



มะเร็งเกิดจากความผิดปกติของเซลล์เพียงเซลล์เดียวซึ่งมีการเจริญเติบโตและแบ่งตัวนอกเหนือความควบคุมของร่างกาย กลายเป็นก้อนมะเร็งขึ้นมา ขบวนการการเกิดมะเร็งเป็นขบวนการที่ประกอบไปด้วยขั้นตอนต่างๆหลายขั้นตอน เรียกว่า multistage carcinogenesis<sup>1</sup> โดยขบวนการขั้นตอนแรกที่ทำให้เซลล์ธรรมดาเปลี่ยนแปลงไปกลายเป็นเซลล์มะเร็ง เริ่มต้นจากความผิดปกติของโครโมโซมโดยมีการผ่าเหล่าของยีนที่ควบคุมการเจริญเติบโตของเซลล์ (gene mutation) ทำให้มีการสูญเสียหน้าที่ของวงจรควบคุมการเจริญเติบโตและการแบ่งตัวของเซลล์

ยีนที่มีความสำคัญในการควบคุมการเจริญเติบโตและการตายของเซลล์ และมีบทบาทในโรคมะเร็งมี 2 กลุ่มใหญ่ๆ คือ

1. ยีนก่อมะเร็ง (oncogenes)<sup>2</sup> คือ ยีนที่มีความผิดปกติแล้วทำให้มีการผลิตสารที่ไปกระตุ้นการเจริญเติบโตของเซลล์ โดยมีความผิดปกติระดับโมเลกุลที่ทำให้ proto-oncogenes เปลี่ยนแปลงไปกลายเป็น oncogenes

2. ยีนต้านมะเร็ง (tumor suppressor genes)<sup>3</sup> เป็นยีนที่ทำหน้าที่ในการยับยั้งการเจริญเติบโตและการแบ่งตัวของเซลล์ เช่นยีน *p53*<sup>4</sup> ที่เป็นที่รู้จักกันดี ทำหน้าที่ในการที่ทำให้เซลล์ที่เริ่มมีความผิดปกติในระดับโมเลกุลหยุดการเจริญเติบโตและมีเวลาในการซ่อมแซมความผิดปกตินั้น ถ้าเซลล์นั้นๆสามารถซ่อมแซมความผิดปกติได้ ก็สามารถเจริญเติบโตในวัฏจักรของเซลล์ต่อไป แต่ถ้าเซลล์มีความผิดปกติมากจนไม่สามารถซ่อมแซมได้ จะเกิดขบวนการที่เรียกว่า apoptosis หรือ programmed cell death ทำให้เซลล์นั้นๆตายไป ถ้ายีนต้านมะเร็งทำหน้าที่ผิดปกติ หรือไม่ทำงาน จะทำให้เซลล์ที่เริ่มมีความผิดปกติในระดับโมเลกุลไม่ตายไปตามปกติ และมีการเจริญเติบโตในวัฏจักรของเซลล์ต่อไปกลายเป็นเซลล์มะเร็ง

ความสำคัญของยีนต้านมะเร็งเริ่มต้นในปี 1970 โดย Knudson และนำไปสู่การค้นพบ Retinoblastoma gene (*Rb*)<sup>5</sup> และต่อมาในปี 1980 มีการค้นพบยีนต้านมะเร็งที่เป็นที่รู้จักกันแพร่หลาย คือ *p53* gene ที่อยู่บนแขนสั้นของโครโมโซมคู่ที่ 17 (17p) เนื่องจากยีนต้านมะเร็งเป็น recessive gene<sup>6</sup> ดังนั้นการที่ยีนต้านมะเร็งไม่สามารถทำหน้าที่ได้ ต้องมีความผิดปกติเกิดขึ้นของทั้ง 2 ยีน หรือทั้ง 2 อัลลีล คือ

1. หนึ่งอัลลีลของยีนต้านมะเร็งถูกทำให้ไม่ทำงานก่อน (inactivate) ซึ่งขบวนการนี้อาจเกิดตั้งแต่กำเนิด (germline mutation) หรือมาเกิดในช่วงหลัง (somatic mutation)

2. อัลลีลที่เหลือซึ่งเป็นอันที่ทำหน้าที่ (functional copy) ถูกทำให้ไม่ทำงานในภายหลัง ทำให้เซลล์นั้นๆกลายเป็นเซลล์มะเร็ง

