty of medicine, Chulalongkorn hospital, Chulalongkorn university. Tumor registry Chulalongkorn hospital, statistical report 1996, Chulalongkorn University printing House 1-36.
17. Statistical unit, Department of radiology, Faculty of medicine, Chulalongkorn hospital, Chulalongkorn university. Tumor registry Chulalongkorn hospital, statistical report 1997. Chulalongkorn University printing House 1-36.
18. นรินทร์ วรวิทย์. cancer biology. ใน: วิทยา ศรีตามา บรรณาธิการ. ตำราอายุรศาสตร์ 2. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์ยูนิตี พับลิเคชั่น 2538; 573-602.
19. Charuruks N, Voravud N. Molecular biology of head and neck tumorigenesis: The role of p53 expression and genetic instability. J Med Assoc Thai 1996; 79: 83-9.
20. นวพรรณ จารุรักษ์. The role of cell-cycle and apoptosis in tumorigenesis. ใน: นเรศ สุขเจริญ, อภิวัฒน์ มุทิรากร, ยง ภูววรรณ บรรณาธิการ. อนุชีววิทยาทางการแพทย์. กรุงเทพฯ: บริษัท เท็กซ์ แอนด์ เจอร์นัล พับลิเคชั่น จำกัด 2541; 447-62.

21. Charuruks N, Sutheesophon J, Voravud N. Cell cycle and tumorigenesis. *Chula Med J* 1998;42(11): 1035-48.
22. Benchimol S, Minden MD. Viruses, oncogenes, and tumor suppressor genes. In: Tannock LF, Hill RP. *The basic science of oncology*, third edition. Singapore : McGraw-Hill 1998; 79-105.
23. Salgia R, Skarin AT. Molecular abnormalities in lung cancer. *J Clin Onco* 1998;6(3) :1207-17.
24. Liggett WH, Sidransky JD. Role of the p16 tumor suppressor gene in cancer. *J Clin Oncol* 1998;16:1197-1206.
25. Hui AM, Sakamoto M, Kanai Y, Ino Y, Gotoh M, Yokota J, Hirohashi S. Inactivation of p16INK4 in hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 1996;24:575-9.
26. Taga S, Osaki T, Ohgami A, Imoto H, Yoshimatsu T, Yoshino I, et al. Prognostic value of the immunohistochemical detection of p16ink4 expression in nonsmall cell lung carcinoma. *Cancer* 1997;80:389-95.
27. Volm M, Koomagi R, Mattern J. Prognostic value of p16INK4A expression in lung adenocarcinoma. *Anticancer Res* 1998;18:2309-12.
28. Minobe K, Onda M, Iida A, Kasumi F, Sakamoto G, Nakamura Y, Emi M. Allelic loss on chromosome 9q is associated with lymph node metastasis of primary breast cancer . *Jpn J Cancer Res* 1998;89:916-22.
29. Takeuchi H, Ozawa S, Ando N, Shih CH, Koyanagi K, Ueda M, Kitajima M. Altered p16/MTS1/CDKN2 and cyclin D1/PRAD-1 Gene Expression Is Associated with the Prognosis of Squamous Cell Carcinoma of the Esophagus. *Clin Cancer Res* 1997 ;3:2229-36.
30. Lydiatt WM, Davidson BJ, Schantz SP, Caruana S, Chaganti RS. 9p21 deletion correlates with recurrence in head and neck cancer. *Head Neck* 1998;20:113-8.
31. Piao Z, Park C, Lee JS, Yang CH, Choi KY, Kim H. Homozygous deletions of the CDKN2 gene and loss of heterozygosity of 9p in primary hepatocellular carcinoma. *ancer Letters* 1998;122:201-7.
32. Sheu JC. Molecular mechanism of hepatocarcinogenesis. *J Gastroenterol Hepatol* 1997;12:S309-13.
33. Kita R, Nishida N, Fukuda Y, Azechi H, Matsuoka Y, Komeda T, et al. Infrequent alterations of the p16INK4A gene in liver cancer. *Int J Cancer* 1996;17;67:176-80.
34. อภิวัฒน์ มุทิรางกูร. Human gene & genome : structure, mutation & analysis. ใน: นเรศ สุขเจริญ, อภิวัฒน์ มุทิรางกูร, ยง ภู่วรรณ บรรณาธิการ. *อนุชีววิทยาทางการแพทย์*. กรุงเทพฯ: บริษัท เท็กซ์ แอนด์ เจอร์นัล พับลิเคชั่น จำกัด 2541;19-37.