จากการศึกษาที่มีมาก่อนหน้านี้เกี่ยวกับยีนต้านมะเร็ง พบว่าความผิดปกติที่ทำให้ฮอลลิสที่สองเสียหายที่นั่นมักพบร่วมกับการสูญเสียภาวะเฮเทอโรไรโซโทของชิ้นส่วนของโครโมโซมที่บรรจุฮอลลิสนั้นอยู่ ซึ่งสามารถตรวจพบได้จากการวิเคราะห์โครโมโซมในระดับไมโครสโคป เรียกว่าการสูญเสียภาวะเฮเทอโรไรโซโทของชิ้นส่วนของโครโมโซมนี้ว่า ภาวะ loss of heterozygosity (LOH)<sup>7</sup> ซึ่งในมะเร็งบางชนิดมีภาวะ LOH ที่จำเพาะกับมะเร็งชนิดนั้นๆ และสามารถนำมาใช้วินิจฉัยโรคได้ ดังรายละเอียดในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ตำแหน่งของยีนต้านมะเร็งในมะเร็งชนิดต่างๆ

| ชนิดของโรคมะเร็ง                 | กลุ่มอาการ                                     | โครโมโซมที่พบ LOH  | ชื่อยีน           |
|----------------------------------|--|--------------------|-------------------|
| 1. มะเร็งลำไส้ใหญ่               | 1. Familial adenomatous polyposis <sup>8</sup> | 5q                 | <i>APC</i>        |
|                                  | 2. Lynch's syndrome <sup>9</sup>               | 3p21, 2p16, 2p, 7q | <i>MLH1, MSH2</i> |
|                                  | 3. Sporadic colorectal cancer <sup>10</sup>    | 18q21              | <i>PMS1, DCC</i>  |
| 2. มะเร็งของเซลล์ร่างกายหลายชนิด | Li-Fraumeni <sup>11</sup>                      | 17p                | <i>p53</i>        |
| 3. มะเร็งไตในเด็ก                | WAGR <sup>12</sup>                             | 11p                | <i>WT1</i>        |
| 4. มะเร็งจอตาในเด็ก              | Familial retinoblastoma <sup>13</sup>          | 13q14              | <i>Rb</i>         |

ในผู้ป่วยที่มาพบแพทย์ด้วยเรื่องก้อนเนื้ออกในเต้านม แพทย์มีความจำเป็นต้องแยกให้ได้ว่าเป็นมะเร็งชนิดปฐมภูมิหรือเป็นมะเร็งจากที่อื่นแล้วแพร่กระจายมาที่เต้านม ซึ่งส่วนมากจะเป็นมะเร็งชนิดดีโนคาร์ซิโนมา เพราะการรักษา การดำเนินโรค และการพยากรณ์โรคแตกต่างกัน ซึ่งโดยมากการวินิจฉัยจำเป็นต้องอาศัยการดูลักษณะชิ้นเนื้อทางกล้องจุลทรรศน์โดยพยาธิแพทย์ ซึ่งโดยมากชิ้นเนื้อจะได้รับการเจาะตบ (FNA, fine needle aspiration) ซึ่งได้ชิ้นเนื้อเล็กทำให้มีปัญหาแก่พยาธิแพทย์ในการวินิจฉัย และจากการศึกษาพบว่าชิ้นเนื้อที่ได้จากการทำ FNA ถึง 18.5 %<sup>14</sup> พยาธิแพทย์ไม่สามารถให้การวินิจฉัยได้ชัดเจน ดังนั้นแพทย์ที่ทำการรักษาผู้ป่วยกลุ่มนี้จึงต้องใช้วิธีอื่นที่อาจจะมาช่วยเสริมการตัดสินใจเช่น ลักษณะทางรังสี แต่วิธีการเหล่านี้ก็ยังไม่สามารถจะทำให้แพทย์ผู้รักษามีความมั่นใจในการวินิจฉัยโรคได้ถูกต้อง

ดังนั้นจึงมีความพยายามใช้วิธีต่างๆ เพื่อช่วยในการแยกภาวะสองอย่างนี้ออกจากกันได้ชัดเจนยิ่งขึ้น ที่มีการศึกษามากคือวิธีการย้อมพิเศษโดยใช้ monoclonal antibodies ชนิดต่างๆ ซึ่งจากการศึกษาพบว่าการย้อมพิเศษเพียงหนึ่งหรือสองชนิดก็ยังไม่สามารถช่วยแยกได้ ต้องใช้การย้อมพิเศษหกถึงแปดชนิด<sup>15</sup> ซึ่งการย้อมพิเศษมีข้อจำกัดตรงที่มีความจำเป็นต้องได้ชิ้นเนื้อจำนวนมากพอสมควร ซึ่งไม่สามารถได้จากการทำ FNA