35. Gazzeri S, Gouyer V, Vour'ch C, Brambilla C, Brambilla E. Mechanisms of p16INK4A inactivation in non small-cell lung cancers. *Oncogene* 1998; 29;16:497-504.
36. Tsuda H, Hirohashi S, Shimosato Y, Yoshida T, Terada M. Low incidence of point mutation of *c-Ki-ras* and *N-ras* oncogenes in human hepatocellular carcinoma. *Jpn J cancer Res* 1989;80:196-9.
37. อุนุชิต จุฑะพุทธิ 2542. การตรวจเฝ้าระวังมะเร็งตับปฐมภูมิ. *จุลสารสมาคมแพทย์ระบบทางเดินอาหารแห่งประเทศไทย* 7(34) : 100-7.
38. Linsell CA. Environmental chemical carcinogens and liver cancer. In: Lapis K, Johannessen JV, eds, *Liver Carcinogenesis*. Hemisphere Publishing Co 1979.
39. Beasley RP, Hwang LY, Lin CC, et al. Hepatocellular carcinoma and hepatitis B virus: a prospective study of 22,707 men in Taiwan. *Lancet* 1981;2:1129.
40. Okuda K. Hepatocellular carcinomas associated with hepatitis B and C virus infections: are they different? *Hepatology* 1995;22:1883.
41. Edmondson HA, Steiner PE. Primary carcinoma of the liver. *Cancer* 1954;462.
42. Tiribell C, Malato M, Croce LS, Giarelli L, Okuda K, Ohnishi K. Prevalence of hepatocellular carcinoma and relation to cirrhosis. *Hepatology* 1989;10:798.
43. Carr B, Flickinger JC, Lotze MT. Hepatobiliary cancer. In : DeVita VT, Jr, Hellman S, Rosenberg SA. *Principles & Practice of Oncology*, fifth edition. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers 1997 : 1087-1114.
44. Fleming ID, Cooper JS, Henson DE, Hutter RVP, Kennedy BJ, Murphy GP, et al. Liver. In : *AJCC Cancer Staging Manual*, fifth edition. Philadelphia : Lippincott-Raven Publishers 1997:97-101.
45. Matsumoto Y, Suzuki T, Asada I, Ozawa K, Tobe T, Honjo I. Clinical classification of hepatoma in Japan according to serial changes in serum alpha-fetoprotein levels. *Cancer* 1982;49:354.
46. Liebman HA, Furie BC, Tong MJ, Blanchard RA, Lo KJ, Lee SD, et al. DES-gamma-carboxy (abnormal) prothrombin as a serum marker of primary hepatocellular carcinoma. *N Engl J Med* 1984;310:1427.
47. Lefrere JJ, Gozin D, Soulier JP, Bettan L, Mavier P, Dhumeaux D, et al. Specificity of increased des-gamma-carboxyprothrombin in hepatocellular carcinoma after vitamin K1 injection. *J Hepatol* 1987;5:27-9.



48. Fujiyama S, Morishita T, Hashiguchi O, Sato T. Plasma abnormal prothrombin (des-gamma-carboxy prothrombin) as a marker of hepatocellular carcinoma. *Cancer* 1988;61:1621.
49. Sakon M, Monden M, Gotoh M, Kobayashi K, Kanai T, Umeshita K, et al. The effects of vitamin K on the generation of des-gamma-carboxy prothrombin (PIVKA-II) in patients with hepatocellular carcinoma. *Am J Gastroenterol* 1991;86:339-45.
50. Sheu JC, Sung JL, Chen DS, Lai MY, Wang TH, Yu JY et al. Early detection of hepatocellular carcinoma by realtime ultrasonography. *Cancer* 1985;56:660.
51. Chen MF, Hwang TL, Tsao KC, Sun CF, Chen TJ. Flow cytometric DNA analysis of hepatocellular carcinoma: preliminary report. *Surgery* 1991;109:455.
52. Tarao K, Shimizu A, Harada M, Ohkawa S, Okamoto N, Kuni Y, et al. In vitro uptake of bromodeoxyuridine by human hepatocellular carcinoma and its relations to histopathologic findings and biologic behavior. *Cancer* 1991;68:1789-94.
53. Duesenbery D, Ferris JV, Thaete FL, Carr BI. Percutaneous ultrasound-guided needle biopsy of hepatic mass lesions using a cytohistologic approach. *J Clin Pathol* 1995;104:583.
54. Dodd GD, Carr BI. Percutaneous biopsy of portal vein thrombus: a new staging technique for hepatocellular carcinoma. *Am J Radiology* 1993;161:229.
55. Zoli M, Marchesini G, Melli A, Viti G, Marra A, Marrano D, Pisi E. Evaluation of liver volume and liver function following hepatic resection in man. *Liver* 1989;6:286.
56. Nagasue N, Yukaya H, Ogawa Y, Kochno H, Nakamura T. Human liver regeneration after major hepatic resection. *Ann Surg* 1987;206:30.
57. Chen MF, Hwang TL, Hung CF. Human liver regeneration after major hepatectomy. *Ann Surg* 1991;213:227.
58. Starzl TC, Putnam CW, Groth CG, Corman JL, Taubman J. Alopecia, ascites and incomplete regeneration after 85-90% liver resection. *Am J Surg* 1975;125:587.

59. Nonami T, Isshiki K, Kato H, Kishimoto W, Harada A, Nakao A, et al. The potential role of postoperative hepatic artery chemotherapy in patients with high-risk hepatomas. *Ann Surg* 1991;213:222-6.
60. Iwatsuki S, Starzl TE, Sheahan DA, Yokoyama J, Demetris AJ, Todo S, et al. Hepatic resection versus transplantation for hepatocellular carcinoma. *Ann Surg* 1991;214:221-8.
61. Franco D, Capussotti L, Smadja C, Bouzari H, Meakins J, Kemeny F, et al. Resection of hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 1990;98:733-8.
62. Okuda K, Ohtsuki T, Obata H, Tomimatsu M, Okazaki N, Hasegawa H, et al. Natural history of hepatocellular carcinoma and prognosis in relation to treatment: study of 850 patients. *Cancer* 1985;56:918-28.
63. Nagao T, Inoue S, Goto S, Mizuta T, Omori Y, Kawano N, Morioka Y. Hepatic resection for hepatocellular carcinoma. *Ann Surg* 1987;205:33-40.
64. Nagorney DM, Van Heerden JA, Illstrup DM, Adson MA. Primary hepatic malignancy: surgical management and determinants of survival. *Surgery* 1989;106:740.
65. Belghiti J, Panis Y, Farges O, Benhamou JP, Fekete F. Intrahepatic recurrence after resection of hepatocellular carcinoma complicating cirrhosis. *Ann Surg* 1991;241:114-7.
66. Takenaka K, Yamamoto K, Taketomi A, Itasaka H, Adachi E, Shirabe K, et al. A comparison of the surgical results in patients with hepatitis B versus hepatitis C-related hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 1995;22:20-4.
67. Nagasue N, Kohno H, Uchida M. Evaluation of preoperative transcatheter arterial embolization in the treatment of resectable primary liver cancer. *Semin Surg Oncol* 1993;9:327.
68. Dagradi AD, Mangiante GL, Marchiori LAM, Nicoli NM. Repeated hepatic resection. *Int Surg* 1987;72:87.
69. Kanematsu T, Matsumata T, Takenada K, Yoshida Y, Higashi H, Sugimachi. Clinical Management of recurrent hepatocellular carcinoma after primary resection. *Br J Surg* 1988;75:203.