และนอกจากนั้นการย้อมพิเศษยังมีราคาแพง และการแปลผลยังต้องอาศัยความชำนาญของผู้ดูซึ่งมีความแตกต่างกันไปในแต่ละคน

ในสมัยปัจจุบันได้มีการนำวิธีการทางอนุพันธุศาสตร์มาช่วยในการวินิจฉัยแยกชนิดมะเร็งในบางชนิด เช่นการใช้การศึกษา LOH เพื่อแยกชนิดของมะเร็งไต<sup>16</sup> และมะเร็งรังไข่เป็นต้น ดังนั้นในการศึกษานี้มีความต้องการจะคัดเลือกโครโมโซมที่มีภาวะ LOH ที่ต่างกันระหว่างมะเร็งตับชนิดปฐมภูมิ และมะเร็งตับชนิดดื้อโนคาร์ซีโนมาที่แพร่กระจายมาจากที่อื่น ซึ่งมะเร็งตับชนิดปฐมภูมิได้มีการศึกษามากแล้วถึงภาวะ LOH บนโครโมโซมคู่ต่างๆ ส่วนมะเร็งตับชนิดดื้อโนคาร์ซีโนมานั้นมีการศึกษาเป็นจำนวนไม่มากนัก Kato และคณะ<sup>47</sup> ได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบผู้ป่วยมะเร็งลำไส้ใหญ่ที่มีและไม่มีการแพร่กระจายไปที่ตับ พบว่าในกลุ่มที่มีรอยโรคแพร่กระจายไปที่ตับมีภาวะ LOH บนโครโมโซมคู่ที่ 17 และ 18 ตรงตำแหน่ง *p53* และ *DCC* ในสัดส่วนที่มากกว่ากลุ่มผู้ป่วยที่ไม่มีการแพร่กระจายไปอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และการศึกษาโดย Ding<sup>45</sup> ศึกษาเฉพาะชั้นเนื้อตับชนิดดื้อโนคาร์ซีโนมาที่แพร่กระจายมาจากมะเร็งลำไส้ใหญ่ พบว่าภาวะ LOH ที่พบในสัดส่วนที่สูงอยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 5, 17 และ 18 เนื่องจากการศึกษามะเร็งตับชนิดดื้อโนคาร์ซีโนมาโดยตรงมีจำกัด และเนื่องจากมะเร็งชนิดดื้อโนคาร์ซีโนมาที่พบบ่อยคือมะเร็งลำไส้ใหญ่ และมะเร็งชนิดนี้มีแนวโน้มที่จะแพร่กระจายไปที่ตับสูงและมีการศึกษาถึงภาวะ LOH ในมะเร็งชนิดนี้อย่างกว้างขวาง ผู้วิจัยจึงได้ทำการบทวนการศึกษา LOH ของมะเร็งลำไส้ใหญ่ เพื่อนำมาใช้ช่วยในการคัดเลือกโครโมโซมที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้

ตารางที่ 2 สัดส่วนของภาวะ LOH ในมะเร็งตับชนิดปฐมภูมิและมะเร็งลำไส้ใหญ่จากการศึกษาก่อน

| โครโมโซม  | มะเร็งตับปฐมภูมิ           |                          | มะเร็งลำไส้ใหญ่               |                      |
|-----------|----------------------------|--------------------------|-------------------------------|----------------------|
| <b>1p</b> | <b>44%</b> <sup>17</sup>   | <b>31%</b> <sup>19</sup> | <b>15%</b> <sup>20</sup>      |                      |
|           | <b>50%</b> <sup>18</sup>   | <b>22%</b> <sup>21</sup> |                               |                      |
| <b>1q</b> | <b>68.1%</b> <sup>21</sup> |                          | <b>25-50%</b> <sup>20</sup>   |                      |
| 2p        | 0% <sup>21</sup>           |                          | < 10% <sup>20</sup>           |                      |
| 2q        | 0% <sup>21</sup>           |                          | < 10% <sup>20</sup>           |                      |
| 3p        | 18% <sup>21</sup>          |                          | 20% <sup>20</sup>             |                      |
| 3q        | 15% <sup>21</sup>          |                          | 12% <sup>20</sup>             |                      |
| 4p        | 22% <sup>21</sup>          |                          | 25-50% <sup>20</sup>          |                      |
| <b>4q</b> | <b>42%</b> <sup>17</sup>   | <b>72%</b> <sup>21</sup> | <b>&lt; 10%</b> <sup>20</sup> |                      |
|           | <b>33%</b> <sup>22</sup>   |                          |                               |                      |
| 5p        | 6% <sup>21</sup>           |                          | < 10% <sup>20</sup>           |                      |
| 5q        | 30% <sup>21</sup>          | 41.9% <sup>23</sup>      | 31% <sup>25</sup>             | 55% <sup>26</sup>    |
|           | 7% <sup>22</sup>           |                          | 32% <sup>27</sup>             | 25-50% <sup>20</sup> |

| โครโมโซม   | มะเร็งตับปฐมภูมิ   | มะเร็งลำไส้ใหญ่   |
|------------|--|---|
| 6p         | 6% <sup>21</sup>   | 25-50% <sup>20</sup>  |
| 6q         | 70% <sup>28</sup> 28% <sup>21</sup>  | 25-50% <sup>20</sup>  |
| 7p         | 10% <sup>21</sup>  | < 10% <sup>20</sup>   |
| 7q         | 4% <sup>21</sup>   | < 10% <sup>20</sup>   |
| 8p         | 47.8% <sup>30</sup> 65% <sup>21</sup><br>42% <sup>31</sup> 60% <sup>17</sup><br>71.4% <sup>32</sup> 85% <sup>32</sup><br>54% <sup>33</sup> | 33.5% <sup>23</sup> 45% <sup>34</sup><br>46.2% <sup>30</sup> 25-50% <sup>20</sup> |
| <b>8q</b>  | <b>77%<sup>21</sup></b>  | <b>&lt; 10%<sup>20</sup></b>  |
| 9p         | 22% <sup>21</sup>  | 25-50% <sup>20</sup>  |
| 9q         | 10% <sup>21</sup>  | 25-50% <sup>20</sup>  |
| 10p        | 3% <sup>21</sup>   | < 10% <sup>20</sup>   |
| 10q        | 25% <sup>29</sup> 34% <sup>21</sup>  | 15% <sup>20</sup>   |
| 11p        | 45% <sup>23</sup> 15% <sup>21</sup>  | 15% <sup>20</sup>   |
| 11q        | 14% <sup>21</sup>  | 59% <sup>35</sup> 15% <sup>20</sup>   |
| 12p        | 12% <sup>21</sup>  | < 10% <sup>20</sup>   |
| 12q        | 6% <sup>21</sup>   | 15% <sup>20</sup>   |
| 13q        | 40% <sup>21</sup> 32.6% <sup>19</sup><br>14% <sup>24</sup> 44% <sup>24</sup><br>42% <sup>37</sup>  | 75% <sup>36</sup><br>< 10% <sup>20</sup>  |
| 14q        | 45% <sup>21</sup>  | 53% <sup>38</sup> 20% <sup>20</sup><br>75% <sup>36</sup> 30% <sup>27</sup>        |
| 15q        | 16% <sup>21</sup>  | 10% <sup>20</sup>   |
| 16p        | 40% <sup>17</sup> 22% <sup>21</sup>  | < 10% <sup>20</sup>   |
| <b>16q</b> | <b>60%<sup>21</sup></b> <b>29%<sup>22</sup></b>  | <b>&lt; 10%<sup>20</sup></b>  |
| 17p        | 66% <sup>21</sup> 77% <sup>33</sup><br>48% <sup>17</sup> 57.9% <sup>23</sup><br>49% <sup>39</sup> 43% <sup>40</sup>                        | 76% <sup>25</sup><br>49.1% <sup>41</sup><br>> 75% <sup>20</sup>                   |