70. Nagao T, Inoue S, Yoshimi F, Sodeyama M, Omori Y, Mizuta T, et al. Postoperative recurrence of hepatocellular carcinoma. *Ann Surg* 1990;211:28-33.
71. Starzl TE, Demetris AJ, Van Thiel D. Liver transplantation: second of two parts. *N Engl J Med* 1989;321:1092.
72. Kim YI, Calne RY, Nagasue N. Cyclosporin A stimulates proliferation of the liver cells after partial hepatectomy in rats. *Surg Gynecol Obstet* 1988;166:317.
73. Mazzaferro V, Porter KA, Scotti-Foglieni CL, Venkataramanan R, Makowka L, Rossaro L, et al. The hepatotropic influence of cyclosporine. *Surgery* 1990;107:533-9.
74. Yokoyama I, Carr B, Saito H, Iwatsuki S, Starzl TE. Accelerated growth rates of recurrent hepatocellular carcinoma after liver transplantation. *Cancer* 1991;68:2095.
75. Spear AG, Cotton PB, Russell RCG. Randomized trial of endoscopic versus percutaneous stent insertion in malignant obstructive jaundice. *Lancet* 1987;1:57.
76. Matsuda Y, Shimakura K, Akamatsu T. Factors affecting the patency of stents in malignant biliary obstructive disease: univariate and multivariate analysis. *Am J Gastroenterol* 1991;86:843.
77. Neuhaus H, Hagenmuller F, Griebel M, Classen M. Percutaneous cholangioscopy of transpapillary insertion of self-expanding biliary metal stents. *Gastrointest Endosc* 1991;37:31.
78. Jackson JE, Roddie ME, Chetty N, Benjamin IS, Adam A. The management of occluded metallic self-expandable biliary endoprosthesis. *AJR* 1991;157:291.
79. Masters A, Steger AC, Bown SG. Role of interstitial therapy in the treatment of liver cancer. *Br J Surg* 1991;78:518.
80. Zhou XD, Tank ZY, Yu YQ, Ma ZC. Clinical evaluation of cryosurgery in the treatment of primary liver cancer. *Cancer* 1988;61:1889.
81. Kountouras J, Boura P, Karolidis A, Zaharioudaki E, Tsapas G. Recombinant  $\alpha 2$  interferon ( $\alpha$ -IFN) with chemo-hormonal therapy in patients with hepatocellular carcinoma (HCC). *Hepatogastroenterology* 1995;42(1):31.

82. Lai CL, Lau JY, Wu PC, et al. Recombinant interferon-alpha in inoperable hepatocellular carcinoma: a randomized controlled trial. *Hepatology* 1993;17:389.
83. Aldeghi R, Lissoni P, Barni S, et al. Low-dose interleukin-2 subcutaneous immunotherapy in association with the pineal hormone melatonin as a first-line therapy in locally advanced or metastatic hepatocellular carcinoma. *Eur J Cancer* 1994;30A:167.
84. Yamamoto M, Iizuka H, Fujii H, Matsuda M, Miura K. Hepatic arterial infusion of interleukin-2 in advanced hepatocellular carcinoma. *Acta Oncol* 1993;32:43.
85. Trinchet, J-C et al. A comparison of lipiodol chemoembolization and conservative treatment for unresectable hepatocellular carcinoma. *N Engl J Med* 1995;332:1256; Editorial, 1294.
86. Bronowicki JP, Vetter D, Dumas F, Boudjema K, Bader R, Weiss AM, et al. Transcatheter oily chemoembolization for hepatocellular carcinoma: a 4-year study of 127 French patients. *Cancer* 1994;74:16-24.
87. Rougier P, Roche A, Pelletier G, Ducreux M, Pignon JP, Etienne JP. Efficacy of chemoembolization for hepatocellular carcinomas: experience from the Gustave Roussy Institute and the Bicetre Hospital. *J Surg Oncol* 1993;3:94.
88. Pelletier G, Roche A, Ink O, Anciaux ML, Derhy S, Rougier P, et al. A randomized trial of hepatic artery chemo-embolization in patients with unresectable hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 1990;11:181-4.
89. Chang JM, Tzeng WS, Pan HB, Yang CF, Lai KH. Transcatheter arterial embolization with or without cisplatin treatment of hepatocellular carcinoma: a randomized controlled study. *Cancer* 1994;74:2449.
90. Livraghi T, Bolondi L, Lazzaroni S, Marin G, Morabito A, Rapaccini GL, et al. Percutaneous ethanol injection in the treatment of hepatocellular carcinoma in cirrhosis: a study in 207 patients. *Cancer* 1992;69:925-9.
91. Kotoh K, Sakai H, Sakamoto S, Nakayama S, Satoh M, Morotomi I, et al. The effect of percutaneous ethanol injection therapy on small solitary hepatocellular carcinoma is comparable to that of hepatectomy. *Am J Gastroenterol* 1994;89:194-8.

92. Redvanly RD, Chezmar JL, Strauss RM, Galloway JR, Boyer TD, Bernardino ME. Malignant hepatic tumors: safety of high dose percutaneous ethanol ablation therapy. *Radiology* 1993;188:283-5.
93. Honda N, Guo Q, Uchida H, Ohishi H, Hiasa Y. Percutaneous hot saline injection therapy for hepatic tumors: an alternative to percutaneous ethanol injection therapy. *Radiology* 1994;190:53.
94. Ohnishi K, Ohyama N, Ito S, Fuyiwara K. Small hepatocellular carcinoma: treatment with US-guided intratumoral injection of acetic acid. *Radiology* 1994;193:747.
95. Murakami R, Yoshimatsu S, Yamashita Y, Matsukawa T, Takahashi M, Sagara K. Treatment of hepatocellular carcinoma: value of percutaneous microwave coagulation. *AJR* 1995;164:1159.
96. Dowlatshani K, Bhattacharya AK, Silver B, Matalon T, Williams JW. Percutaneous interstitial laser therapy of a patient with recurrent hepatoma in transplanted liver. *Surgery* 1992;112:603.
97. Curley SA, Newman RA, Dougherty TB, Fuhrman GM, Stone DL, Mikolajek JA, et al. Complete hepatic venous isolation and extracorporeal chemofiltration as treatment for human hepatocellular carcinoma: a phase I study. *Ann Surg Oncol* 1994;1:389-99.
98. McPeake JR, O'Grady JG, Zaman S, Portmann B, Wight DG, Tan KC, et al. Liver transplantation for primary hepatocellular carcinoma: tumor size and number determine outcome. *J Hepatol* 1993;18:226-34.
99. Ingold JA, Reed GB, Kaplan HS, Bagshaw MA. Radiation hepatitis. *AJR* 1965;93:200.
100. Tefft M, Mitus A, Jaffe N. Irradiation of the liver in children: acute effects enhanced by concomitant chemotherapeutic administration. *AJR* 1971;111:165.
101. Anscher MS, Crocker IR, Jirtle RL. Transforming growth factor-beta 1 expression in irradiated liver. *Radiat Res* 1990;122:77.
102. Leung WT, Lau WY, Ho S, Chan M, Leung N, Lin J, et al. Selective internal radiation therapy with intraarterial iodine-131-lipiodol in inoperable hepatocellular carcinoma. *J Nucl Med* 1994;35:1313-8.



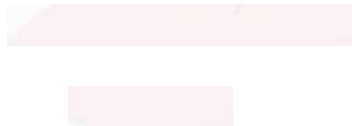
103. Raoul JL, Guyader D, Bretagne JF, Duvauferrier R, Bourguet P, Bekhechi D, et al. Randomized controlled trial for hepatocellular carcinoma with portal vein thrombosis: intra-arterial iodine-131-iodized oil versus medical support. *J Nucl Med* 1994;35:1782-7.
104. Kajiya Y, Kobayashi H, Nakajo M. Transarterial internal radiation therapy with I-131 Lipiodol for multifocal hepatocellular carcinoma: immediate and long-term results. *Cardiovasc Intervent Radiol* 1993;16:150.
105. Cline HE, Hynynen K, Watkins RD, Adams WJ, Schenck JF, Ettinger RH, et al. Focused US system for MR imaging-guided tumor ablation. *Radiology* 1995;194:731-7.
106. Pawarode A, Voravud N, Sriuranpong V, Kullavanijaya P, Patt YZ. Natural history of untreated primary hepatocellular carcinoma: a retrospective study of 157 patients. *Am J Clin Oncol* 1998;21:386-391.
107. Beasley RP. Hepatitis B virus: the major etiology of hepatocellular carcinoma. *Cancer* 1988;61:1942.
108. Heyward WL, Lanier AP, Bender TR, Hardison HH, Dohan PH, McMahon BJ, et al. Primary hepatocellular carcinoma in Alaskan natives. *Int J Cancer* 1981;28:47-50.
109. Popper H, Thung SN, McMahon BJ, Lanier AP, Hawkins I, Alberts SR. Evolution of hepatocellular carcinoma associated with chronic hepatitis B virus infection in Alaskan Eskimos. *Arch Pathol Lab Med* 1988;112:498.
110. Dodd RY, Nath N. Increased risk for lethal forms of liver disease among HBsAg-positive blood donors in the United States. *J Virol Methods* 1987;17:81.
111. McMahon BJ, London T. Workshop on screening for hepatocellular carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 1991;83:916.
112. Naka T, Kobayashi M, Ashida K, Toyota N, Kaneko T, Kaibara N. Aberrant p16INK4 expression related to clinical stage and prognosis in patients with pancreatic cancer. *Int J Oncol*. 1998;12:1111-6.
113. Sparrow LE, Eldon MJ, English DR, Heenan PJ. p16 and p21WAF1 protein expression in melanocytic tumors by immunohistochemistry. *Am J Dermatopathol* 1998;20:255-61.