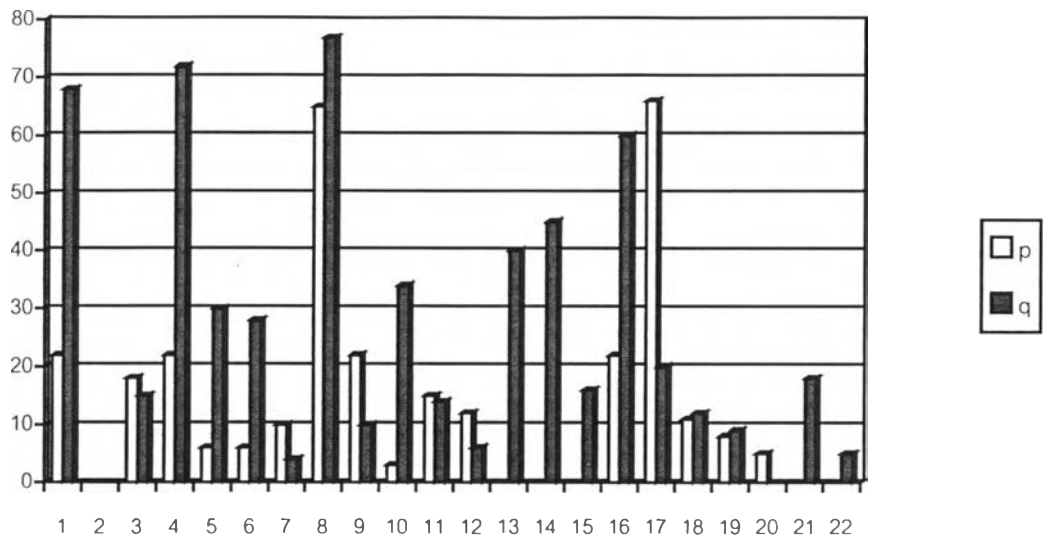
| โครโมโซม   | มะเร็งตับปฐมภูมิ                  | มะเร็งลำไส้ใหญ่   |   |
|------------|-----------------------------------|---|---|
| 17q        | 20% <sup>21</sup>                 | 10% <sup>42</sup><br>24% <sup>43</sup><br>27% <sup>27</sup> | 15% <sup>20</sup><br>15% <sup>44</sup><br>16% <sup>24</sup> |
| 18p        | 11% <sup>21</sup>                 | 25-50% <sup>20</sup>  |   |
| <b>18q</b> | <b>12%<sup>21</sup></b>           | <b>34%<sup>25</sup></b><br><b>&gt; 75%<sup>20</sup></b>     | <b>20%<sup>27</sup></b><br><b>80%<sup>45</sup></b>          |
| 19p        | 8% <sup>21</sup>                  | < 10% <sup>20</sup>   |   |
| 19q        | 9% <sup>21</sup>                  | < 10% <sup>20</sup>   |   |
| 20p        | 5% <sup>21</sup>                  | < 10% <sup>20</sup>   |   |
| 20q        | 0% <sup>21</sup>                  | < 10% <sup>20</sup>   |   |
| 21q        | 18% <sup>21</sup>                 | 20% <sup>20</sup>   |   |
| 22q        | 0% <sup>46</sup> 5% <sup>21</sup> | 19% <sup>27</sup>   | 25-50% <sup>20</sup>  |

โดยสรุปมีการศึกษาที่สำคัญสองรายงานที่ทำการศึกษาย่างกว้างขวางของภาวะ LOH บนโครโมโซมทุกคู่ที่เรียกว่า allelotype study ในมะเร็งตับทั้งสองชนิด โดย Piao และคณะ<sup>21</sup> ทำการศึกษาในมะเร็งตับชนิดปฐมภูมิและพบว่าภาวะ LOH พบมากที่สุดบนโครโมโซมคู่ที่ 8 (8q) มากที่สุดถึงร้อยละ 77 รองลงมาคือ 4q, 1q และ 16q ตามลำดับ ในขณะที่การศึกษา allelotype study ของมะเร็งลำไส้ใหญ่ทำโดย Volgelstein และคณะ<sup>20</sup> พบสัดส่วนของ LOH ที่มากกว่าร้อยละ 50 บนโครโมโซม 17p และ 18q รายละเอียดของสัดส่วนของภาวะ LOH ของมะเร็งทั้งสองชนิดดังที่แสดงในรูปที่ 1 และ 2