114. Villuendas R, Sanchez-Beato M, Martinez JC, Saez AI, Martinez-Delgado B, Garcia JF, et al. Loss of p16/INK4A protein expression in non-Hodgkin's lymphomas is a frequent finding associated with tumor progression. *Am Society Inv Pathol* 1998;153:887-97.
115. Hu YX, Watanabe H, Ohtsubo K, Yamaguchi Y, Ha A, Okai T, Sawabu N. Frequent Loss of p16 Expression and Its Correlation with Clinicopathological Parameters in Pancreatic Carcinoma. *Clin Cancer Res* 1997;3:1473-77.
116. Cuevas EC, Bateman AC, Wilkins BS, Johnson PA, Williams JH, Lee AH, et al. Microwave antigen retrieval in immunocytochemistry: a study of 80 antibodies. *J Clin Pathol* 1994;47: 448-52.



## ภาคผนวก



แบบบันทึกข้อมูลผู้ป่วยโรคมะเร็งตับชนิด Hepatocellular carcinoma

1. ชื่อและนามสกุล .....
2. อายุ ..... ปี
3. เพศ ..... 1. ชาย ..... 2. หญิง
4. ปัจจัยเสี่ยง
 

<input type="checkbox"/> สุรา	<input type="checkbox"/> ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี
<input type="checkbox"/> ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี	<input type="checkbox"/> อื่น ๆ (ระบุ) .....
5. cirrhosis
 

<input type="checkbox"/> มี	<input type="checkbox"/> ไม่มี
-----------------------------	--------------------------------
6. ระยะโรคมะเร็งตับตามระบบ TNM
 

<input type="checkbox"/> ระยะ I	<input type="checkbox"/> ระยะ IIIB
<input type="checkbox"/> ระยะ II	<input type="checkbox"/> ระยะ IVA
<input type="checkbox"/> ระยะ IIIA	<input type="checkbox"/> ระยะ IVB
7. ระยะโรคมะเร็งตับตามระบบ Okuda
 

<input type="checkbox"/> ระยะ I
<input type="checkbox"/> ระยะ II
<input type="checkbox"/> ระยะ III
8. ระดับ alfpotein ในเลือด .....
9. การตรวจการทำงานของตับ (Liver funciton test)
 

<input type="checkbox"/> total bilirubin .....	<input type="checkbox"/> Alkaline phosphatase .....
<input type="checkbox"/> direct bilirubin .....	<input type="checkbox"/> albumin .....
<input type="checkbox"/> SGOT .....	<input type="checkbox"/> globulin .....
<input type="checkbox"/> SGPT .....	
10. การรักษา
 

<input type="checkbox"/> ผ่าตัด	<input type="checkbox"/> supportive care
<input type="checkbox"/> Chemoembolization (TOCE)	<input type="checkbox"/> อื่น ๆ (ระบุ).....
<input type="checkbox"/> systemic chemotherapy (ระบุสูตรยาที่ให้) .....	
11. วันเดือนปีที่วินิจฉัย ...../...../.....
12. ติดตามการรักษา
 

<input type="checkbox"/> 1. ยังมีชีวิตอยู่	
<input type="checkbox"/> 2. ไม่มาติดตามการรักษา	(วันเดือนปีที่มาครั้งสุดท้าย ...../...../.....)
<input type="checkbox"/> 3. เสียชีวิตแล้ว	(วันเดือนปีที่เสียชีวิต ...../...../.....)

## ประวัติผู้วิจัย

นางวาทรี จตุรงค์ ดันติมงคลสุข เกิดวันที่ 26 กุมภาพันธ์ 2510 ภูมิลำเนาจังหวัด กรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรีแพทยศาสตรบัณฑิต จากวิทยาลัยแพทยศาสตร์ พระมงกุฎเกล้า ในปีการศึกษา 2534 เข้าศึกษาต่อในหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขา อารยศาสตร์ ภาควิชาอารยศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปัจจุบันรับราชการใน ตำแหน่งอายุรแพทย์ ประจำกรมแพทย์ทหารเรือ สังกัดกระทรวงกลาโหม