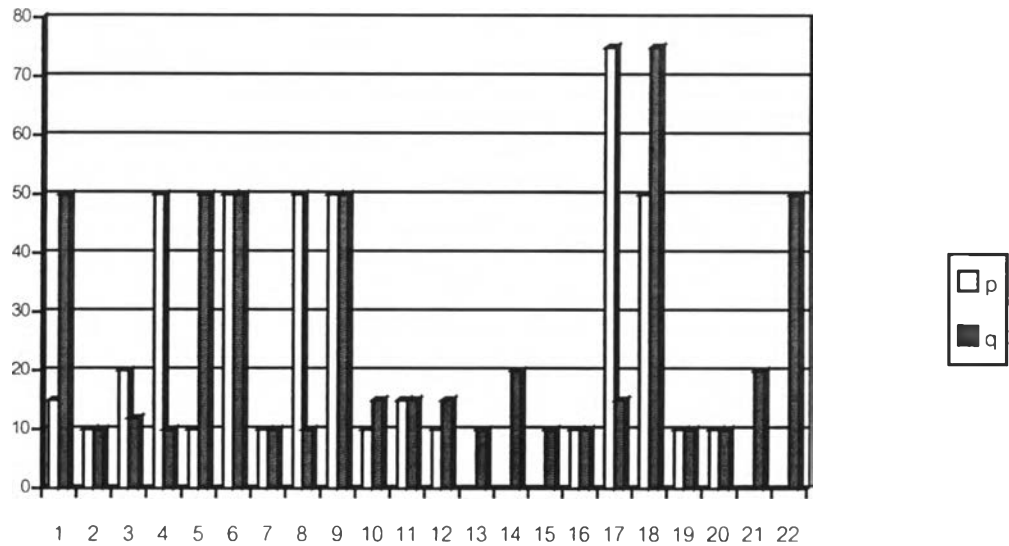
ดังนั้นจึงเป็นที่มาของงานวิจัย ที่อาศัยข้อมูลของภาวะ LOH ที่พบบ่อยของมะเร็งสองชนิดนี้ที่เคยมีการศึกษาในอดีต และเลือกศึกษาภาวะ LOH บนโครโมโซมที่คาดว่าจะสามารถช่วยแยกความแตกต่างระหว่างมะเร็งทั้ง 2 ชนิดนั้นได้ โดยผู้วิจัยได้ตั้งข้อสงสัยที่ใช้ในการเลือกโครโมโซมคู่ที่จะทำการศึกษาว่าจะต้องมีคุณสมบัติดังต่อไปนี้คือเป็นโครโมโซมที่มีข้อมูลยืนยันว่าตรวจพบสัดส่วนของ LOH บนโครโมโซมคู่ที่จะศึกษาในสัดส่วนที่สูงในมะเร็งชนิดหนึ่ง และ ในมะเร็งอีกชนิดมีข้อมูลว่าพบในอัตราส่วนที่น้อย ซึ่งจากการทบทวนวรรณกรรมที่เคยมีการศึกษาภาวะ LOH ของมะเร็งทั้งสองชนิดพบว่าโครโมโซมที่เข้าเกณฑ์ในการเลือกมาศึกษา คือ โครโมโซม 1p, 1q, 4q, 8q, 16q และ 18q

จากนั้นทำการศึกษาภาวะ LOH บนโครโมโซมคู่ที่ได้เลือกไว้ในมะเร็งแต่ละชนิดในคนไทย และทำการเปรียบเทียบสัดส่วนที่พบในมะเร็งแต่ละกลุ่มเพื่อจะดูว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติหรือไม่ เพื่อเป็นแนวทางในการนำมาใช้ประกอบการตัดสินใจในชั้นเนื้อที่การดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อย่างเดียวไม่สามารถบอกได้แน่นอนว่าเป็นมะเร็งตับชนิดปฐมภูมิ หรือ มะเร็งตับชนิดอดีโนคาร์ซิโนมาที่แพร่กระจายมา

และนอกจากนี้การศึกษาด้วยวิธี LOH เป็นวิธีที่สามารถทำได้ในชิ้นเนื้อที่มีจำนวนไม่มากนัก จึงเหมาะสมที่จะนำมาพัฒนาเพื่อช่วยในการวินิจฉัยชิ้นเนื้อที่ได้จากวิธี FNA มากกว่าการย้อมพิเศษ



รูปที่ 1 แผนภาพแสดงสัดส่วนของภาวะ LOH บนโครโมโซมทุกคู่ที่ได้จาก alleotype study ของมะเร็งตับปฐุมภูมิ (การศึกษาของ Piao)



รูปที่ 2 แผนภาพแสดงสัดส่วนของภาวะ LOH บนโครโมโซมทุกคู่ที่ได้จาก alleotype study ของมะเร็งลำไส้ใหญ่ (การศึกษาของ Vogelstein)

แกนตั้ง คือ ร้อยละของภาวะ LOH ที่พบจากการศึกษา

แกนนอน คือ คู่ของโครโมโซมที่ทำการศึกษา